

GLUCURONIDATION DE L'ACIDE MYCOPHÉNOLIQUE PLUS ÉLEVÉE CHEZ LES HOMMES QUE CHEZ LES FEMMES GREFFÉS D'UN REIN

Pierre Morissette¹, Caroline Albert¹, Stephan Busque², Gilles St-Louis³, Bernard Vinet^{1*}.
Département de ¹Biochimie, ²Chirurgie et ³Néphrologie,
Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Hôpital Notre-Dame,
1560 Sherbrooke Est, Montréal, Québec, Canada, H2L 4M1.

*Auteur responsable de la correspondance

RÉSUMÉ

L'acide mycophénolique (MPA) est l'élément actif du mycophénolate mofetil (MMF), médicament immunosuppresseur employé en transplantation d'organes. Il est utilisé d'avantage en association avec la cyclosporine et le tacrolimus. Le MPA est principalement métabolisé dans le foie en son dérivé 7-O-glucuronide (MPAG). Les concentrations de MPAG dans le sérum sont beaucoup plus élevées que celles du MPA. Bien que le MPAG n'ait pas d'activité immunosuppressive, il est postulé qu'il pourrait déplacer le MPA de ses sites de liaison sur l'albumine et par conséquent augmenter les effets biologiques du MPA. Cet effet peut être observé chez des patients présentant une fonction rénale détériorée; dans cette condition le MPAG peut s'accumuler. Notre but est de mesurer le ratio MPAG/MPA chez 100 greffés rénaux sous une thérapie immunosuppressive mixte. De plus, nous voulons déterminer si le MPAG peut déplacer *in vivo* le MPA de l'albumine à des concentrations physiologiques. Le MPA et le MPAG ont été mesurés par HPLC.

La distribution des ratios n'est pas paramétrique. Elle présente une traînée vers les valeurs élevées. Une transformation par racine carrée rend l'analyse paramétrique possible. Le taux moyen de MPAG/MPA est de $15,0 \pm 2,2$ chez les hommes ($n = 50$) comparé à $7,7 \pm 0,9$ pour les femmes ($n = 50$), $p < 0.0001$. Les patients mâles co-traités au MMF et au tacrolimus ont montré un taux inférieur par rapport aux patients traités au MMF et à la cyclosporine ($10,8 \pm 0,6$ $n = 36$, contre $22,2 \pm 2,7$ $n = 14$, $p < 0.0001$, respectivement), confirmant ainsi que le tacrolimus empêche la glucuronidation du MPA. De plus, nous avons déterminé qu'à des concentrations physiologiques, le MPAG n'augmente pas la concentration de MPA libre. Nous pouvons conclure que le co-traitement avec le tacrolimus et la différence homme-femme doivent être pris en considération lors de l'administration du MMF.

INTRODUCTION

L'acide mycophénolique (MPA) est le produit actif du mycophénolate mofetil (MMF) qui est utilisé de plus en plus lors des thérapies immunosuppressives en transplantation d'organes (1, 2). Trois études multicentriques à double insu comprenant plus de 1500 patients ont démontré que le MMF

en association avec la cyclosporine ou le tacrolimus réduit de façon significative le risque de rejet en greffe rénale (2, 3). En déterminant par biopsie l'incidence du rejet, celui-ci a été réduit de 50% chez les patients traités à la fois au MMF et à la cyclosporine par rapport à ceux recevant l'azathioprine en association à la cyclosporine. La réduction est de 70% lorsque la comparaison est faite avec ceux recevant un placebo (4). En outre, le risque relatif de perte du greffon par rejet a été réduit approximativement de 60% en comparaison avec le groupe contrôle (4). Les stéroïdes, la cyclosporine, le tacrolimus et le sirolimus ont tous des effets secondaires athérogéniques plus ou moins importants. La cyclosporine et le tacrolimus sont néphrotoxiques ce qui peut être critique à la greffe rénale (5). Plus récemment, une monothérapie au MMF a démontré ne pas causer une telle néphrotoxicité ou athérogénicité (5).

Bien que le MMF ne soit pas toxique au foie, au rein ou au système nerveux central, il peut causer une toxicité gastro-intestinale. Un certain nombre d'études ont montré qu'il existe une relation entre la pharmacocinétique du MPA et les résultats cliniques suggérant ainsi qu'un suivi thérapeutique des concentrations plasmatiques peut être utile. En effet, plusieurs raisons viennent appuyer l'importance d'un suivi thérapeutique (2). Par exemple,

- Afin de s'assurer que le médicament ne soit pas à des concentrations sériques inférieures au seuil minimal d'immunosuppression
- Afin de suivre des populations ayant des paramètres pharmacocinétiques altérés (ex. les patients pédiatriques, les patients présentant une absorption modifiée).

L'utilité d'un suivi thérapeutique est appuyée par des études cliniques récentes qui démontrent une corrélation entre l'aire sous la courbe (AUC) du MPA et le rejet aigu (3, 6). D'autres études ont évalué le co-traitement MMF-tacrolimus en transplantation cardiaque et ont constaté que l'incidence du rejet correspond mieux aux concentrations sériques de MPA qu'à celles du tacrolimus (7). En se basant sur ces données récentes, il demeure à déterminer quelle méthode sera la plus efficace pour le suivi thérapeutique et laquelle fournira le plus de bénéfices aux patients traités au MMF.

Il est généralement admis que l'activité immunosuppressive du MMF réside dans l'inhibition de l'inosine monophos-

phate déshydrogénase (IMPDH), ce qui cause une réduction de la synthèse intracellulaire *de novo* des nucléotides à guanine entraînant dans les lymphocytes une réduction de la synthèse d'ADN et de la prolifération (2,8). Le MPA est principalement converti dans le foie en son dérivé phénolique 7-O-glucuronide (MPAG) par l'intermédiaire d'UDP-glucuronosyltransférase (UGTs). Plus de 95% du MPA métabolisé est excrété sous forme de MPAG (9). Le MPA est également métabolisé en son conjugué 7-O-glucoside et son conjugué acyle glucuronide, mais ces métabolites sont beaucoup moins abondants (10). Des méthodes par HPLC ont été récemment développées afin d'identifier ces différents métabolites (10, 11). De plus, il a été signalé qu'un traitement avec le tacrolimus pourrait nuire à la conversion du MPA en MPAG par l'intermédiaire de l'inhibition de la glucuronidation (12).

Peu d'informations ont été publiées jusqu'à maintenant sur la quantité plasmatique relative de MPAG chez l'humain bien que celle-ci puisse être un paramètre important dans l'évaluation du rapport entre la concentration sérique de MPA et ses effets biologiques. Il a été mentionné sans détail expérimental que la concentration de MPAG peut être de 10 à 300 fois plus élevée que la concentration de MPA (13-15). Le MPAG n'a pas montré d'activité immunosuppressive. Cependant, comme ces concentrations sont plusieurs ordres de grandeur supérieures à celles du MPA, il a été postulé qu'il pourrait déplacer le MPA de ses sites de liaison de l'albumine et par conséquent augmenter les effets biologiques du MPA. En effet, il a été publié que la liaison à l'albumine *in vitro* diminue de 98,76% à 96,43% suivant une augmentation de MPAG de 0 à 1483 $\mu\text{mol/L}$ (16). Ceci peut devenir d'une importance particulière pour les patients qui ont une fonction rénale détériorée; dans cette condition, il fut démontré que le MPAG s'accumulait (17) ce qui nous a incité à documenter le ratio des concentrations MPAG/MPA chez des patients greffés, sous une thérapie immunosuppressive mixte. De plus, nous avons déterminé si le MPAG pouvait déplacer le MPA de l'albumine aux conditions observées *in vivo*.

MÉTHODES

Les sérums de 100 greffés rénaux, 50 femmes et 50 hommes âgés entre 21 et 66 ans (1 à 36 mois après la transplantation), sous une triple thérapie immunosuppressive incluant le MMF (0,75 à 3 g par jour) ont été utilisés pour documenter le ratio MPAG/MPA. Le ratio MPAG/MPA a été déterminé en supposant que le MPAG et le MPA ont le même coefficient d'absorption UV. En plus du MMF, tous les patients recevaient de la prednisone. 14 hommes et 4 femmes étaient co-traités avec de la cyclosporine. Le reste des patients étaient co-traités au tacrolimus.

Pour cette étude, le MPA a été obtenu de la compagnie Sigma. L'acétonitrile, les acides acétique et phosphorique ont été obtenus de la compagnie Fisher Scientifique. L'acétonitrile était de grade HPLC.

Le MPAG a été isolé de l'urine des patients greffés puisqu'il n'était pas disponible commercialement. Il a été utilisé afin de déterminer son temps de rétention dans la procédure HPLC. Brièvement, une cartouche Supelco LC-18 a été employée afin d'extraire le MPAG de l'urine. La cartouche est activée avec 2 x 1 mL de MeOH suivi de 4 x 1 mL d'eau distillée. 1 mL de l'échantillon d'urine est ajouté à la cartouche, qui est par la suite, lavée avec 4 x 1 mL d'eau distillée pour

enlever les produits non retenus. Le MPAG est élué avec 3 x 1 mL d'une solution de tampon phosphate 20 mM, pH 3,0 contenant 10% d'acétonitrile, suivi de 2 x 1 mL d'une solution tampon phosphate 20 mM, pH 3,0 contenant 20% d'acétonitrile. L'identification du MPAG a été établie par l'hydrolyse du métabolite en MPA en utilisant la β -glucuronidase *Helix pomatia* de Sigma (EC 3.2.1.31).

Une méthode décrite précédemment a été utilisée pour déterminer les concentrations plasmatiques de MPA et de MPAG (18). Brièvement, dans des tubes de polypropylène de 0,5 mL, 150 μL de l'échantillon de plasma et 350 μL d'acétonitrile contenant 1% d'acide acétique, sont mélangés par vortex pour 5 sec. L'échantillon est par la suite incubé pendant 15 minutes à la température ambiante et centrifugé pour 10 minutes à 10 000 x g. 75 μL du surnageant sont dilués avec 75 μL d'eau distillée pour la chromatographie. Le système HPLC est composé d'une pompe chromatographique de série 1100 de Hewlett Packard, d'un injecteur automatique, d'un détecteur UV et d'un contrôleur d'interface HP Chemstation. La colonne utilisée est une Supelcosil[®] LC-318 de 250 x 4,6 millimètres. Elle est maintenue à une température de 30 °C. La phase mobile est constituée d'une solution A (100 mL d'acétonitrile + 900 mL d'un tampon phosphate 20 mM, pH 3,0) et d'une solution B (450 mL d'acétonitrile + 550 mL d'un tampon phosphate 40 mM, pH 6,5) formant le gradient suivant: 0% B (0 – 3 min.), 0 – 100% B (3 – 15min), 100% B (15 – 18 min.). Le débit est de 1.0 mL/min. La longueur d'onde du détecteur est ajustée à 215 nm.

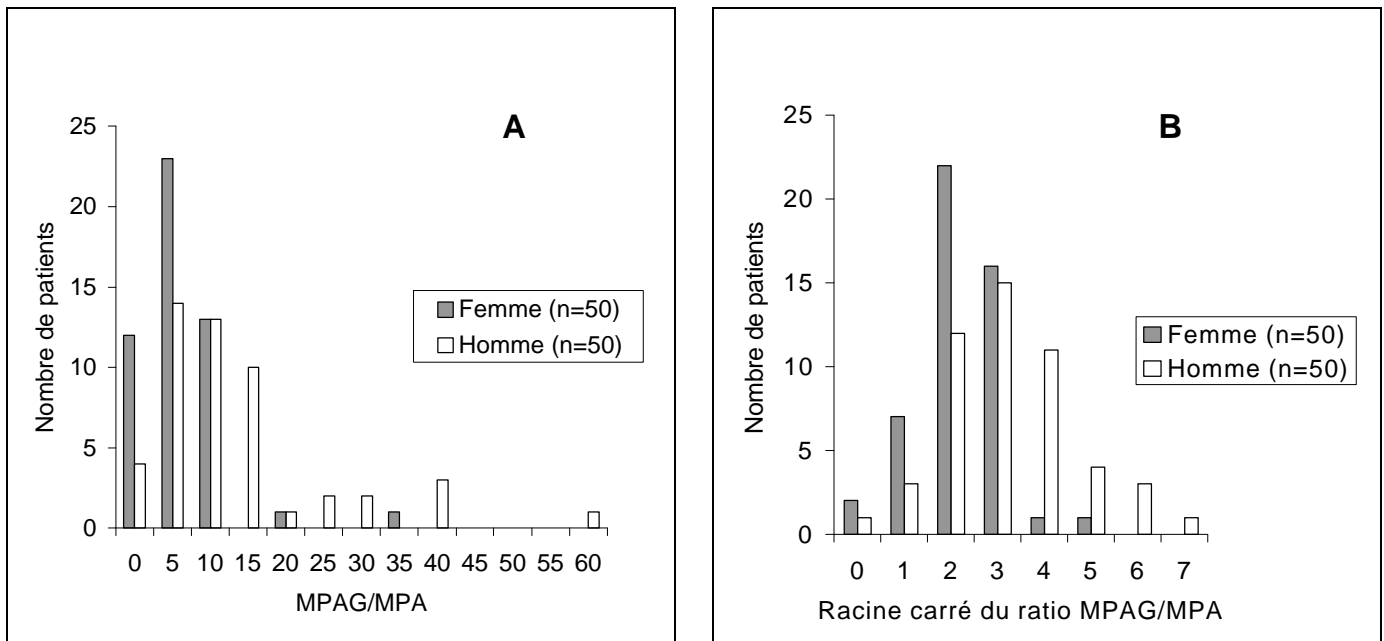
Mesure du MPA libre

Le MPA libre et le pourcentage de liaison aux protéines ont été déterminés tel que décrit précédemment avec des modifications mineures (16). Le système Centrifree Micropartition (Amicon, Beverly, MA) tel que décrit par Nowak et Shaw (16) a été employé afin d'obtenir un ultrafiltrat pour la quantification du MPA libre. Brièvement, 400 μL de plasma sont ajoutés au tube d'ultrafiltration qui est centrifugé à 2000 x g pendant 20 minutes à la température de la pièce, ce qui produit approximativement 250 μL d'ultrafiltrat. 100 μL d'ultrafiltrat sont prélevés pour la chromatographie. Un tampon phosphate (67 mmol/L) ajusté à pH 7,4 contenant 0,05 à 0,4 $\mu\text{mol/L}$ MPA est utilisé pour l'étalonnage du MPA libre. L'imprécision intra-essai est de 9,2%. La phase mobile utilisée est un tampon acétate de sodium 10 mmol/L, pH 5.0 (ajusté avec de l'acide acétique), contenant 45 % d'acétonitrile. Le débit est ajusté à 1.5 mL/min et la température est maintenue à 30°C. Le détecteur est ajusté à 215 nm.

RÉSULTATS

La figure 1 illustre la courbe de distribution des ratios MPAG/MPA pour les 100 greffés rénaux; c'est une distribution non paramétrique car elle présente une traînée vers les valeurs élevées (figure 1a). La figure 1b démontre qu'une transformation par racine carrée des données donne une distribution paramétrique chez les hommes ainsi que chez les femmes. Les données sont paramétriques à $p > 0,1$ en utilisant le test de normalité « Anderson-Darling ». Trois valeurs aberrantes ont été rejetées chez les femmes (les deux valeurs de l'extrémité inférieure et la valeur de l'extrémité supérieure) et une chez les hommes (la valeur de l'extrémité supérieure) avant d'analyser les données. Un ratio moyen de $14,3 \pm 1,8$ chez les hommes et de $7,9 \pm 0,4$ chez les femmes a été déterminé. Cette différence entre les deux sexes s'avère statistiquement significative à $p < 0,0001$ en utilisant un test T de Student.

FIG. 1 Distribution des ratios MPAG/MPA



(A) Données non transformées

(B) Transformation par racine carré

TABLEAU 1 Différences de ratio MPAG/MPA entre les hommes et les femmes[§]

	Hommes	Femmes	Test T
Population totale	15,0 ± 2,2 (n = 50)	7,7 ± 0,9 (n = 50)	P <0,0001
Patients MMF* + Tac[¶]	10,8 ± 0,6 (n = 36)	7,0 ± 0,6 (n = 46)	P <0,0004
Patients MMF + Cyc[£]	22,2 ± 2,7 (n = 14)	18,2 ± 1,2 (n = 4)	N/A

* MMF : mycophénolate mofetil

¶ Tac : tacrolimus

£ Cyc : cyclosporine

§ Résultats illustrées comme moyenne ± écart-type

Il a été publié que le tacrolimus pouvait empêcher la glucuronidation du MPA (12). Nous avons regroupé les patients co-traités au MMF et tacrolimus ainsi que les patients co-traités au MMF et cyclosporine. On observe toujours une différence significative entre les ratios moyens homme et femme pour les patients co-traités avec le tacrolimus (tableau 1). Le groupe de femmes co-traitées à la cyclosporine était trop petit ($n = 4$) afin de supporter une conclusion liée à une différence dépendante du sexe. À partir du tableau 1 on peut également conclure que le co-traitement avec le tacrolimus réduit le ratio MPAG/MPA de manière significative chez les hommes (co-traitement MMF-tacrolimus $10,8 \pm 0,6$, $n = 36$ contre $22,2 \pm 2,7$, $n = 14$ pour ceux co-traités avec MMF-cyclosporine, $p < 0,0001$). Pour la même raison que ci-dessus, nous ne pouvons pas supporter une conclusion chez les femmes bien que les résultats semblent indiquer une réduction du ratio avec un co-traitement au tacrolimus.

La créatinine, la GGT et la clairance de la créatinine chez les hommes et chez les femmes ont été mesurées. La GGT, donne une valeur de $16,7 \pm 8,0$ U/L chez les femmes et de $21,3 \pm 7,6$ U/L chez les hommes (les valeurs de référence sont $4 - 40$ U/L). La créatinine plasmatique ($\mu\text{mol/L}$) et la clairance de créatinine (mL/s/m^2) sont de $107 \pm 36,8$ et $1,06 \pm 0,43$ respectivement chez les femmes et de $122 \pm 32,6$ et $1,11 \pm 0,43$ respectivement chez les hommes. Les valeurs de référence de créatinine plasmatique sont de $50-110 \mu\text{mol/L}$ pour les femmes et de $60-120 \mu\text{mol/L}$ pour les hommes. Les valeurs de référence pour la clairance de créatinine sont de $0,69-1,06 \text{ mL/s/m}^2$ pour les femmes et $0,91-1,35 \text{ mL/s/m}^2$ pour les hommes.

Il a été publié que le MPAG peut déplacer le MPA de l'albumine (17). Afin de déterminer si le MPAG a un effet au niveau du MPA lié, nous avons ajouté du MPA *in vitro* à 20 sérums de patients non-traités au MMF à une concentration habituellement retrouvée en clinique. De ce fait, ces échantillons ne contenaient pas de MPAG. Nous avons déterminé que le MPA lié dans ces échantillons ($98,3 \pm 0,73\%$, $n = 20$) ne différait pas ($p=0,174$) des sérums des patients traités au MMF qui contiennent du MPAG généré *in vivo* ($98,5 \pm 0,43\%$, $n = 100$). Nous avons également déterminé qu'il n'existe pas de différence significative dépendante du sexe concernant la liaison du MPA à l'albumine ($98,8 \pm 0,34\%$, $n = 50$ chez l'homme contre $98,6 \pm 0,59\%$, $n = 50$ chez la femme ($p = 0,124$).

DISCUSSION

L'effet et l'efficacité thérapeutique de plusieurs médicaments immunosuppresseurs sont régulés par leur métabolisme et leur vitesse d'élimination. La glucuronidation est un processus métabolique important par lequel beaucoup de xénobiotiques et endobiotiques sont convertis en composés hydrophiles plus aisément excrétés dans l'urine. En effet, la glucuronidation est la voie principale d'élimination du MPA. Les réactions de glucuronidation sont catalysées par les UGTs qui sont principalement retrouvées du côté luminal du réticulum endoplasmique et dans l'enveloppe nucléaire des hépatocytes. Nous pouvons également retrouver les UGTs dans le rein, l'intestin, le poumon, la peau, le testicule et le cerveau. Jusqu'ici, au moins 15 formes d'UGTs ont été identifiées chez l'homme. Elles ont été divisées en 2 familles; les UGT1 et les UGT2, en se basant sur leurs similitudes de séquence (19-21). Il a été récemment déterminé que le MPA

est glucuronidé par l'UGT1A8 et l'UGT1A10 (22, 23). Lors de notre étude nous avons observé une différence significative entre le taux de glucuronidation du MPA entre l'homme et la femme. Des différences reliées au sexe ont déjà été observées pour le taux de glucuronidation chez les animaux (24). On a signalé que la glucuronidation des androstérones et du 4-nitrophénol est plus rapide chez les mâles que chez les femelles à cause de l'activité accrue des UGTs (25, 26). Cependant, la raison de cette augmentation chez les mâles reste sans explication. Puisque les oestrogènes sont également métabolisés par la classe UGT1A (27), le MPA pourrait compétitionner pour les mêmes sites de liaison que les oestrogènes sur l'enzyme. Ceci pourrait partiellement expliquer la réduction du taux de glucuronidation retrouvé chez les femmes.

Afin d'éliminer la possibilité qu'une fonction rénale ou hépatique détériorée soit la cause de la différence homme-femme observée, les niveaux de créatinine plasmatique et de clairance de créatinine comme marqueur de la fonction rénal et le niveau plasmatique de GGT comme marqueur de l'induction hépatique, ont été vérifiés. Les valeurs observées chez les hommes et chez les femmes se retrouvent à l'intérieur des valeurs de référence. La clairance de créatinine a été jugée équivalente chez l'homme et la femme et ainsi, nous pouvons éliminer la possibilité qu'un taux d'élimination plus rapide du glucuronide soit la cause d'un ratio MPAG/MPA plus faible chez la femme.

Un autre facteur qui peut affecter la glucuronidation du MPA est le co-traitement avec le tacrolimus. Il a été publié que les patients recevant du MMF en combinaison avec le tacrolimus ont des niveaux de MPA supérieurs (nadir et AUC_{0-12}) lorsque comparés à ceux des patients recevant du MMF en combinaison avec la cyclosporine A (CsA) (28). Cette observation est accompagnée d'une réduction du MPAG, suggérant que le tacrolimus empêche la conversion du MPA en MPAG par l'UGT. À la lumière de cette recherche, nous avons divisé nos patients en deux groupes; a) patients recevant du MMF en combinaison avec le tacrolimus et b) patients recevant MMF et cyclosporine. Nos résultats confirment que la glucuronidation est inférieure chez les patients traités avec le tacrolimus puisque le rapport MPAG/MPA est nettement plus élevé chez les patients co-traités avec le MMF et la cyclosporine que les patients co-traités avec le MMF et le tacrolimus.

Il a été récemment publié que le MPAG pourrait déplacer le MPA de ses sites de liaison sur l'albumine *in vitro* (16). Ceci nous a incité à déterminer si *in vivo* cet effet était toujours présent. La liaison du MPA à l'albumine a été mesurée dans des échantillons provenant de patients traités au MMF, qui contiennent naturellement du MPAG. Cette liaison a été comparée à la liaison mesurée dans le sérum des patients non traités au MMF auquel nous avons ajouté du MPA. Ces échantillons ne contenaient vraisemblablement pas de MPAG. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre ces deux groupes. Ainsi nous pouvons conclure qu'aux concentrations physiologiques, le MPAG n'augmente pas la fraction libre du MPA et probablement pas ses effets biologiques.

En résumé, nous avons documenté le rapport MPAG/MPA chez des hommes et des femmes greffés d'un rein suivi en clinique sur une base régulière. Nous avons déterminé que la glucuronidation du MPA est plus importante chez l'homme que chez la femme. Nous attribuons cette observation à une différence dans le métabolisme du

MPA bien qu'en partie nous puissions expliquer cette différence par le traitement commun avec le tacrolimus qui diminue la glucuronidation du MPA. Cependant, nous ne pouvons pas éliminer la possibilité que la différence reliée au sexe puisse être expliquée par une sensibilité accrue de la femme à l'action du tacrolimus sur la glucuronidation. Afin d'étudier cette possibilité, nous devrions analyser les résultats d'une population de patients traités uniquement au MMF. De plus, nous rapportons que le MPAG ne déplace pas le MPA de ses sites de liaison sur l'albumine à des concentrations physiologiques. Nous concluons que le sexe et le co-traitement avec le tacrolimus doivent être pris en considération lors d'un traitement au MMF.

RÉFÉRENCES

- Gelder TV, Hilbrands LB, Varenterghem Y, Weimar W, Fitjer J, Squifflet JP, Hené RJ, et al. 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;68:261-266.
- Shaw LM, Sollinger HW, Halloran P, Morris RE, Yatscuff RW, Ransom J, Tsina I. Mycophenolate mofetil: a report of the consensus panel. *Ther Drug Monit* 1995;17:690-699.
- Gelder TV, Hilbrands LB, Vanrenterghem Y, Weimar W, De Fijter JW, Squifflet JP, Hené RJ. 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;68:261-266.
- Bardsley-Elliot A, Noble R, Foster H. Mycophenolate mofetil. A review of its use in the management of solid organ transplantation. *Biodrugs* 1999;12:363-410.
- Keunecke C, Rothenpieler B, Zanker H, Schneeberger H, Illner WD, Theodorakis J, Stangl M et al. Mycophenolate mofetil monotherapy: an example of a safe nephrotoxicity/atherogenicity-free immunosuppressive maintenance regimen in a selected group of kidney-transplanted patients. *Transplant Proc* 2000;32 (suppl 1A), 6S-8S.
- Shaw LM, Kaplan B, Brayman KL. Prospective investigations of concentration – clinical response for immunosuppressive drugs provide the scientific basis for therapeutic drug monitoring. *Clin Chem* 1998; 44: 381-387.
- Meiser BM, Pfeiffer M, Schmidt D, Reichenspurner H, Ueberfuhr P, Paulus D, von Scheidt W et al. Combination therapy with tacrolimus and mycophenolate mofetil following cardiac transplantation: importance of mycophenolic acid therapeutic drug monitoring. *J Heart Lung Transplant* 1999; 18(2):143-149.
- Ransom JT. Mechanism of action of mycophenolate mofetil [Review]. *Ther Drug Monit* 1995;17:681-684.
- Bullingham RES, Monroe S, Nicholls A, Hale M. Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil (RS61443): a short review. *Transplant Proc* 1996; 28: 925-
- Schütz E, Shipkova M, Armstrong VW, Wieland E, Oellerich M. Identification of a pharmacologically active metabolite of mycophenolic acid in plasma of transplant recipients treated with mycophenolate mofetil. *Clin Chem* 1999; 45: 419-422.
- Shipkova M, Armstrong VW, Wieland E, Niedmann PD, Schütz E, Brenner-Wei G, Voihsel 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; 126:1075-1082.
- 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.
- Shipkova M, Armstrong W, Schneider T, Niedmann PD, Schütz E, Wieland E, Oellerich M. Stability of mycophenolic acid and mycophenolic acid glucuronide in human plasma. *Clin Chem* 1999;45:127-129.
- Shaw LM, Korecka M, Van Breeman R, Nowak I, Brayman KL. Analysis, pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid. *Clin Biochem* 1998; 31: 323-328.
- Schütz E, Shipkova M, Armstrong VW, Niedmann PD, Weber L, Tönshoff B, Pethig K et al. Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: comparison of HPLC and immunoassay reveals new MPA metabolites. *Transplant Proc* 1998; 30: 1185-1187.
- Nowak I, Shaw M. Mycophenolic acid binding to human serum albumin: characterization and relation to pharmacodynamics. *Clin Chem* 1995; 41: 1011-1017.
- Zanker B, Schleichner S, Schneeberger H, Krauss M, Land W. Mycophenolate mofetil in patients with acute renal failure: evidence of metabolite (MPAG) accumulation and removal by dialysis. *Transpl Int* 1996; 9 Suppl 1: S 308-310.
- Shipkova M, Niedmann PD, Armstrong VW, Schütz E, Wieland E, Shaw LM, Oellerich M. Simultaneous determination of mycophenolic acid and its glucuronide in human plasma using a simple high-performance liquid chromatography procedure. *Clin Chem* 1998; 44: 1481-1488.
- Mackenzie PI, Mojarrabi B, Meech R, Hansen A. Steroid UDP glucuronosyltransferases: characterization and regulation. *J Endocrinol* 1996;150: S79-S86.
- Burchell B, Nebert DW, Nelson DR, Bock KW, Iyanagi T, Jansen PL, Lancet D, Mulder GJ et al. The UDP glucuronosyltransferase gene superfamily: suggested nomenclature based on evolutionary divergence. *DNA Cell Biol* 1991 10, 487-494.
- Meech R, Mackenzie PI. Structure and function of uridine diphosphate glucuronosyltransferases. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1997; 24 : 907-15.
- Mojarrabi B, Mackenzie PI. The human UDP glucuronosyltransferase, UGT1A10, glucuronidates mycophenolic acid. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 238: 775-778.
- Cheng Z, Radomska-Pandya A, Tephly TR. Studies on the substrate specificity of human intestinal UDP- glucuronosyltransferases 1A8 and 1A10. *Drug Metab Dispos* 1999;27:1165-1170.
- Mulder GJ. Sex differences in drug conjugations and their consequences for drug toxicity. Sulfation, glucuronidation and glutathione conjugation. *Chem Biol Interact* 1986; 57: 1-15.
- Lamartinière CA, Dieringer CS, Kita E, Lucier GW. Altered sexual differentiation of hepatic uridine diphosphate glucuronosyltransferase by neonatal hormone treatment in rats. *Biochem J* 1979; 180: 313-318.
- Matsui M, Watanabe HK. Developmental alteration of hepatic UDP-glucuronosyltransferase and sulphotransferase towards androsterone and 4-nitrophenol in Wistar rats. *Biochem J* 1982; 204: 441-448.
- Hum DW, Bélanger A, Lévesque E, Barbier O, Beaulieu M, Albert C, Vallée M et al. Characterization of UDP-glucuronosyltransferases active on steroid hormones. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1999;69:413-423.
- Zucker K, Rosen A, Tsaroucha A, de Faria L, Roth D, Ciancio G, Esquenazi V, et al. Unexpected augmentation of mycophenolic acid pharmacokinetics in renal transplant patients receiving tacrolimus and mycophenolate mofetil in combination therapy, and analogous in vitro findings. *Transpl Immunol* 1997; 5: 225-32.