

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II
der Universität Würzburg**

Direktor: Professor Dr. med. H. Einsele

**„Lopinavir- und Efavirenz- Serumkonzentrationen bei antiretroviral
behandelten HIV-infizierten Kindern in Südafrika“**

Inaugural – Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Mirjam von Bibra

aus Bremen

Würzburg, Juni 2018

Referent: Prof. Dr. med. H. Klinker

Korreferent: Prof. Dr. M. Klein

Dekan: Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 4.4.2019

Die Promovendin ist Ärztin

Widmung

Ich widme diese Arbeit allen, die mit HIV infiziert sind. Besonders denke ich an meinen Onkel, der HIV positiv war.

Den HIV-positiven Kindern wünsche ich, dass sie einen guten Umgang mit der Infektion finden und nicht unter Stigmatisierungen leiden.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Das Humane Immunodefizienz-Virus (HIV)	1
1.1.1	Epidemiologie.....	1
1.1.2	Aufbau und Replikation des HI-Virus.....	2
1.1.2.1	Aufbau des HI-Virus.....	2
1.1.2.2	Replikation des HI-Virus	2
1.1.3	HIV-Infektionsweg.....	3
1.2	HIV-Stadien	3
1.2.1	CDC-Klassifikation	4
1.2.2	WHO-Stadieneinteilung	5
1.3	Antiretrovirale Therapie (ART).....	7
1.3.1	Antiretrovirale Substanzklassen	8
1.3.1.1	Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren.....	8
1.3.1.2	Nicht-Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren.....	9
1.3.1.3	Protease-Inhibitoren.....	9
1.3.1.4	Fusionsinhibitor	9
1.3.1.5	CCR5-Antagonist.....	10
1.3.1.6	Integraseinhibitoren	10
1.3.2	Antiretrovirale Medikamente in Südafrika 2010.....	10
1.3.2.1	Lopinavir/Ritonavir	10
1.3.2.2	Efavirenz (EFV).....	11
1.3.3	Therapieprinzipien.....	11
1.3.3.1	Therapiebeginn	11
1.3.3.2	Therapieadhärenz und Therapiekontrolle	12
1.3.4	Hepatischer Metabolismus: Enzymsystem Cytochrom P450.....	12
1.3.4.1	Induktion und Inhibition von CYP 3A4	12
1.3.4.2	Cytochrom P450 2B6 Polymorphismen	12

1.4	Therapeutisches Drug Monitoring	13
1.5	Allgemeine Pharmakokinetik	14
1.6	Pharmakokinetik bei Kindern	14
2	Fragestellung	16
3	Methodik	19
3.1	Patientenkollektiv	21
3.1.1	Ein- und Ausschlusskriterien.....	21
3.1.2	Datenerhebung.....	22
3.2	Labormethoden	23
3.2.1	Aufbereitung der Blutproben.....	23
3.2.2	HPLC-Analyse	23
3.3	Auswertung	25
3.3.1	Lopinavir	25
3.3.2	Efavirenz.....	25
3.4	Statistik	27
4	Ergebnisse	28
4.1	Patientendemographie.....	28
4.1.1	HIV-Stadien nach WHO.....	29
4.1.2	Viruslast.....	29
4.1.3	Therapieadhärenz.....	29
4.1.4	Komorbiditäten.....	29
4.2	Lopinavir Serumkonzentrationen	30
4.2.1	Geschlecht und LPV-Serumkonzentrationen	31
4.2.2	WHO-Stadium und LPV-Serumkonzentrationen.....	33
4.2.3	Dauer der ART und LPV-Serumkonzentrationen	34

4.2.4	CD4-Lymphozyten und LPV-Serumkonzentrationen	35
4.2.5	Viruslast und LPV-Serumkonzentrationen.....	36
4.2.6	Komorbiditäten bei LPV- Patienten	37
4.2.7	Untergewicht und LPV-Serumkonzentrationen	38
4.2.8	Therapieadhärenz und LPV-Serumkonzentrationen	39
4.2.9	Kasuistik: Säugling(K05) unter Lopinavir-haltiger Therapie	40
4.3	Efavirenz Serumkonzentrationen.....	43
4.3.1	Geschlecht und EFV-Serumkonzentration	44
4.3.2	WHO-Stadium und EFV-Serumkonzentration.....	46
4.3.3	Dauer der ART und EFV-Serumkonzentrationen	47
4.3.4	CD4-Lymphozyten und EFV-Serumkonzentrationen.....	48
4.3.5	HI-Viruslast und EFV-Serumkonzentrationen	49
4.3.6	Stationäre/ambulante Patienten und EFV-Serumkonzentrationen	49
4.3.7	Komorbiditäten und EFV-Serumkonzentrationen.....	51
4.3.8	Untergewicht und EFV-Serumkonzentrationen	52
4.3.9	Tuberkulostatische Komedikation und EFV-Serumkonzentrationen.....	53
4.3.10	Therapieadhärenz und EFV-Serumkonzentrationen	54
4.3.11	Kasuistik: Siebenjähriger Patient (K30).....	54
5	Diskussion.....	58
5.1	Lopinavir (LPV)	58
5.1.1	Therapeutischer Bereich.....	59
5.1.2	Kasuistik, verstorbener Patient.....	59
5.2	Efavirenz (EFV).....	61
5.2.1	Therapeutischer Bereich.....	61
5.2.2	Kasuistik EFV	62
5.3	Serumkonzentrationen und mögliche Einflussfaktoren	63

5.3.1	Geschlecht	63
5.3.2	WHO-Stadium.....	64
5.3.3	Dauer der ART	64
5.3.4	CD4-Lymphozyten und Viruslast.....	65
5.3.5	Komorbiditäten, Komedikation und Nebenwirkungen	66
5.3.6	Untergewicht	68
5.4	Therapeutisches Drug Monitoring in der antiretroviralen Therapie	69
5.4.1	Kontrolle der Therapieadhärenz	70
5.4.2	Pharmakokinetik bei Kindern.....	71
5.4.3	Therapeutisches Drug Monitoring bei Kindern.....	71
5.4.4	Therapeutisches Drug Monitoring in der Therapie mit Efavirenz	71
5.5	Limitationen.....	72
5.5.1	Datenerhebung.....	72
5.5.2	Studienpopulation.....	73
5.6	Ausblick	74
6	Zusammenfassung.....	75
7	Literaturverzeichnis.....	77

Abkürzungsverzeichnis

AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ART	Antiretrovirale Therapie
BMI	Body-Mass-Index
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CRP	C-reaktives Protein
C _{max}	Spitzenkonzentration
C _{min}	Minimalkonzentration
C _{trough}	Talspiegel
CYP 2B6	Cytochrom P450 2B6
CYP 3A4	Cytochrom P450 3A4
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EFV	Efavirenz
HIV	Humanes Immunodefizienz-Virus
HPLC	High-performance liquid Chromatography
HWZ	Halbwertszeit
IRTG	International Research Training Group
KG	Körpergewicht
LDL	Lower than detectable level
LLQ	Lower limit of quantification
LPV	Lopinavir
n.n.	nicht nachweisbar
NNRTI	Nicht-Nukleosidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitor
NRTI	Nukleosidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitor
PI	Proteaseinhibitoren

PK	Pharmakokinetik
Rif	Rifampicin
RNA	Ribonukleinsäure
RTV	Ritonavir
SD	Standardabweichung
TBC	Tuberkulose
TDM	Therapeutisches Drug Monitoring
ULQ	Upper limit of quantification
T_{\max}	Zeit bis zum Auftreten des Spitzenplasmaspiegels
$t_{1/2}$	Halbwertszeit
WHO	World Health Organization

1 Einleitung

1.1 Das Humane Immunodefizienz-Virus (HIV)

Im Jahr 1983 wurde in Paris vom Institut Pasteur erstmalig ein Virus beschrieben, das heute unter dem Namen HIV bekannt ist.¹ Das humane Immunodefizienz-Virus (HIV) ist ein Retrovirus, das insbesondere die CD4 positiven T-Lymphozyten des menschlichen Immunsystems infiziert. Es schreibt seine Ribonukleinsäure (RNA) mithilfe des Enzyms Reverse Transkriptase in Desoxyribonukleinsäure (DNA) um und integriert diese DNA mittels einer Integrase in die DNA der humanen T-Zellen. Dort wird es in großen Mengen repliziert und ausgeschleust, um weitere Zellen zu infizieren.

Das Fortschreiten der Infektion ist mit einem Abfall der CD4 positiven T-Lymphozyten verbunden. Daraus resultiert eine gravierende Immundefizienz. Das erworbene Immundefektsyndrom (AIDS „Acquired Immune Deficiency Syndrome“) bezeichnet die fortgeschrittene HIV-Infektion, welche durch das Auftreten lebensbedrohlicher, opportunistischer Infektionen gekennzeichnet ist.

1.1.1 Epidemiologie

Bereits 1990 waren 7,6 Millionen Menschen weltweit mit dem Virus infiziert. Die pandemische Ausbreitung des Virus entwickelte sich zu einer der größten medizinischen und gleichzeitig weltpolitischen Herausforderungen des 21. Jahrhunderts. Seit Beginn der Epidemie wurden fast 60 Millionen Menschen infiziert und 25 Millionen starben. 2008 waren weltweit 33,4 Millionen Infizierte statistisch erfasst, davon mehr als 2 Millionen Kinder unter 15 Jahren.²

Von den 33,4 Millionen Infizierten leben 67% im südlich der Sahara gelegenen Afrika. 91% der Neuinfektionen bei Kindern lassen sich in diese Region lokalisieren. In Südafrika, einem Land mit 50 Millionen Einwohnern³, in dem fast die Hälfte aller Todesfälle auf AIDS zurückzuführen ist, waren 2008 knapp 6 Millionen Menschen infiziert, davon 3,2 Millionen Frauen und 280.000 Kinder. Obwohl sich im letzten Jahrzehnt die Anzahl der Kinder, die eine antiretrovirale Therapie erhielten, mehr als verzehnfacht hat, fehlt weiterhin für die Mehrzahl der Kinder ein Zugang zu antiretroviraler Therapie.^{2 4 5}

1.1.2 Aufbau und Replikation des HI-Virus

1.1.2.1 Aufbau des HI-Virus

Das HI-Virus hat im ausgereiften Zustand eine Größe von ca. 100 nm. Es ist von einer doppelten Lipidmembran umgeben, die die zwei viralen Glykoproteine, das oberflächliche Glykoprotein gp120 und das Transmembranglykoprotein gp41, enthält. Der keilförmige Kern, von dem p24 Kapsid umgeben, enthält viruseigene Enzyme, das genetische Material in Form von 2 RNA-Strängen und weitere Faktoren. Das HI-Virus besitzt drei eigene Enzyme: 1. Die reverse Transkriptase, die der Umwandlung von RNA in DNA dient. 2. Die Integrase, die benötigt wird, um die neu synthetisierte DNA in die Zell-DNA einzubauen. 3. Die Protease, die die neu synthetisierten Virusbestandteile spaltet und dadurch aktiviert. Die drei viruseigenen Gene Gag, Pol und Env kodieren ein Gruppenspezifisches Antigen (Gag), eine Polymerase (Pol) und das Hüllprotein (Env).

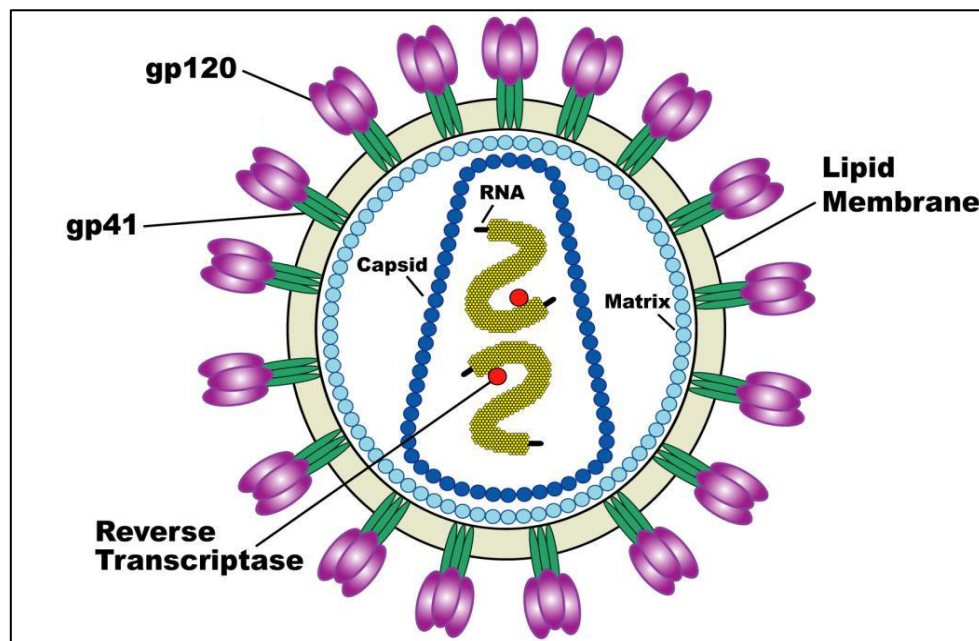


Abbildung 1: Aufbau des HI-Virus (Abbildung modifiziert nach National Institutes of Health, United States Department of Health and Human Services ⁶)

1.1.2.2 Replikation des HI-Virus

Um die virostatistischen Angriffsmöglichkeiten einer antiretroviralen Therapie zu verstehen, wird im Folgenden der Replikationszyklus eines HI-Virus kurz dargestellt.

Der erste Schritt der HIV-Replikation ist die Interaktion zwischen dem Virus und spezifischen Oberflächenrezeptoren der Wirtszelle. Der primäre Rezeptor ist ein CD4-Molekül mit den chemokinen Korezeptoren CCR5 und CXCR4. Durch die Bindung wird eine konformationelle Änderung im äußeren Hüllglykoprotein gp120 induziert. Dies aktiviert gp41, dessen aminoternales Ende die HIV-Membran der zu infizierenden Zelle räumlich annähert. Daraufhin fusioniert die Virusmembran mit der Zellmembran der Wirtszelle und das virale Kernmaterial wird ins Zytoplasma der Wirtszelle eingeschleust. Die reverse Transkriptase katalysiert die Umsetzung der viralen RNA in DNA, welche in den Zellkern eintritt. Die virale DNA wird, katalysiert durch die Integrase, in das chromosomale Genom der Wirtszelle integriert. Die RNA-Polymerase der Wirtszelle übernimmt die weitere Transkription. Mittels zelleigener Ribosomen wird die Herstellung von Virusproteinen durchgeführt. Das dritte viruseigene Enzym, die Protease, schneidet die Virusproteine so zurecht, dass sie zu einem infektiösen Virus zusammengesetzt werden können, das beim Austritt aus der Wirtszelle von deren Membran umhüllt wird.

1.1.3 HIV-Infektionsweg

Das HI-Virus wird durch Sexualkontakte oder direkten Blutkontakt übertragen. In folgenden Körperflüssigkeiten befinden sich Viren in signifikanter Zahl: Sperma, Vaginalsekret, Blut und Liquor. Die häufigsten Infektionswege sind ungeschützter Geschlechtsverkehr, intravenöser Drogenabusus und Mutter-Kind-Übertragung im Rahmen der Geburt.

1.2 HIV-Stadien

Zur HIV-Stadieneinteilung werden die CDC (Centers for Disease Control and Prevention) Klassifikation von 1993 und die WHO (World Health Organization) Stadieneinteilung, 2007 aktualisiert, genutzt.⁷⁻⁹

1.2.1 CDC-Klassifikation

Laborkategorie	Klinische Kategorie		
CD4-Lymphozyten	A: Asymptomatisch	B: Symptomatisch	C: AIDS-definierende Erkrankungen
1) ≥ 500 Zellen/ μl	A1	B1	C1
2) 200-499 Zellen/ μl	A2	B2	C2
3) < 200 Zellen/ μl	A3	B3	C3

Tabelle 1: CDC Klassifikation für HIV-infizierte Jugendliche und Erwachsene

Klinische Kategorie A:

- Asymptomatische HIV-Infektion
- persistierende generalisierte Lymphadenopathie
- akute, symptomatische (primäre) HIV-Infektion (auch in der Anamnese)

Klinische Kategorie B:

- Bazilläre Angiomatose Oropharyngeale Candida-Infektion
- Vulvovaginale Candida-Infektionen, die entweder chronisch (länger als ein Monat) oder nur schlecht therapierbar sind
- Zervikale Dysplasien oder Carcinoma in situ
- Konstitutionelle Symptome wie Fieber über 38,5 Grad Celsius oder länger als vier Wochen bestehende Diarrhöe
- Orale Haarleukoplakie
- Herpes Zoster bei Befall mehrerer Dermatome oder nach Rezidiven in einem Dermatome
- Idiopathische Thrombozytopenische Purpura
- Listeriose
- Entzündungen des kleinen Beckens, besonders bei Komplikationen eines Tuben- oder Ovarialabszesses
- Periphere Neuropathie

Klinische Kategorie C, AIDS-definierende Erkrankungen:

- Pneumocystis jirovecii-Pneumonie
- Toxoplasma-Enzephalitis
- Ösophageale Candida-Infektion oder Befall von Bronchien, Trachea oder Lunge
- Chronische Ulcera, Bronchitis, Pneumonie oder Ösophagitis durch Herpes simplex
- Zytomegalievirus-Retinitis
- generalisierte Zytomegalievirus-Infektion (nicht von Leber oder Milz)
- Rezidivierende Salmonellen-Septikämien
- Rezidivierende Pneumonien innerhalb eines Jahres
- Extrapulmonale Kryptokokken-Infektionen
- Chronische intestinale Kryptosporidien-Infektion
- Chronische intestinale Infektion mit Isospora belli
- Disseminierte oder extrapulmonale Histoplasmose
- Tuberkulose
- Infektionen mit Mykobakterium avium complex oder M. kansasii, disseminiert oder extrapulmonal
- Kaposi-Sarkom
- Maligne Lymphome (Burkitt's, immunoblastisches oder primär zerebrales Lymphom)
- Invasives Zervix-Karzinom
- HIV-Enzephalopathie
- Progressiv multifokale Leukenzephalopathie
- Wasting-Syndrom⁹

1.2.2 WHO-Stadieneinteilung

In Südafrika wird auch bei Kindern die HIV-Stadieneinteilung der World Health Organisation (WHO) benutzt, um Aussagen über das klinische Voranschreiten der Infektion zu machen. Im Gegensatz zu der CDC-Klassifikation kann die WHO-Stadieneinteilung in Situationen mit beschränkten Ressourcen, ohne die labortechnischen Messungen von CD4-Lymphozyten, genutzt werden.⁸

WHO-Stadium I: Asymptomatisch, persistierende generalisierte Lymphadenopathie

WHO-Stadium II:

- Moderater unerklärter Gewichtsverlust (<10% des Körpergewichts)
- Rezidivierende Atemwegsinfekte (Sinusitis, Tonsillitis, Otitis media, Pharyngitis)
- Herpes zoster
- Chelitis
- Rezidivierende orale Ulzera
- Papular pruric eruption (PPE)
- Seborrhoische Dermatitis
- Nagelmykose

WHO-Stadium III:

- Unerklärter starker Gewichtsverlust (>10% des Körpergewichts)
- Unerklärte Diarrhö > 30 Tage
- Fieber ohne Fokus >30 Tage
- Orale Candidosis (persistierend)
- Orale Haarleukoplakie
- Akute pulmonale Tuberkulose
- Schwere bakterielle Infektionen wie Pneumonie, Empyeme, infektiöse Myositis, Osteomyelitis, Arthritis, Meningitis, Sepsis)
- Akute nekrotisierende ulcerative Stomatitis, Gingivitis oder Peridontitis,
- Anämie unerklärter Genese (Hämoglobin <8 g/dl)
- Neutropenie (<500 Neutrophile/ μ l)
- Chronische Thrombozytopenie (<50.000 Thrombozyten/ μ l)

WHO-Stadium IV:

Das WHO-Stadium IV entspricht dem CDC Stadium C mit AIDS definierenden Erkrankungen. Als zusätzliche AIDS-definierende Erkrankungen werden in der WHO-Stadieneinteilung auch eine symptomatische HIV-assoziierte Nephropathie oder

Kardiomyopathie, Reaktivierung von Amerikanischer Trypanosomiasis und eine atypische disseminierte Leishmaniose aufgeführt.⁸

1.3 Antiretrovirale Therapie (ART)

In den 80iger Jahren des letzten Jahrtausends, als das klinische Krankheitsbild AIDS bekannt und das HI-Virus entdeckt wurde, gab es zunächst keine kausalen Therapieoptionen. Es konnten lediglich symptomatisch die opportunistischen Erkrankungen behandelt werden. Eine unbehandelte HIV-Infektion fortschreitend zu dem klinischen Bild AIDS verläuft ohne Therapie tödlich. Da das HI-Virus, wie eben dargestellt, körpereigene Zellen des Immunsystems für seine Replikation mithilfe der reversen Transkriptase nutzt, ist es herausfordernd, einen Angriffspunkt für eine medikamentöse antivirale Therapie zu finden. Denn, um den Replikationsort oder den Aufenthaltsort der Viren zu zerstören, müsste die Therapie gegen körpereigene Immunzellen gerichtet sein.

Im Jahr 1987 gelang es erstmals, medikamentös durch die antiretroviralen Eigenschaften von Azidothymidin die Replikation des Virus durch Hemmung der Reversen Transkriptase signifikant zu reduzieren. Durch das Entstehen von Virusmutanten konnten sich bei einer Monotherapie mit einer antiviralen Substanz jedoch rasch Resistenten entwickeln. Neun Jahre später gab es die erste antiretrovirale Kombinationstherapie mit Proteaseinhibitoren. Durch eine Kombinationstherapie von antiviralen Medikamenten mit verschiedenen Angriffspunkten gelang es nun noch effektiver, die Replikation der HI-Viren zu inhibieren. Aufgabe der antiretroviralen Therapie ist es, die Replikation der HI-Viren zu minimieren und damit die Viruslast im Individuum zu senken. Es konnten Morbidität und Mortalität enorm gesenkt werden.

Die Weiterentwicklung der antiretroviralen Therapie bot große Potentiale und zeigte gute Erfolge. Allerdings traten auch erhebliche Nebenwirkungen auf.¹⁰ Eine kontinuierliche Forschung machte es möglich, immer neue antiretrovirale Substanzen zu entwickeln mit verbessertem Nebenwirkungsprofil oder praktikableren Einnahmeformen.

Im Jahr 2000 wurden von den Vereinten Nationen die Millenniumsentwicklungsziele formuliert. Eines der Ziele hieß, die pandemische Ausbreitung von HIV/AIDS zu

stoppen und weltweit Zugang zu antiretroviraler Therapie zu ermöglichen. Seitdem arbeitet die Weltgemeinschaft daran, die antiretrovirale Therapie in ressourcen-schwachen Ländern zu implementieren. Trotz vieler Aufklärungsbemühungen, der breit angelegten Forschung und zahlreicher Distributionskampagnen für Medikamente mit viel Einsatz der WHO, der Vereinten Nationen, Regierungen, Nichtregierungsorganisationen (NGOs) und vielen mehr ist ein Stopp der globalen Pandemie bis jetzt nicht gelungen. Weiterhin bleiben Therapieadhärenz, Ermöglichen von Zugang zu Medikamenten und Aufklärung große globale gesundheitspolitische Herausforderungen.

In einem optimalen Setting mit sicherem Zugang zu antiretroviraler Therapie, kontinuierlicher Therapieadhärenz und guter individuellen Wirkung und Verträglichkeit der antiretroviralen Therapie kann die Lebenserwartung eines HIV Patienten, wie durch die ANTIRETROVIRAL COHORT COLLABORATION¹¹ 2008 extrapoliert, bei einem zu Therapiebeginn 20-jährigen Patienten bei weit über 40 weiteren Jahren liegen, bei einem 35-jährigen bei über 30 weiteren Lebensjahren. Dieser theoretisch mögliche Therapieerfolg lässt sich bei weitem noch nicht für jeden HIV-Patienten weltweit erreichen.

1.3.1 Antiretrovirale Substanzklassen

Das Ziel der HIV-Therapie ist, die Virusreplikation kontinuierlich zu hemmen. In der antiretroviralen Therapie (ART) werden meist zwei nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI) mit wahlweise einem Nicht-Nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitor (NNRTI), einem Proteaseinhibitor (PI) oder einem Integraseinhibitor kombiniert.

1.3.1.1 Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren

Der Replikationszyklus des HI-Virus lässt sich an verschiedenen Stellen hemmen. Die älteste Substanzgruppe stellen die nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI) dar. Hierbei handelt es sich um modifizierte Nukleoside, die die Aktivität der reversen Transkriptase dahingehend beeinträchtigen, dass sie kompetitiv mit den natürlichen Substraten konkurrieren. Dadurch kommt es bei deren Einbau, in die zu synthetisierende DNA, zu Kettenabbrüchen. Stavudin, Lamivudin, Zidovudin,

Abacavir, Didanosin sind Nukleosid-Analoga. Tenofovir ist ein Nukleotid-Analogon. NRTI werden durch eine intrazelluläre Phosphorylierung aktiviert.

1.3.1.2 Nicht-Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren

Die Nicht-Nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NNRTI) bewirken eine allosterische Enzymhemmung, indem sie sich in Nachbarschaft der Bindungsstellen der reversen Transkriptase anlagern und deren Konformation so verändern, dass Substrate nicht mehr binden können. Über diesen Wirkmechanismus funktionieren Efavirenz (EFV) und Nevirapin. Sie werden über Cytochrom P450 2B6 (CYP 2B6) und Cytochrom P450 3A4 (CYP 3A4) metabolisiert und aktivieren CYP 3A4 gleichzeitig.^{12,13} Durch die Autoinduktion beschleunigen EFV und Nevirapin also ihren eigenen Metabolismus.^{14,15}

1.3.1.3 Protease-Inhibitoren

Nach der DNA-Replikation im Wirtszellkern und der Synthese neuer Virusproteine bedarf es der viralen Protease, um die neu synthetisierten Proteine zu aktivieren. Die Protease Inhibitoren (PI) hemmen die Protease durch kompetitive Hemmung. Durch das Besetzen der aktiven Zentren in den synthetisierten Proteinen seitens der PI wird die Wirkung der Protease verhindert. Die Spaltung, die zur Aktivierung der Proteine notwendig ist, bleibt aus. PI werden v.a. in der Leber unter starker Beteiligung von CYP 3A4 metabolisiert.¹⁶ Zu den PI gehören: Lopinavir (LPV), Atazanavir, Indinavir, Nelfinavir, Ritonavir (RTV), Saquinavir, Darunavir und Tipranavir.

Beim Einsatz von Ritonavir (RTV) steht die inhibitorische Wirkung der Substanz auf CYP 3A4 im Vordergrund. Es wird in kleinerer Dosierung als Booster für andere PI hinzugefügt. Lopinavir gibt es unter dem Handelsnamen Kaletra® nur als Fixkombination mit dem Booster Ritonavir im Verhältnis LPV/RTV = 4/1.

1.3.1.4 Fusionsinhibitor

Ein Fusionsinhibitor verhindert die Fusion von Virus- und Wirtszellenmembran bevor die Replikation beginnen kann. Der subkutan zu verabreichende Wirkstoff dieser Substanzklasse ist Enfuvirtid, welches an gp41 bindet und damit die Ausbildung der hexahelikalen Struktur verhindert, die mit ihrem aminoterminalen Ende das Virus an die Wirtszellmembran heranzieht.

1.3.1.5 CCR5-Antagonist

Maraviroc ist ein selektiver CCR5-Rezeptor-Antagonist. Durch die Blockierung des CCR5-Korezeptors verhindert er das Andocken von HI-Viren an CD4 positiven T-Lymphozyten und damit deren Infektion.

1.3.1.6 Integraseinhibitoren

Integraseinhibitoren hemmen das Enzym Integrase und verhindern somit die Integration der viralen DNA in das Wirtszellgenom. Ein Substanzbeispiel ist Raltegravir.¹⁷

1.3.2 Antiretrovirale Medikamente in Südafrika 2010

Die vorliegende Arbeit bezieht sich auf eine Erhebung, die im Rahmen des Internationalen Graduiertenkollegs (IRTG) 1522 in Kapstadt, Südafrika durchgeführt wurde.

Deshalb sollen im Folgenden die Substanzen vorgestellt werden, die entsprechend den im Jahr 2010 aktuellen nationalen Richtlinien in Südafrika zur Behandlung von Kindern zugelassen waren. Medikamente erster Wahl für die Behandlung von Kindern waren bis April 2010 Stavudin, Lamivudin und Lopinavir (LPV/r) oder Efavirenz (EFV).

Seit April 2010, dem Zeitpunkt, an dem neue nationale Richtlinien für die HIV-Therapie in Kraft traten, war die Behandlung mit Abacavir anstelle von Stavudin vorgesehen. Alle Kinder, bei denen nach April 2010 eine antiretrovirale Therapie (ART) begonnen wurde, wurden mit Abacavir und Lamivudin plus Lopinavir (LPV) oder Efavirenz (EFV) behandelt. Die Medikamente wurden dem Körpergewicht entsprechend dosiert.¹⁸

1.3.2.1 Lopinavir/Ritonavir

In Kombination mit den 2 NRTI, Abacavir und Lamivudin oder Stavudin und Lamivudin, wird bei Kindern unter drei Jahren oder bei einem Körpergewicht unter 10 kg der Protease-Inhibitor Lopinavir, mit Ritonavir geboostert, (LPV/r) in Form von Sirup verabreicht. Die flüssige Aufnahme erleichtert die Medikamentengabe bei Säuglingen und Kleinkindern. Die Fixkombination LPV/r mit dem Handelsnamen Kaletra® hat allerdings einen bitteren Geschmack, was zu Defiziten in der Therapieadhärenz führen kann. Die Halbwertszeit von LPV/r beträgt 5-6 Std. Die Bioverfügbarkeit wird vergrößert, wenn das Medikament zusammen mit Nahrung eingenommen wird. Es wird zu einem beträchtlichen Teil in der Leber über das CYP

P450 System metabolisiert. Die Wirkung von Ritonavir (RTV) beruht vor allem auf der Inhibition von CYP 3A4, wodurch der Abbau von LPV verlangsamt und damit die Plasmakonzentration von LPV erhöht und die Halbwertszeit verlängert wird.¹⁹

1.3.2.2 Efavirenz (EFV)

Ist der pädiatrische Patient älter als drei Jahre oder sein Körpergewicht über 10 kg, wird anstelle eines PI der NNRTI Efavirenz für die ART verwendet. EFV hat eine Halbwertszeit von 52-76 Std. Es liegt im Plasma proteingebunden vor, v.a. an Albumin, und wird ebenfalls in der Leber über das CYP P450 System metabolisiert.¹⁹ EFV beschleunigt durch die Induktion von CYP 3A4 seinen eigenen Metabolismus.^{14,15}

Ist die ART mit den Medikamenten erster Wahl nicht erfolgreich, steht alternativ die Kombination folgender NRTI zur Verfügung: Zidovudin, der älteste NRTI²⁰, mit Didanosin, das in großen Tabletten, mit Magensäurepuffer versetzt, nüchtern verabreicht wird. Diese zwei NRTI werden wahlweise, nach oben beschriebenem System, mit EFV oder LPV/r kombiniert.

1.3.3 Therapieprinzipien

1.3.3.1 Therapiebeginn

In Deutschland wurde zum Zeitpunkt der Untersuchung durch die deutsch-österreichische Leitlinie empfohlen, die ART zu beginnen, wenn die CD4-Lymphozyten unter 350 Zellen pro µl Blut gefallen waren.²¹ In Südafrika empfehlen die nationalen Richtlinien, die Therapie erst beim Unterschreiten von 200 CD4-Lymphozyten pro µl Blut zu beginnen. Seit April 2010 wurde diese Vorgabe relativiert. Schwangere Frauen und mit Tuberkulose Ko-Infizierte begannen eine ART nach den neueren Richtlinien schon beim Unterschreiten von 350 CD4-Lymphozyten pro µl Blut. Bei Kindern ist der Start einer ART jedoch dringlicher. In Südafrika begannen alle HIV-positiven Kinder unter einem Jahr unmittelbar nach Diagnosestellung mit der ART. Bei Kindern zwischen 1 und 5 Lebensjahren initiierte man die Behandlung bei all denen, die eine CD4-Zellzahl von unter 750 Zellen pro µl Blut aufwiesen, und all denen, die sich nach der WHO im HIV-Stadium 3 oder 4 befanden. Nach dem 5. Lebensjahr begannen wiederum alle Kinder mit WHO-Stadium 3 und 4 oder bei einer CD4-Lymphozytenzahl, die 350 Zellen pro µl unterschritt.¹⁸

1.3.3.2 Therapieadhärenz und Therapiekontrolle

Bei der medikamentösen HIV-Therapie wird eine Reduktion der Virusreplikation erreicht. Eine Viruselimination ist nicht möglich. Eine lebenslange medikamentöse Therapie ist notwendig. Bevor ein Patient die Behandlung beginnt, muss die Bereitschaft seinerseits vorhanden sein, eine konstante tägliche Einnahme der Tabletten zu gewährleisten. In Südafrika gibt es speziell für diese Gespräche ausgebildete Berater. Sobald ein Arzt vermutet, dass eine mangelnde Therapieadhärenz vorliegt, wird der Patient zu erneuten Sitzungen mit dem Berater überwiesen. Bei sozialen oder familiären Problemen der pädiatrischen Patienten stehen den Ärzten in Südafrika Sozialarbeiter zur Seite. Bei normalem Therapieverlauf findet alle 12 Monate eine ärztliche Konsultation mit Anamnese, körperlicher Untersuchung und Laborkontrolle statt. Bei dieser Kontrolle werden ein kleines Blutbild, die Viruslast und die Anzahl der CD4 positiven Lymphozyten bestimmt.¹⁸

1.3.4 Hepatischer Metabolismus: Enzymsystem Cytochrom P450

In der Leber werden verschiedene Substanzen über das Cytochrom P450 System metabolisiert. Bei den Cytochromen handelt es sich um Enzyme, die in Leber und Magen-Darm-Trakt vorkommen. Sie katalysieren die Oxidation, den ersten Schritt der Metabolisierung vieler Medikamente. Die Cytochrome werden individuell in verschiedener Quantität exprimiert und können von verschiedenen Medikamenten induziert oder inhibiert werden.^{16,22} Dies kann wiederum zu Veränderung der Serumspiegel von Medikamenten führen.

1.3.4.1 Induktion und Inhibition von CYP 3A4

Durch die Induktion von CYP 3A4 kommt zu einem beschleunigten Metabolismus und dadurch zu niedrigen Serumspiegeln von PI und NNRTI.²³ Dass Rifampicin (Rif) ein starker Induktor von CYP 3A4 ist, sollte bei der gleichzeitigen Verabreichung von Tuberkulostatika und PI und NNRTI bedacht werden.²⁴ Ritonavir (RTV) ist ein Inhibitor von CYP 3A4. Durch die Inhibition sinkt die Aktivität von CYP 3A4 und dadurch kann es zu hohen Serumspiegeln von durch CYP 3A4 metabolisierten Medikamenten kommen.

1.3.4.2 Cytochrom P450 2B6 Polymorphismen

Das Cytochrom P450 2B6 (CYP 2B6) wird durch ein Gen kodiert, das in Polymorphismen auftritt.²⁵ Medikamente werden je nach Art des Polymorphismus

unterschiedlich rasch metabolisiert. Efavirenz wird beispielsweise durch CYP 2B6 metabolisiert. Bei den sogenannten slow metabolizern werden Medikamente langsam verstoffwechselt. Es kann zu hohen Medikamentenspiegeln kommen.²⁶ Bei den rapid metabolizern werden die durch CYP 2B6 metabolisierten Medikamente relativ schnell verstoffwechselt. Folglich kann es hier zu niedrigen Serumspiegeln kommen.

1.4 Therapeutisches Drug Monitoring

Das Therapeutische Drug Monitoring (TDM) ist zwar in einigen Bereichen der Pharmakologie ein etabliertes Instrument zur Adjustierung von Medikamentendosierungen, jedoch kommt TDM derzeit in der antiretroviralen Therapie (ART) noch nicht regelhaft zum Einsatz. Das Prinzip von TDM ist, die systemischen Wirkstoffkonzentrationen zu messen und mit dem therapeutischen Bereich der Substanz zu vergleichen. Bei Abweichungen erhält der Patient dann entsprechend modifizierte Dosierungen. Dieses Prinzip wird beispielsweise bei der Therapie mit Immunsuppressiva, wie Tacrolimus, oder in der medikamentösen Therapie der Herzinsuffizienz mit Digitalis erfolgreich angewendet.

Ziel der antiretroviralen Therapie ist das Senken der Viruslast bis unter die Nachweisgrenze. Gelingt dies nicht, spricht man von einem Therapieversagen. Gründe für Therapieversagen gibt es in der täglichen Praxis viele wie mangelnde Adhärenz, Resistenzentwicklung oder pharmakokinetische Faktoren.

Es ist davon auszugehen, dass bei zu niedrigen, also subtherapeutischen Serumkonzentrationen, ein erhöhter Selektionsdruck und damit das Risiko für die Herausbildung von Virusmutanten entstehen, die gegen antiretrovirale Medikamente resistent sind. Bei Virusmutanten mit Resistenzen ist die Auswahl von antiretroviralen Medikamenten für das Erreichen einer Virussuppression eingeschränkt.

Bei hohen Serumspiegeln der antiretroviralen Medikamente steigt das Risiko für toxische Wirkungen. Eine orientierende Messung der Serumspiegel könnte unter Umständen einen hilfreichen Hinweis über Erfolgsaussichten und Gefahren der individuellen antiretroviralen Therapie geben. Es gibt allerdings für die antiretrovirale Therapie noch wenige Daten zu Messungen der Serumkonzentrationen mit dem Ziel, eine individuelle optimale Medikamentendosis im Sinne von TDM zu finden.

1.5 Allgemeine Pharmakokinetik

Die Pharmakokinetik (PK) beschreibt die Absorption, die Distribution, die Metabolisierung und die Exkretion eines Medikamentes im Körper.

Zur Darstellung der pharmakokinetischen Eigenschaften von Medikamenten werden folgende Größen benutzt.

Die Kenngröße T_{\max} beschreibt die Zeit nach Medikamenteneinnahme, die benötigt wird, um den Spitzenplasmaspiegel (C_{\max}) im Serum zu erreichen.

Die Bezeichnungen Talspiegel (C_{trough}) und Minimalkonzentration (C_{\min}) werden oft synonym benutzt. Sie beschreiben den niedrigsten Medikamentenspiegel nach einer Medikamenteneinnahme direkt vor der Einnahme der nächsten Dosis.

Die Halbwertszeit ($t_{1/2}$) beschreibt die Zeit, nach der die Medikamentenkonzentration im Serum um die Hälfte abgenommen hat.

Die Area under the curve bezeichnet die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve eines Medikamentes im Blut. Sie ist ein Korrelat für die Menge des Arzneistoffs im Körper. Die Area under the curve kann für Aussagen über Absorption oder Elimination eines Stoffes benutzt werden.

1.6 Pharmakokinetik bei Kindern

Zwischen der Pharmakokinetik (PK) von Erwachsenen und Kindern zeigen sich deutliche Differenzen. Viele Parameter verändern sich bei dem ständigen Wachstum und der dynamischen Entwicklung während der Kindheit.

Beispielsweise unterscheiden sich Kinder von Erwachsenen hinsichtlich des pH-Wertes im Magen, den Magenentleerungszeiten, der intestinalen Motilität und der Sekretion der Gallensäuren. Diese Faktoren beeinflussen die Adsorption eines Wirkstoffes.

Für die Distribution der Wirkstoffe fällt ins Gewicht, dass sich das Gesamtkörperwasser von circa 75% bei Neugeborenen im Laufe der Zeit auf 55% bei Erwachsenen reduziert. Bei Enzymaktivitäten, die die Metabolisierung betreffen, treten signifikante Unterschiede bei Kindern auf. So liegt die frühkindliche Aktivität der P450 Enzyme im Vergleich zu einem Erwachsenen nur bei 20-70%.

Die Exkretion wird maßgeblich determiniert durch die Nierenfunktion, welche im Alter von 3-5 Jahren ihre Spitzenwerte erreicht. Die Dosisfindung für eine ART wird darüber hinaus durch die Tatsache erschwert, dass die PK bei HIV positiven Kindern anders ist als bei HIV negativen.²⁷

2 Fragestellung

Im Kollektiv aller HIV-Patienten weltweit zeigen sich deutliche demographische und ethnische Unterschiede zwischen westlichen Ländern und Ländern des globalen Südens. Der Großteil der klinischen Daten aus Studien zur Zulassung von antiretroviralen Medikamenten über Pharmakokinetik, Nebenwirkungen und Therapiekontrolle sind in westlichen Ländern an homosexuellen Männern kaukasischer Abstammung erhoben worden. Jedoch sind in Regionen mit hoher HIV-Prävalenz, wie im subsaharischen Afrika, viele Frauen und Kinder afrikanischer Abstammung von HIV/AIDS betroffen.

So leben beispielsweise in Deutschland laut Robert Koch Institut 200 Kinder mit HIV/AIDS, dies entspricht 0,25 % aller HIV-Infizierten in Deutschland. In Südafrika hingegen leben 280.000 Kinder mit HIV/AIDS, 4,7 % der HIV-Infizierten im Land.^{4,5,28} Es gibt wenige Daten über die Pharmakokinetik antiretroviraler Medikamente bei Kindern, neben den wenigen kontrollierten klinischen Studien für die Zulassung mit oft kleinen Fallzahlen.

Die antiretrovirale Therapie ist inzwischen in weiten Teilen der Welt verfügbar und erzielt große Erfolge bei kontinuierlicher Einnahme der Medikamente und gutem Ansprechen des Individuums. Die Messung der Viruslast macht es möglich, Therapieversagen rasch zu erkennen. Das immunologische Versagen lässt sich am Abfall der CD4-Lymphozyten erkennen.

Möglicherweise kann durch eine Messung der Serumkonzentrationen der antiretroviralen Medikamente eine insuffiziente medikamentöse Therapie vor einem Abfall der CD4-Lymphozyten oder einem Anstieg der Viruslast identifiziert werden. Um jedoch über einen potenziellen Nutzen von individuellen Messungen der Serumkonzentrationen diskutieren zu können, sind zuerst Datenerhebungen notwendig, die ein Bild über die klinische Realität der Serumspiegel in verschiedenen Kohorten mit unterschiedlicher Ethnie und Demographie vermitteln.

So war es Ziel dieser Erhebung, Serumspiegelmessungen zu zufälligen Zeitpunkten im Dosierungsintervall durchzuführen und damit in einem Setting abseits von klinischen Studien die Realität der in der Praxis erreichten Serumkonzentrationen bei südafrikanischen Kindern aufzuzeigen. Die Untersuchung der

Medikamentenkonzentrationen bezog sich auf den Proteaseinhibitor Lopinavir und den Nicht-Nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitor Efavirenz.

Auf Grundlage dieser Forschungsergebnisse wird die vorliegende Arbeit den folgenden Fragen nachgehen:

- Welche Efavirenz- und Lopinavir-Serumkonzentrationen stellen sich im klinischen Alltag ohne Observation der Medikamenteneinnahme durch medizinisches Personal bei Kindern in Südafrika ein?
- Wie ist die Verteilung zwischen Kindern mit Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich verglichen mit Serumkonzentrationen außerhalb des therapeutischen Bereichs?
- Wie ist die Varianz der gemessenen Serumkonzentrationen?
- Welchen Einfluss hat das Geschlecht auf die erreichten Medikamentenkonzentrationen?
- Welche Serumkonzentrationen werden in den verschiedenen WHO-Stadien erreicht?
- Wie häufig kommen bei Kindern, die länger als 12 Monate eine ART einnehmen, nicht-therapeutische versus therapeutische Serumkonzentrationen vor, verglichen mit Kindern, die die ART erst weniger als 12 Monate einnehmen?
- Welche Unterschiede in der Häufigkeit von nicht-therapeutischen Serumkonzentrationen zeigen sich zwischen Kindern mit <350 CD4 positiven Zellen/ml verglichen mit Kindern mit >350 CD4 positiven Zellen/ml?
- Welche Unterschiede zeigen die erreichten Serumkonzentrationen zwischen Kindern mit hoher versus geringer Viruslast?
- Welche Serumkonzentrationen werden bei Komorbiditäten erreicht? Welchen Einfluss hat Gastroenteritis auf die erreichten Serumkonzentrationen?

- Welche Unterschiede bei den Serumkonzentrationen zeigen sich zwischen Kindern mit Untergewicht versus Normalgewicht?
- Welche Assoziation zeigt sich zwischen anamnestisch mangelnder Therapieadhärenz und nicht-therapeutischen Serumkonzentrationen?
- Welche Serumkonzentrationen stellen sich bei hospitalisierten Patienten im Vergleich zu ambulanten Patienten ein?
- Welche Efavirenz-Serumkonzentrationen stellen sich bei Kindern mit tuberkulostatischer Ko-Medikation ein?
- Welche Faktoren können identifiziert werden, die mit nicht-therapeutischen Serumkonzentrationen assoziiert sind?

3 Methodik

Diese Arbeit wurde als Teil des Internationalen Graduiertenkollegs „International Research Training Group (IRTG) 1522“ in Kapstadt/Südafrika von der Verfasserin durchgeführt. Das IRTG war eine Kollaboration von Forschungsgruppen der Stellenbosch University, der University of Cape Town und der Universität Würzburg. Thema der gemeinschaftlichen Forschung waren HIV/AIDS und assoziierte Infektionskrankheiten in Südafrika. Gefördert wurde das IRTG von 2008 bis 2013 durch die Deutsche Forschungsgesellschaft, den National Research Fund Südafrikas und die Bayerische Staatsregierung.

Die Verfasserin wurde von Prof. Klinker aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik, Schwerpunkt Infektiologie, der Universitätsklinikums Würzburg in der Planung und Auswertung der Arbeit begleitet. Während der Datenerhebung in Südafrika standen Prof. Cotton aus der Pädiatrie des Tygerberg Hospitals und Prof. Rosenkranz aus der Klinischen Pharmakologie der Universität Stellenbosch vor Ort als Supervisoren zur Verfügung. Während eines 5-monatigen Aufenthaltes in Kapstadt/Südafrika wohnte und arbeitete die Verfasserin auf dem Campus des Tygerberg Hospitals.

Die Arbeit für die Datenerhebung im Tygerberg Hospital gestaltete sich für die Verfasserin der vorliegenden Arbeit wie folgt. Vormittags zu Sprechstunden- und Visitenzeiten war sie abwechselnd in der Tagesklinik für HIV-positive Kinder und auf der pädiatrisch-infektiologischen Station anwesend. Sie nahm an Visiten und Stationsarbeit teil und wohnte den Sprechstunden mit Verlaufsuntersuchung der ambulanten Patienten bei.

Wenn bei einem der pädiatrischen HIV-Patienten die Indikation zu einer Blutuntersuchung gestellt wurde, prüfte die Verfasserin der Arbeit die Einschluss- und Ausschlusskriterien für die klinische Erhebung. Kam das Kind für eine Messung der Serumkonzentration im Rahmen der vorliegenden Arbeit in Frage, fand die Verfasserin vorliegender Arbeit heraus, wer die Erziehungsberechtigten waren und wann diese anzutreffen seien.

Im Gespräch mit den Erziehungsberechtigten assistierte eine Übersetzerin, falls die Erziehungsberechtigten nicht flüssig englisch sprachen. Die Informationsbögen lagen in

den drei meistgesprochenen Sprachen der Kapregion Afrikaans, Englisch und Xhosa schriftlich zum Aushändigen vor. In einem Aufklärungsgespräch wurde das Vorhaben der Erhebung erklärt und die Freiwilligkeit der Teilnahme hervorgehoben. Willigten die Erziehungsberechtigten ein, wurden anamnestische Daten in mithilfe von Erhebungsbögen (siehe Anhang) dokumentiert.

Die Verfasserin ließ sich die Packungen der antiretroviralen Medikamente zeigen und dokumentierte die Applikationsform, Dosen, Zeitpunkte der letzten Einnahme und die berichtete Therapieadhärenz.

Bei der Blutentnahme assistierte die Verfasserin der Arbeit den behandelnden Ärztinnen und es wurden 2 ml Blut in ein Extra-Serumröhrchen abgenommen.

Aus der Patientendokumentation der Klinik suchte die Verfasserin die Laborergebnisse der letzten 6 Monate der in die Erhebung aufgenommenen Kindern heraus. In den Kurven und Ambulanzakten der Patienten recherchierte die Verfasserin die Patientengeschichte. Dort ließen sich unter anderem Informationen über Ko-Medikation, Komorbiditäten, Dauer der Behandlung, WHO-Stadium gewinnen.

Nach Ende der Sprechstunde der Tagesklinik und Ende der Stationsarbeit bereitete die Verfasserin in der Abteilung der Klinischen Pharmakologie die Daten und Serumproben auf. Den Patienten wurde eine Fallnummer für die Erhebung zugeteilt, sodass die Daten pseudonymisiert ausgewertet werden konnten. Die klinischen Daten wurden in eine pseudonymisierte Excel-Datenbank eingepflegt und die Erhebungsbögen archiviert.

Die Serumröhrchen wurden von der Verfasserin am Tag der Blutentnahme zentrifugiert und das Serum abpipettiert. In einem Röhrchen mit der Fallnummer und Datum der Erhebung wurde das Serum tiefgefroren asserviert.

3.1 Patientenkollektiv

Das Protokoll für die vorliegende klinische Erhebung wurde von der Ethikkommission der Universität Stellenbosch genehmigt (Nr. N09/05/151). Von den im Protokoll aufgeführten Gruppierungen bezieht sich diese vorliegende Arbeit auf Jugendliche, Kinder, Säuglinge und Neugeborene. Die Rekrutierung fand im Zeitraum von März 2010 bis August 2010 ausschließlich im „Tygerberg Hospital“ in Kapstadt, Südafrika statt und bezog sowohl ambulante als auch stationäre Patienten mit ein. Zum Zeitpunkt einer klinisch indizierten Venenpunktion wurde 2 ml Blut zusätzlich abgenommen und im Rahmen der Studie die Serumkonzentrationen von Lopinavir und Efavirenz gemessen.

3.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Die Einschlusskriterien waren eine vorliegende HIV-Infektion und die Einnahme von einem der folgenden antiretroviralen Medikamente: Efavirenz oder Lopinavir. Um die Serumkonzentrationen zu messen, sollten die Patienten für den zu messenden Arzneimittelwirkstoff den pharmakokinetischen Steady state erreicht haben. Ein Steady state wird nach ca. 5 Halbwertszeiten erreicht. Patienten, die EFV bekamen, durften also frühestens 10 Tage nach Therapiebeginn an der Untersuchung teilnehmen. Bei der Einnahme von LPV/r ist 3 Tage nach Therapiebeginn der Steady state erreicht und Patienten konnten dann in die Untersuchung aufgenommen werden.

Eingeschlossen werden konnten auch Frühgeborene, Patienten auf der Intensivstation, Tuberkulose- (TBC) Ko-Infizierte, Patienten mit Diarrhö und unterernährte Patienten. Es konnten nur Patienten eingeschlossen werden, bei denen eine klinische Indikation für eine Venenpunktion vorlag, eine Venenpunktion allein zur Entnahme von Blut für Studienzwecke war aus ethischen Gründen nicht zulässig.

Patienten, deren gesundheitlicher Zustand so schlecht war, dass eine zusätzliche Entnahme von 2 ml Blut für sie eine Gefährdung darstellte, durften nicht in die Studie integriert werden. Ein weiteres Ausschlusskriterium war fehlende Einverständniserklärung der Erziehungsberechtigten für die Untersuchung. Informationsmaterial und Einverständniserklärung lagen als Broschüre in den drei meistgesprochenen Sprachen der Kapregion Afrikaans, Englisch und Xhosa vor. Um sicherzustellen, dass die Erziehungsberechtigten Procedere und Anliegen der

Untersuchung verstanden hatten, war eine Übersetzerin bei der Anamnese und Aufklärung zugegen.

3.1.2 Datenerhebung

Zum Zeitpunkt der Blutentnahme wurde die genaue Uhrzeit der Venenpunktion festgehalten. Außerdem wurden folgende Daten von den Patienten erhoben: Alter, ethnische Gruppe, Geschlecht, Größe, Gewicht, Ernährungszustand, Zeitpunkt der HIV-Erstdiagnose und WHO-Stadium der HIV-Infektion, Komedikation, sonstige Erkrankungen bzw. Grund für stationären Aufenthalt und Zeitpunkt der letzten Mahlzeit. Weiterhin wurden, soweit vorliegend, folgende Laborparameter aus den Patientenakten der Klinik dokumentiert: CD4-Zellzahl, CD4-Prozentsatz, Kreatinin, Viruslast, Serumalbumin, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Hämoglobin, Thrombozyten und Leukozyten. Das aktuelle Regime der ART inklusive Therapiebeginn, die Dosierung, der Zeitpunkt der letzten Medikamenteneinnahme und die Anzahl der in den letzten 7 Tagen versäumten Medikamenteneinnahmen wurden ebenfalls dokumentiert. Bei Patienten mit einer tuberkulostatischen Komedikation wurde der Zeitpunkt der letzten Rifampicin-Einnahme dokumentiert.

3.2 Labormethoden

3.2.1 Aufbereitung der Blutproben

Nach der Blutentnahme in „Tygerberg Hospital“ wurden die Blutproben in Gel-Serumröhrchen in das Labor der Universität Stellenbosch transportiert. Nach 10-minütigem Zentrifugieren in einem Gerät der Firma Beckman bei 4.000 Umdrehungen pro Minute (2.177 g units) trug die Verfasserin der Arbeit mithilfe einer Pipette das Serum ab. Das isolierte Serum wurde anschließend für 60 Minuten bei 56° C im Wasserbad inaktiviert. Zur Lagerung verblieben die Proben bei -80° C in Kapstadt bis sie auf Trockeneis nach Würzburg transportiert wurden.

3.2.2 HPLC-Analyse

Die Serumspiegel der NNRTI und PI wurden im wissenschaftlichen Labor des Schwerpunktes Infektiologie des Universitätsklinikums Würzburg gemessen. Im Folgenden wird die Methode für die Messungen von LPV/r beispielhaft beschrieben, wie auch von LANGMANN, KLINKER, SCHIRMER ET AL²⁹ veröffentlicht.

Die deaktivierten Serumproben, die LPV/r enthielten, wurden zunächst aufgetaut und auf dem Vortex-Mixer geschüttelt, bevor je 500 µl des Plasmas mit 500 µl Natriumcarbonatpuffer pH 9,4 und 25 µl einer Standardlösung der Firma Abbott gemischt wurde. Dann wurde zweimal mit 3 ml Diethylether extrahiert. Hierzu wurde erst 3 ml Diethylether zugegeben, anschließend das Röhrchen durch 5-minütiges Schütteln durchmischt und darauffolgend für 5 Minuten bei 20° C und 4.500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Nach der Phasenauftrennung wurde die organische Phase abgetragen und bei 40° C im N₂-Strom verdampft. Nach dem zweiten Extraktionsvorgang wurde der Extrakt der Proben in 220 µl 1: 20 mmol KH₂PO₄: ACN: MeOH (1: 0,5: 0,5 pH 4,9) aufgelöst, für 5 Minuten mit 1 ml n-Hexan gewaschen und für 10 Minuten bei 4.500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Das n-Hexan wurde anschließend dekantiert und verworfen. Daraufhin erfolgte die Analyse durch das HPLC-System, das je 20 µl der Probe mittels des Probengebers der Firma Techlab GmbH und der Pumpe der Firma Beckman durch die Kieselgelsäule bei einer Temperatur von 25° C hindurch pumpte. Der Beckman 168 PDA Detektor analysierte je zweimal, bei einer Wellenlänge von 220 nm und 254 nm. Durch die analytische Software 32 Karat (Beckman) wurde das Chromatogramm, wie beispielhaft in

Abbildung 2 abgebildet, erstellt.³⁰ Alle verwendeten Chemikalien wurden von Merck (Darmstadt) oder von Sigma Aldrich Chemie GmbH (Steinheim) bezogen.

Das Procedere für die EFV-Messung ist ähnlich dem der dargestellten LPV-Messung. Die Methode wurde in der Veröffentlichung von LANGMANN ET AL³⁰ beschrieben.

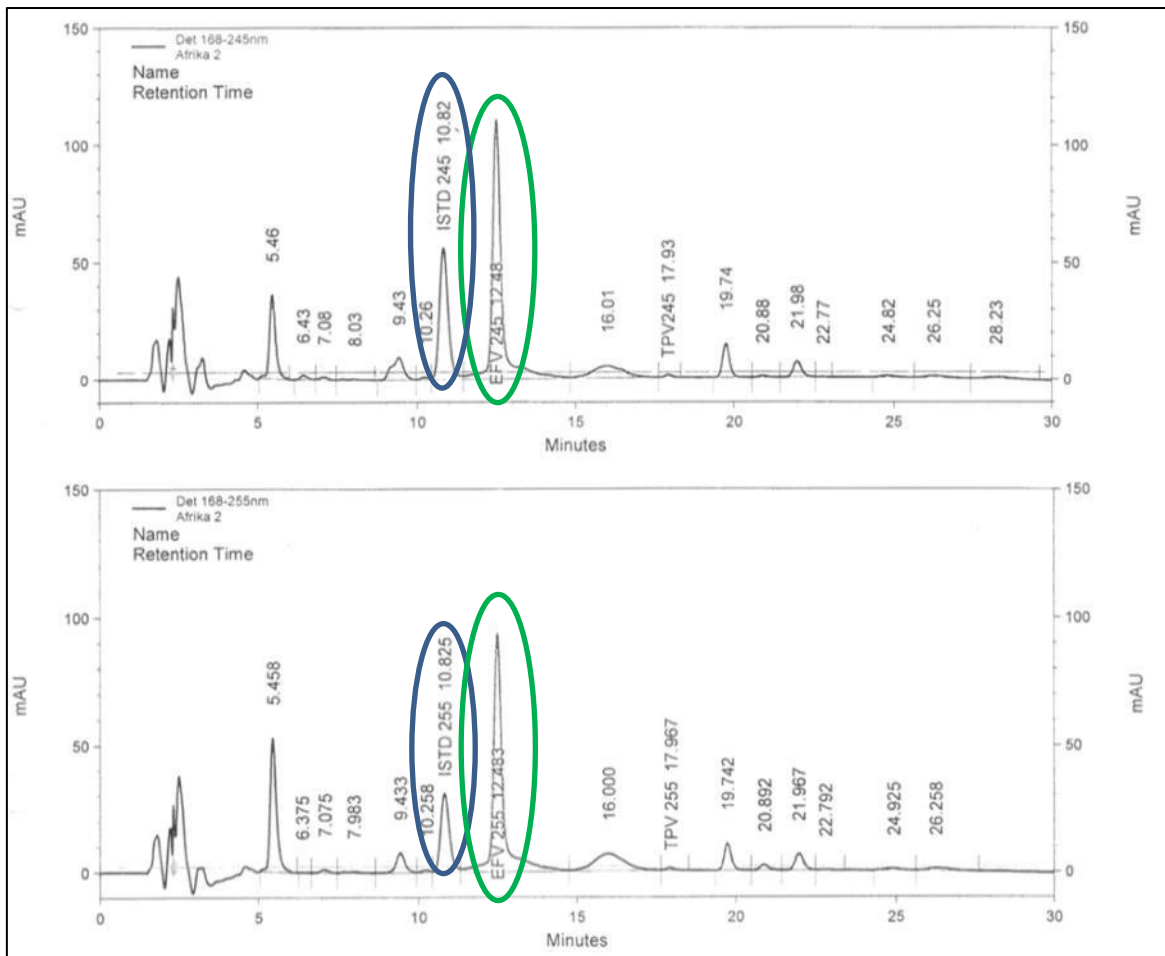


Abbildung 2: Chromatogramm einer Efavirenz-Serumanalyse mittels High-performance liquid chromatography (HPLC)
ISTD= interner Standard
EFV= Efavirenz

3.3 Auswertung

Die Ergebnisse werden mit Mittelwert±Standardabweichung (SD) und Ergebnisbereich in Klammern dargestellt.

3.3.1 Lopinavir

Für LPV liegen verschiedene Empfehlungen für anzustrebende Serumkonzentrationen vor. Diese Arbeit orientiert sich in der Auswertung der LPV-Serumkonzentrationen an den veröffentlichten C_{\min} Werten als Richtwert für angemessene Serumkonzentrationen. Um von adäquater Wirkstoffexposition ausgehen zu können, sollten die Serumkonzentrationen im 12-Stundenintervall nach LPV-Einnahme nicht unterhalb der publizierten C_{\min} -Werte liegen. Der C_{\min} Wert beträgt 5.500 ng/ml.^{31,32}

Bei der Messung der Lopinavir-Serumkonzentrationen war 20.000 ng/ml die obere Quantifizierungsgrenze (ULQ = upper limit of quantification) und 150 ng/ml die untere Quantifizierungsgrenze (LLQ = lower limit of quantification). Als Nachweisgrenze (LOD = limit of detection) galt eine Signal-to-noise ratio von größer als 3:1. Die Ergebnisse der Proben unterhalb der Nachweisgrenze wurden mit nicht nachweisbar (n.n.) angegeben.

3.3.2 Efavirenz

Als therapeutischer Bereich für EFV Serumkonzentrationen werden Werte zwischen 1.000 und 4.000 ng/ml angesehen.^{33,34} In Abbildung 3 ist der therapeutische Bereich wie in der Arbeit von MARZOLINI ET AL³⁴ empfohlen graphisch dargestellt. Oberhalb des therapeutischen Bereichs treten vermehrt zentralnervöse Nebenwirkungen und unterhalb sinkt die Wahrscheinlichkeit für sichere Suppression der Virusreplikation.

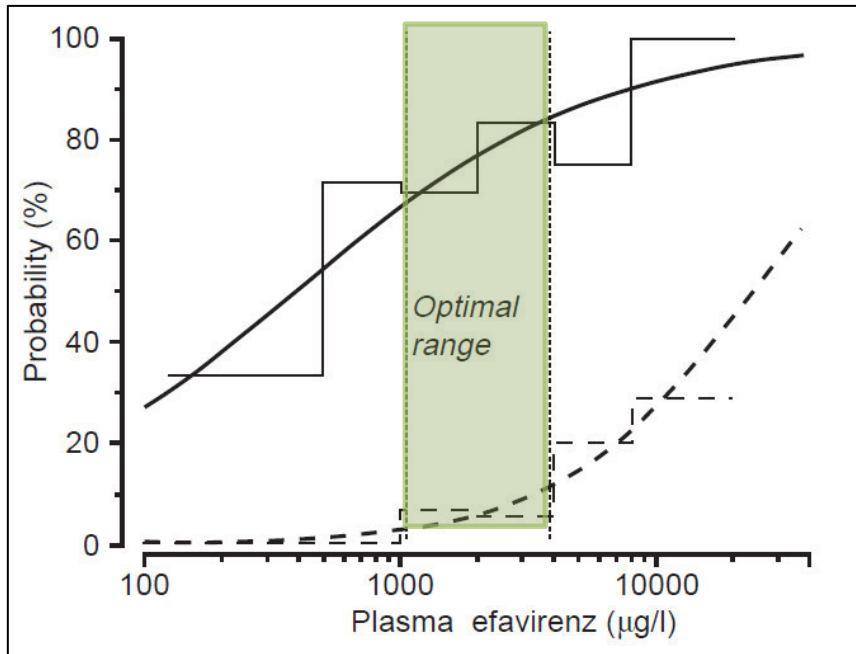


Abbildung 3: Efavirenzkonzentration und die Wahrscheinlichkeit der viralen Suppression sowie des Auftretens von zentralnervösen Nebenwirkungen
 ——— Wahrscheinlichkeit für Suppression des Virus bei entsprechender EFV-Konzentration
 - - - - - Wahrscheinlichkeit für zentralnervöse Nebenwirkungen bei entsprechender EFV-Konzentration
 Grün: „Optimal range“ entspricht den Empfehlungen für den therapeutischen Bereich von EFV, 1.000-4.000 ng/ml
 (Abbildung modifiziert nach MARZOLINI ET AL³⁴)

Die obere Quantifizierungsgrenze betrug bei Efavirenz 15.000 ng/ml und die untere Quantifizierungsgrenze 125 ng/ml. Als Nachweisgrenze galt ebenso wie bei Lopinavir eine Signal-to-noise ratio von > 3:1.

3.4 Statistik

Die Auswertung und graphische Darstellung der erhobenen Daten erfolgte mit Hilfe von Microsoft Word und Excel 2007 und 2010 und SPSS. Bei der Darstellung der Ergebnisse werden jeweils der Mittelwert \pm die Standardabweichung angegeben. In Klammern wird anschließend der Ergebnisbereich genannt. Die statistische Auswertung wurde mithilfe des Programms SPSS von der Firma IBM vorgenommen.

Bei dem Vergleich der mittleren Serumkonzentrationen zwischen verschiedenen Gruppen wurde eine deskriptive Analyse durchgeführt. Es folgte die Prüfung, ob eine Normalverteilung vorlag. Bei Normalverteilung wurde zum Errechnen der Signifikanz der t-Test verwendet. Lag keine Normalverteilung vor, wurde der Mann-Whitney-U-Test angewandt.

Bei zwei nominalen Merkmalen wurde die Methode der Kreuztabelle mit Chi-Quadrat-Test oder Fishers Exakter Test bei einer Vierfeldertafel angewendet. Die Teststatistik wurde mit z angegeben. Ein Ergebnis wurde als signifikant angesehen, wenn der p -Wert kleiner 0,05 war. Hierbei steht p für die asymptotische Signifikanz. Bei dem Chi-Quadrat-Test werden die Freiheitsgrade mit df angegeben.

4 Ergebnisse

4.1 Patientendemographie

Im Tygerberg Hospital wurden von März bis August 2010 konsekutiv Patienten in die Untersuchung aufgenommen. 53 HIV-positive Kinder, die antiretrovirale Medikamente einnahmen, nahmen an der Untersuchung teil. 29 pädiatrische Patienten bekamen eine PI-basierte antiretrovirale Therapie mit geboostertem Lopinavir. 24 Kinder nahmen im Zuge einer NNRTI-basierten ART Efavirenz ein.

		Patienten mit LPV n= 29	Patienten mit EFV n= 24
Alter (Jahre)	Mittelwert	2,2	9,3
	Median	1,9	9,3
	SD	1,8	3,1
	Bereich	0,2 – 7,1	3,7 – 15,9
weiblich (%)		58,6	41,7
WHO-Stadium der HIV-Infektion	1	1	1
	2	2	0
	3	10	11
	4	14	12
	Fehlende Angabe	2	0
Dauer der ART (Monate)	Mittelwert	48	43
	Median	48	12
	SD	17,4	59
	Bereich	0,1 – 74,3	0,3 – 111
CD4- positive T-Zellen (Zellen/ μ l)	Mittelwert	1.208	840,8 (n=23)
	Median	1.213	734 (n=23)
	SD	633,7	569,4 (n=23)
	Bereich	96 – 2.957	2–1.619 (n=23)
CD4-positive T-Zellen (%)	Mittelwert	26	34,6 (n=23)
	Median	27,8	34,6 (n=23)
	SD	10,5	0,8 (n=23)
	Bereich	9,6 – 44,4	3,2 - 72 (n=23)

Tabelle 2: Demographische Daten von 53 HIV-infizierten Kindern unter antiretroviraler Therapie in der HIV-Tagesklinik und der infektiologischen Kinderstation des Tygerberg Hospitals in Kapstadt, Südafrika (03/2010 – 08/2010)

Das Alter der untersuchten Patienten variierte, wie in Tabelle 2 dargestellt, zwischen 0,2 und 15,8 Jahren. In der Gruppe der LPV-Patienten war der Altersdurchschnitt $2,2 \pm 1,8$ Jahre. Der Altersdurchschnitt der EFV-Patienten betrug $9,3 \pm 3,1$ Jahre. Insgesamt nahmen 27 Mädchen und 26 Jungen an der Erhebung teil.

4.1.1 HIV-Stadien nach WHO

Bei 39 % der Patienten war das höchste je erreichte HIV Stadium nach der Einteilung der World Health Organization (WHO) Stadium III, bei 51 % Stadium IV. In WHO Stadium I und II waren nur je 3 % der Patienten, bei 4 % fehlte die Information über das Stadium.

4.1.2 Viruslast

Die Messungen der Viruslast zeigten bei 21 Kindern (40 %) Werte über 400 Kopien/ml. Bei 27 Kindern (51 %) war die Viruslast zum Zeitpunkt der Blutentnahme dieser Erhebung unter der Nachweisgrenze. Bei 3 Kindern wurden 150 ± 109 (29-240) Viruskopien/ml gemessen, bei 2 Kindern war keine Messung der Viruslast durchgeführt oder dokumentiert worden.

4.1.3 Therapieadhärenz

Bei 13 von 53 Patienten wurde von den Eltern oder anderen Erziehungsberechtigten im Interview im Zuge der Patientenrekrutierung angegeben, dass in den letzten sieben Tagen an $2,2 \pm 1,1$ (1-4) Einnahmezeitpunkten das Medikament dem Kind nicht verabreicht wurde.

Zur Toxizität liegen keine Daten vor. Von den untersuchten Patienten und deren Erziehungsberechtigten wurden keine Nebenwirkungen beschrieben.

4.1.4 Komorbiditäten

Relevante Komorbiditäten bei den untersuchten HIV-positiven Kindern waren folgende: Gastroenteritis (n=10), Tuberkulose (n=6), Infektionen der oberen Atemwege (n=6), Pneumonie (n=5), Candidose (n=3), CMV-Enzephalopathie (n=2), Nierenversagen (n=2), Abzess am Os sacrum (n=1), Hepatitis B Infektion (n=1), ein juckender papulöser Ausschlag (n=1), Tinea corporis (n=1) und Harnwegsinfektion (n=1).

4.2 Lopinavir Serumkonzentrationen

Die Konzentration von Lopinavir (LPV) wurde in 31 Serumproben von 29 Patienten bestimmt. Es handelte sich um 17 Mädchen und 12 Jungen. Bei zwei Patienten war zu einem späteren Zeitpunkt eine wiederholte Blutprobe verfügbar. Der Body-Mass-Index (BMI) der Patienten lag bei $16,4 \pm 2,9 \text{ kg/m}^2$ ($n=26$). 17 von 29 Kindern waren zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Studie jünger als 2 Jahre.

Die tägliche LPV Dosis, als Sirup mit dem Handelsnamen Kaletra® verabreicht, betrug im Mittel 295 ± 63 (160-400) mg/Tag ($n=26$). Die Tagesgesamtdosis wurde in zwei Einzeldosen je morgens und abends verabreicht. Eine Einzeldosis betrug $147,5 \pm 31,5$ (80-200) mg. Dies entspricht $324,3 \pm 60,1$ (259,3-502,8) mg/m^2 ($n=26$) zweimal täglich. LPV wurde zusammen mit Ritonavir (RTV) in der Dosierung von $80,75 \pm 13 \text{ mg/m}^2$ ($n=26$) zweimal täglich verabreicht. Alle Patienten, die eine gleichzeitige Rifampicin-haltige tuberkulostatische Therapie einnahmen ($n=3$), bekamen einen zusätzlichen Booster mit $1,1 \pm 0,1 \text{ ml RTV-Sirup}$, entsprechend $88 \pm 8 \text{ mg Ritonavir}$, zweimal täglich.

Die Zeit zwischen der letzten eingenommenen LPV-Dosis und der Blutentnahme schwankte zwischen 50 Minuten und 28,4 Stunden. In die Analyse eingeschlossen wurden die Patienten mit LPV Serumspiegeln, die im 12-Stundenintervall nach der Einnahme von LPV gewonnen wurden ($n=25$). Dementsprechend wurden die Proben von 4 Patienten aus der folgenden Auswertung ausgeschlossen, da diese zwischen 16,7 Stunden und 24,8 Stunden nach Medikamenteneinnahme gewonnen wurden. In der analysierten Gruppe schwankte die Zeit zwischen letzter eingenommenen LPV Dosis und Blutentnahme zwischen 0,83 und 8,83 Stunden.

Von jedem Patienten wurde nur eine Messung der Serumkonzentration in die Analyse integriert. Die Wiederholung der LPV-Konzentrationsmessung der Patienten K31 (1,8 Std nach LPV-Einnahme) und K38 (28,4 Stunden nach LPV-Einnahme) wurden nicht in die Analyse integriert und in der folgenden Abbildung nicht dargestellt.

Die LPV-Serumkonzentrationen variierten deutlich, wie in Abbildung 4 zu sehen ist. Es gab Proben, in denen kein Lopinavir nachzuweisen war, d.h. Lopinavir unterhalb der Nachweisgrenze lag. In die Auswertung der Ergebnisse gingen die Proben ohne Nachweis von Lopinavir, mit n.n. bezeichnet, mit 0 ng/ml ein. Die größte gemessene

Konzentration betrug 24.629 ng/ml. Die mittlere Konzentration war 9.216 ± 5.839 ng/ml. Die Verteilung der LPV-Serumkonzentrationen folgte der Normalverteilung.

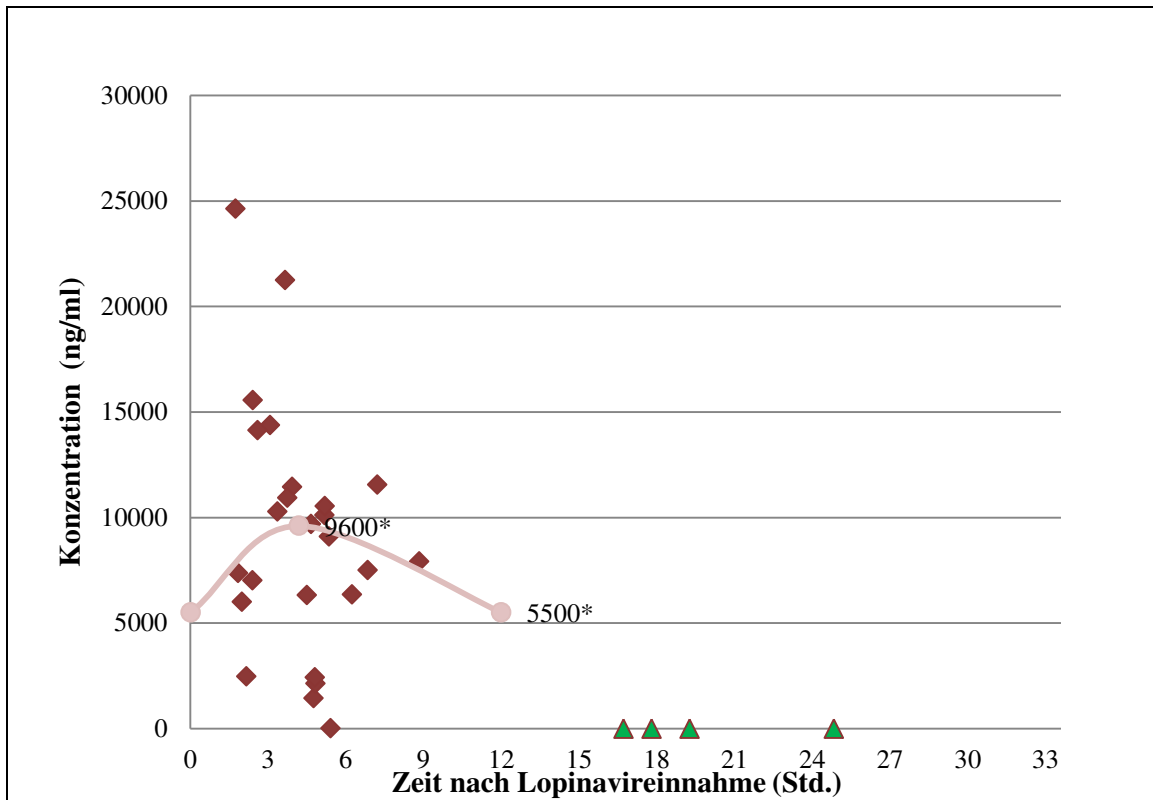


Abbildung 4: Lopinavir-Serumkonzentrationen HIV-infizierter Kinder unter antiretroviraler Therapie zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der letzten LPV-Dosis (n=29)

* $C_{max} = 9.600$ ng/ml, $C_{min} = 5.500$ ng/ml, $T_{max} = 4,2$ Std

♦ = in die Analyse eingeschlossen; ▲ = von der Analyse ausgeschlossen

Die pharmakokinetischen Daten (C_{max} , C_{min} und T_{max}) von Lopinavir wurden zum Vergleich in die Abbildung integriert; publiziert von HURST ET AL 2000³² und MURPHY ET AL 2001³³

4.2.1 Geschlecht und LPV-Serumkonzentrationen

Von den Patienten der 25 analysierten Serumkonzentrationen waren 11 Patienten männlich und 14 Patienten weiblich. Es zeigte sich, wie in Abbildung 5 dargestellt, mit 8.641 ± 4.431 (2.122-15.558) ng/ml bei männlichen und 9.669 ± 6.880 (n.n.-24.629) ng/ml bei weiblichen Patienten kein signifikanter Unterschied zwischen den erreichten Serumkonzentrationen ($p = 0,672$). Der Anteil der Patienten, die LPV-Serumkonzentrationen $< C_{min}$ erreichten, unterschied sich, wie in Tabelle 3 abzulesen ist, zwischen Jungen und Mädchen nicht signifikant ($p = 1,0$).

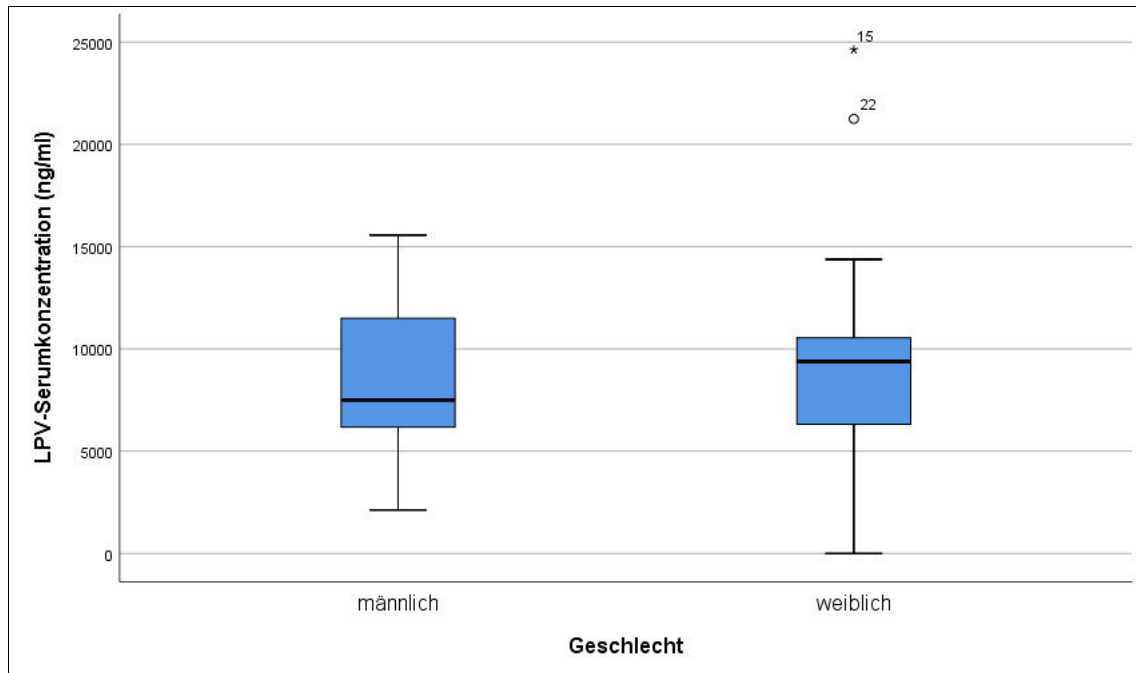


Abbildung 5: mittlere LPV-Serumkonzentrationen bei männlichen (n=11) und weiblichen (n=14) HIV-Patienten
Hochgestellte Zahlen: Patientennummer in der statistischen Auswertung der LPV-Konzentrationen

	Männliche Patienten n=11	Weibliche Patienten n=14
Mittelwert	8.641 ng/ml	9.669 ng/ml
Median	7.501 ng/ml	9.385 ng/ml
Standardabweichung	4.431 ng/ml	6.880 ng/ml
Ergebnisbereich	n.n. – 15.558 ng/ml	n.n. – 24.629 ng/ml
Serumkonzentration <C_{min}	2 Patienten (18 %)	3 Patienten (21 %)
Serumkonzentration >C_{min}	9 Patienten (82 %)	11 Patienten (79 %)

Tabelle 3: Lopinavir-Serumkonzentrationen (n=25) männlicher und weiblicher Patienten im Vergleich.
n.n. = nicht nachweisbar

4.2.2 WHO-Stadium und LPV-Serumkonzentrationen

Bei Kindern (n=2) mit WHO Stadium II waren die Serumkonzentrationen der beiden Patienten größer als C_{\min} mit Serumspiegeln von 15.558 und 24.629 ng/ml. Auch der Patient im klinischen WHO Stadium I und zwei Patienten mit fehlender Stadienzuordnung zeigten Serumkonzentrationen $>C_{\min}$. In WHO Stadium III befanden sich 9 Kinder, zwei (22%) zeigten Serumkonzentrationen kleiner als C_{\min} . Im Mittel lagen die Konzentrationen bei 9.566 ± 5.979 (2.122–21.246) ng/ml. Kinder im klinischen WHO Stadium IV zeigten niedrigere Serumkonzentrationen mit 6.817 ± 4.273 (n.n.–14.376) ng/ml und 3 der 11 Kinder (27 %) zeigten Konzentrationen $<C_{\min}$.

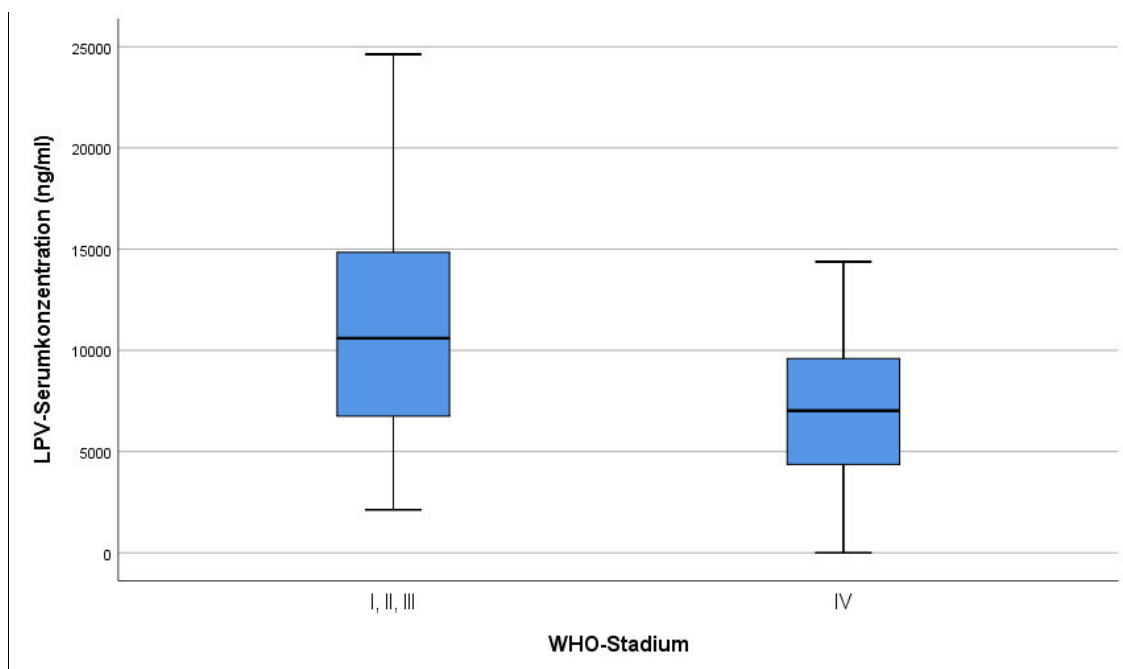


Abbildung 6: mittlere LPV-Serumkonzentrationen bei HIV-Patienten in WHO-Stadium I-III (n=12) und IV (n=11)

Für die statistische Prüfung wurden die Patienten der Stadien I, II und III zusammengefasst und mit den Kindern mit WHO Stadium IV verglichen. Hier zeigte sich für Kinder mit WHO-Stadien I, II, III zusammen eine mittlere Serumkonzentration von 11.331 ± 6.819 (2.122–24.629) ng/ml (siehe Abbildung 6). Es lag eine Normalverteilung vor. Für die statistische Testung wurde der T-Test verwendet. Der Unterschied der mittleren Serumkonzentrationen mit 6.817 ± 4.273 ng/ml bei Kindern in WHO-Stadium IV und 11.331 ± 6.819 ng/ml bei Kindern mit den Stadien I, II, III war

nicht signifikant ($p=0,074$), ein Trend konnte gesehen werden. Auch für den Anteil der Kinder mit Serumkonzentrationen $<C_{\min}$ zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen Kindern in WHO Stadium I, II, III verglichen mit Kinder in Stadium IV ($p=0,64$).

4.2.3 Dauer der ART und LPV-Serumkonzentrationen

Bei Patienten ($n=10$), die schon länger als 12 Monate eine ART mit LPV einnahmen, war die mittlere Serumkonzentration 9.252 ± 6.029 (n.n.-21.246) ng/ml. Wie Abbildung 7 zeigt waren zwei Messungen kleiner als C_{\min} und 8 größer als C_{\min} . Ähnlich hoch waren die Spiegel und Verteilung bei den Patienten, die kürzer als 12 Monate eine LPV-haltige ART einnahmen. Sie zeigten Spiegel von 9.193 ± 5.922 (2.122-24.629) ng/ml. Hier zeigten 3 von 15 Patienten Spiegel $<C_{\min}$ und 12 $>C_{\min}$. (Abbildung 7) Es lag eine Normalverteilung vor. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied bei der mittleren Serumkonzentration zwischen den zwei Gruppen ($p=0,981$). Auch bei dem Anteil der Serumkonzentrationen $<C_{\min}$ konnte mithilfe der Kreuztabelle und dem exakten Test nach Fisher kein signifikanter Unterschied in den zwei Gruppen gesehen werden ($p=1,0$).

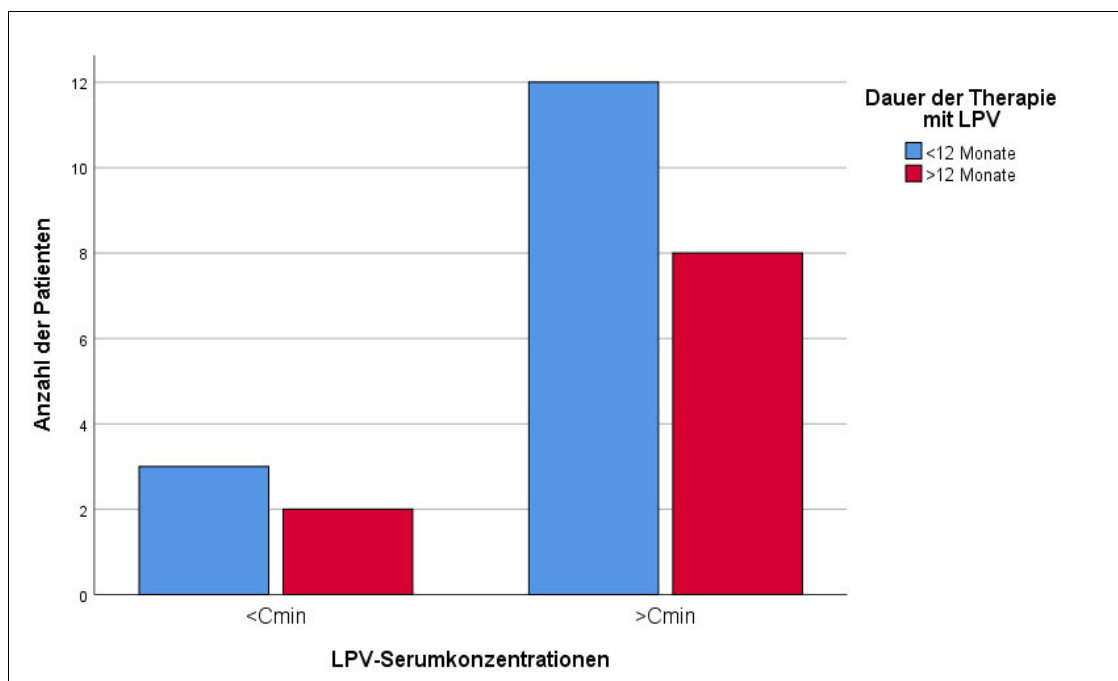


Abbildung 7: Anzahl der Patienten mit LPV-Serumkonzentrationen $<C_{\min}$ und $>C_{\min}$
blau: <12 Monate unter LPV-haltiger ART
rot: >12 Monate unter LPV-haltiger ART

4.2.4 CD4-Lymphozyten und LPV-Serumkonzentrationen

Bei 22 Patienten (88 %) war die Anzahl der CD-Lymphozyten größer als 350 / μ l. Von diesen Patienten zeigten 17 Serumkonzentrationen $>C_{\min}$. Der Mittelwert war 8.469 ± 5.170 (n.n.-21.246) ng/ml. Ein Patient hatte <200 CD4-Lymphozyten/ μ l, zwei Patienten hatten zwischen 200 und 350 CD4-Lymphozyten/ μ l. Diese drei Patienten zeigten zusammengefasst mit 14.695 ± 8.793 (7.910-24.629) ng/ml alle LPV-Serumkonzentrationen $>C_{\min}$. Der Unterschied der mittleren Serumkonzentrationen war zwischen Patienten mit >350 CD4-Lymphozyten/ μ l und Patienten mit <350 CD4-Lymphozyten/ μ l (siehe Abbildung 8) bei Normalverteilung nicht signifikant ($p=0,083$). Es gab keinen signifikanten Unterschied bei dem Anteil der erreichten LPV-Serumkonzentrationen $<C_{\min}$ zwischen den beiden Gruppen ($p=1,0$).

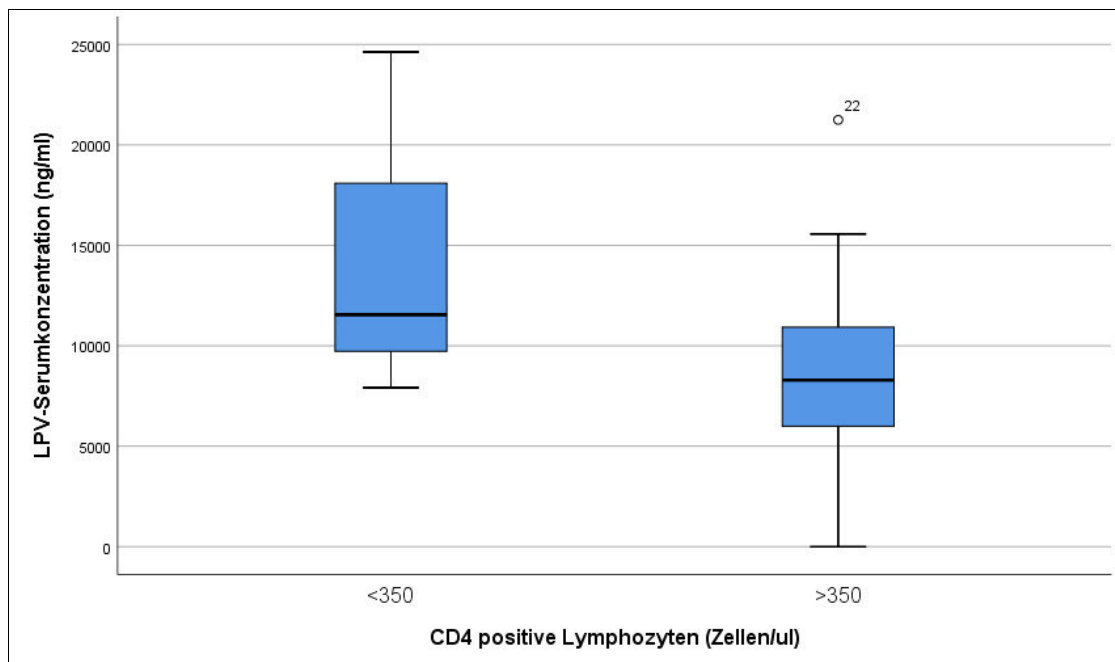


Abbildung 8: Vergleich der mittleren LPV-Serumkonzentrationen bei Patienten mit <350 CD4-Lymphozyten/ μ l (n=3) und Patienten mit >350 CD4-Lymphozyten/ μ l (n=22)
Hochgestellte Zahlen: Patientennummer in der statistischen Auswertung der LPV-Konzentrationen

4.2.5 Viruslast und LPV-Serumkonzentrationen

Von 13 Patienten, die zum Zeitpunkt der Blutentnahme für die vorliegende Erhebung eine nachweisbare HI-Viruslast >50 Kopien/ml hatten, waren die LPV-Serumkonzentrationen 8.309 ± 6.491 (n.n.-24.629) ng/ml. Die Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Erhebung die Viruslast unter der Nachweisgrenze (lower than detectable level (LDL)) lag (n=12), zeigten mit 10.199 ± 5.137 (2.122-21.246) ng/ml im Mittel etwas höhere LPV-Serumkonzentrationen (siehe Abbildung 9). Es lag eine Normalverteilung vor. Der Unterschied der mittleren Serumkonzentrationen ist nicht signifikant ($p=0,43$).

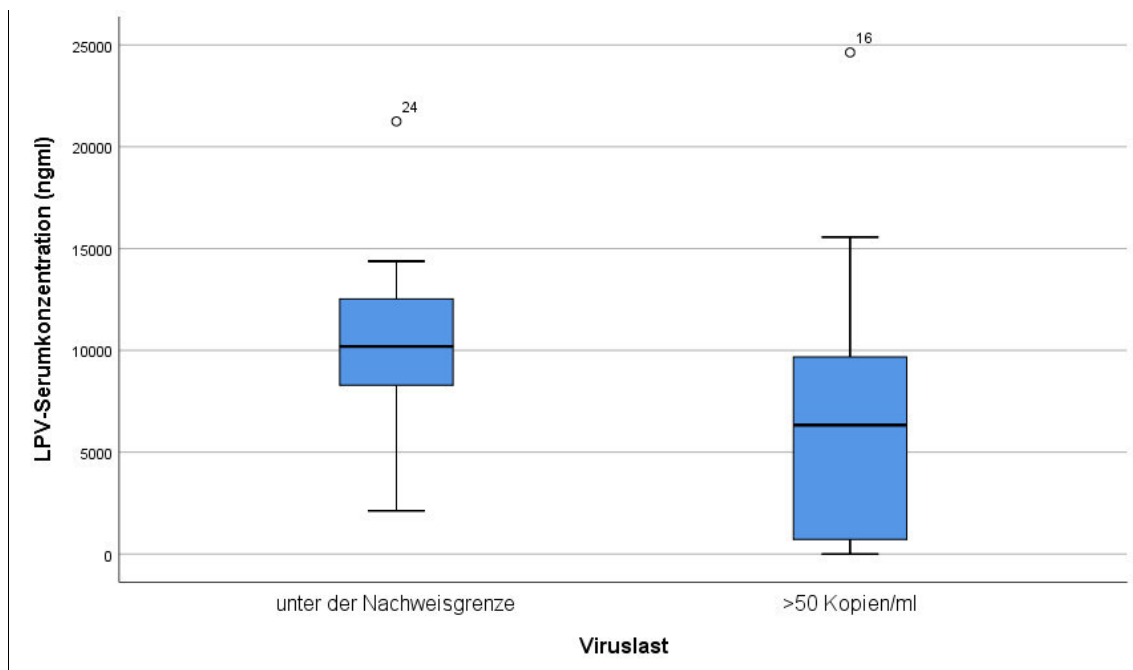
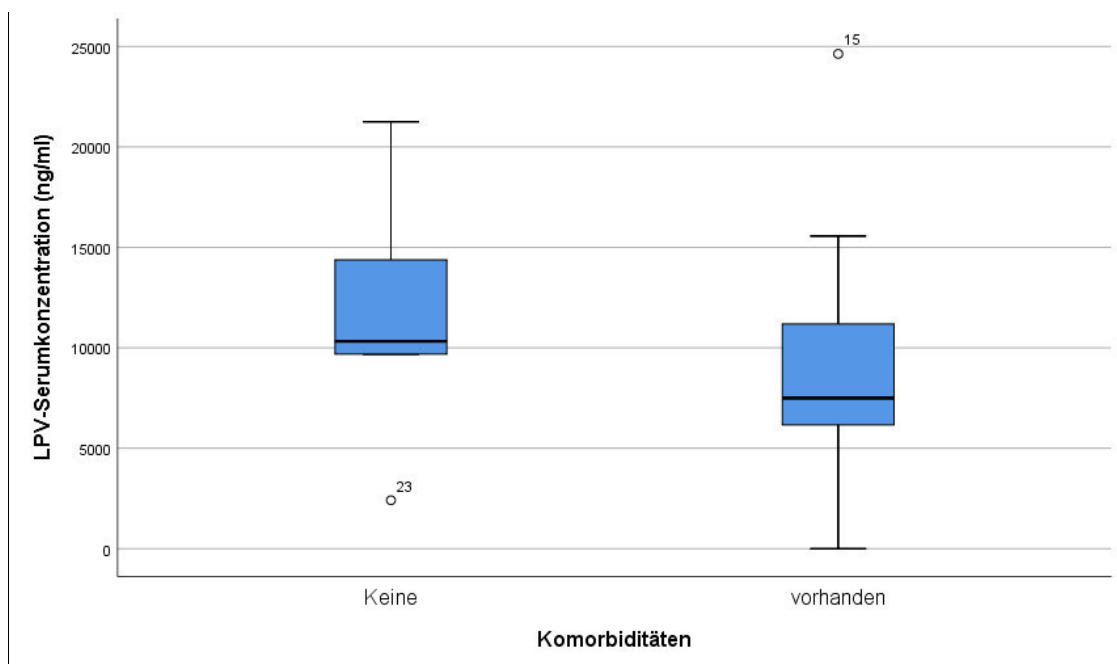


Abbildung 9: Vergleich der mittleren LPV-Serumkonzentrationen bei HIV-Patienten mit Viruslast unter der Nachweisgrenze (n=12) und Patienten mit messbarer Viruslast (n=13)
Hochgestellte Zahlen: Patientenummer in der statistischen Auswertung der LPV-Konzentrationen

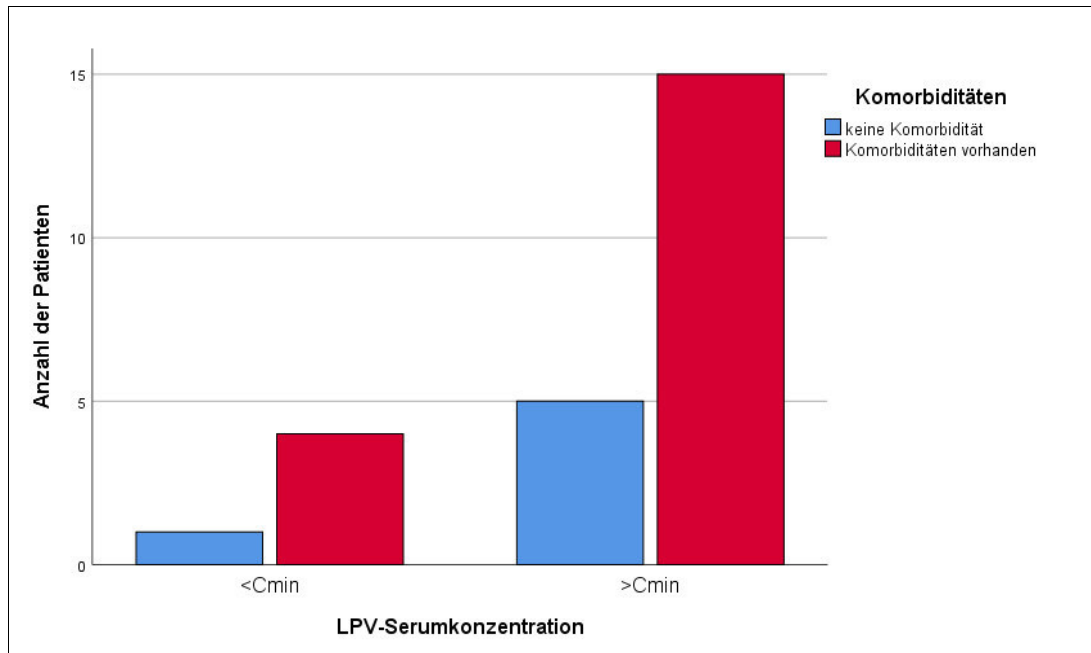
Bei den Patienten mit Viruslast unter der Nachweisgrenze zeigten 2 Patienten Serumkonzentrationen $<C_{\min}$ und 10 Patienten $>C_{\min}$. Auch bei den Patienten, wo HI-Viren im Blut zu messen waren, wurden bei 10 von 13 Patienten Serumkonzentrationen $>C_{\min}$ gemessen und bei 3 $<C_{\min}$. Es lag kein signifikanter Unterschied vor ($p=1,0$).

4.2.6 Komorbiditäten bei LPV- Patienten

Bei 6 Patienten ohne Komorbiditäten zeigte nur ein Patient eine LPV-Serumkonzentration kleiner als C_{\min} und die Werte waren im Mittel bei 11.393 ± 6.197 (2.410-21.246) ng/ml. Von 19 Patienten mit Komorbiditäten hatten 4 (21%) Serumkonzentrationen niedriger als C_{\min} und der Mittelwert betrug 8.529 ± 5.719 (n.n.-24.629) ng/ml. Der Unterschied der mittleren Serumkonzentrationen, in Abbildung 10 dargestellt, war zwischen Patienten mit und ohne Komorbiditäten nicht signifikant ($p=0,305$). Auch der Anteil der Messungen mit $LPV < C_{\min}$ (siehe Abbildung 11) unterschied sich zwischen den zwei Gruppen nicht signifikant ($p=1,0$).



**Abbildung 10: Vergleich der mittleren LPV-Serumkonzentrationen bei HIV-Patienten mit (n=19) und ohne Komorbiditäten (n=6)
Hochgestellte Zahlen: Patientennummer in der statistischen Auswertung der LPV-Konzentrationen**

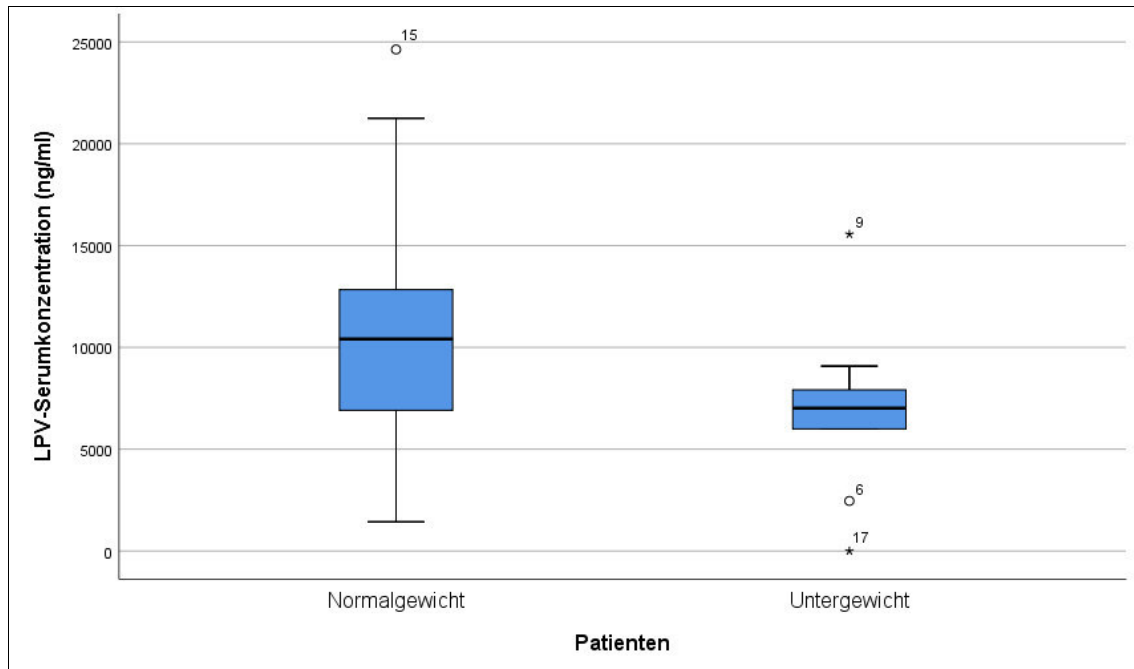


**Abbildung 11: Anzahl der Patienten mit LPV-Serumkonzentrationen <Cmin und >Cmin
blau: ohne Komorbiditäten
rot: mit Komorbiditäten**

Es litten insgesamt 10 von 29 Patienten (34%) in den letzten 6 Tagen vor Blutentnahme an Symptomen einer Gastroenteritis wie Durchfall oder Erbrechen. Bei ihnen zeigten 3 von 10 Patienten LPV-Spiegel <C_{min}. Bei Kindern ohne gastroenteritische Symptome zeigten 2 von 15 Kinder Serumkonzentrationen <C_{min}. Der Unterschied war nicht signifikant (p=0,358). Die durchschnittlichen Serumkonzentrationen waren bei Kindern mit gastroenteritischen Symptomen am niedrigsten mit 7.906±5.086 (1.432-15.558) ng/ml. Der Unterschied der mittleren Serumkonzentrationen war jedoch zwischen Kindern mit und ohne Gastroenteritis nicht signifikant (p=0,371).

4.2.7 Untergewicht und LPV-Serumkonzentrationen

Von 9 Kindern, die ein Körpergewicht unter der dritten Altersperzentile hatten und somit als untergewichtig galten, zeigten 2 Kinder Serumkonzentrationen <C_{min}. Die Serumkonzentrationen der untergewichtigen Kinder waren, wie in Abbildung 12 dargestellt, mit 6.859±4.322 (n.n.-15.558) ng/ml insgesamt niedriger als die LPV-Serumkonzentrationen der Kinder mit Normalgewicht (n=16). Diese zeigten Serumkonzentrationen von 10.542±6.275 (1.432-24.629) ng/ml. Es lag eine Normalverteilung vor. Der Unterschied war nicht signifikant (p=0,133).



**Abbildung 12: Vergleich der mittleren LPV-Serumkonzentrationen bei HIV-Patienten mit (n=9) und ohne Untergewicht (n=16)
Hochgestellte Zahlen: Patientennummer in der statistischen Auswertung der LPV-Konzentrationen**

Bei den normalgewichtigen Kindern waren die Serumspiegel von 3 Patienten kleiner als C_{\min} . Das Ergebnis zeigte bei kleinen Fallzahlen keinen signifikanten Unterschied bei dem Anteil der Serumkonzentrationen $<C_{\min}$ zwischen Kindern mit und ohne Untergewicht ($p=1,0$).

4.2.8 Therapieadhärenz und LPV-Serumkonzentrationen

Aufgrund von mangelnder Therapieadhärenz wurden 4 von 29 Patienten, die eine LPV-haltige ART einnahmen, aus der Analyse dieser Arbeit ausgeschlossen, weil sie zu dem Zeitpunkt der Blutentnahme seit mehr als 12 Stunden kein LPV mehr eingenommen hatten. Die Zeitintervalle zwischen letzter LPV-Einnahme und Blutentnahme betragen: 16 Stunden 43 Minuten, 17 Stunden 48 Minuten, 19 Stunden 16 Minuten und 24 Stunden 50 Minuten. In keiner der Serumproben dieser vier Patienten konnte LVP nachgewiesen werden. Sieben weitere Patienten gaben an, sie hätten in den letzten 7 Tagen einzelne Medikamenteneinnahmen versäumt. Bei ihnen konnten Serumkonzentrationen in Höhe von 11.685 ± 7.374 (2.122-24.629) ng/ml gemessen werden. Einer von ihnen zeigte eine LPV-Serumkonzentration $<C_{\min}$, 6 $>C_{\min}$. Bei den

18 Patienten, die in den letzten 7 Tagen eine lückenlose Medikamenteneinnahme angaben, zeigten 4 (22 %) Patienten Serumkonzentrationen $<C_{\min}$. Es stellten sich Serumkonzentrationen von 8.256 ± 5.045 (n.n.-21.246) ng/ml ein (Abbildung 13). Weder bei der Höhe der mittleren Serumkonzentrationen ($p=0,193$) noch beim Anteil der Serumkonzentrationen $<C_{\min}$ ($p=1,0$) zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den zwei Gruppen.

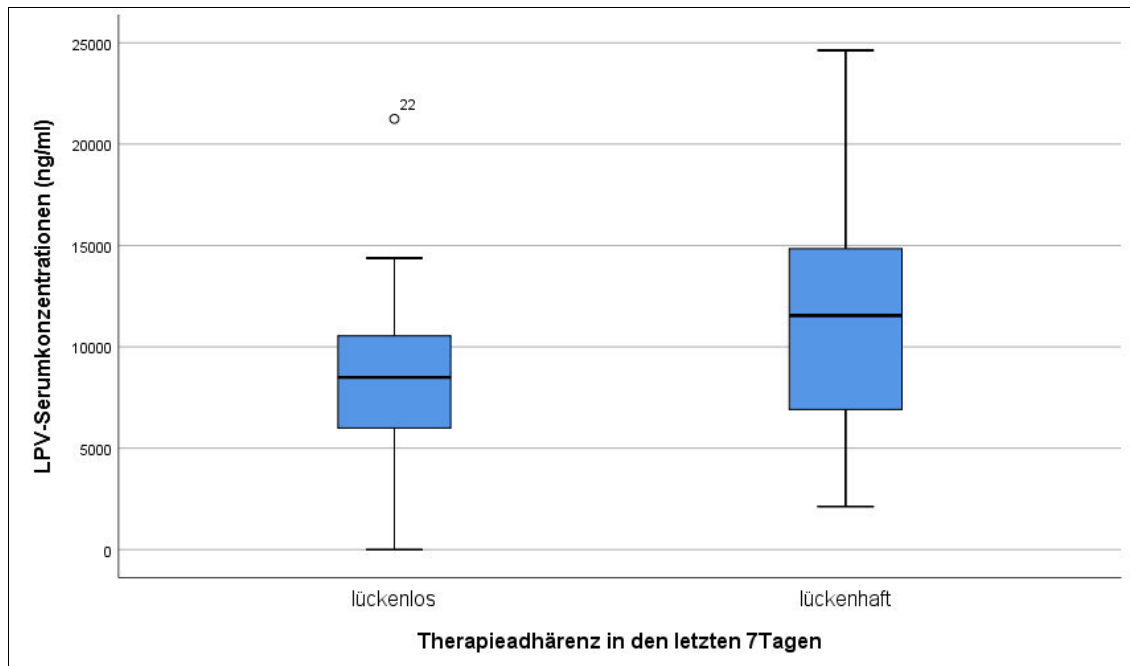


Abbildung 13: Vergleich der mittleren LPV-Serumkonzentrationen bei HIV-Patienten, die eine lückenlose (n=18) oder eine lückenhafte (n=7) Therapieadhärenz in den letzten 7 Tagen vor der Blutentnahme angaben
Hochgestellte Zahl: Patientennummer in der statistischen Auswertung der LPV-Konzentrationen

4.2.9 Kasuistik: Säugling (K05) unter Lopinavir-haltiger Therapie

Für eine Fallvorstellung aus der Gruppe der Patienten unter Lopinavir-haltiger ART wurde ein Säugling ausgewählt, der zum Zeitpunkt der Erhebung kritisch krank war und sich auf der Intensivstation befand. Zwei Tage, nachdem er in diese Erhebung aufgenommen wurde, starb der Patient. Es kann anhand des Falls eine Multikausalität der Krankheitslast und die vielseitigen Herausforderungen an eine medizinische Therapie beispielhaft aufgezeigt werden.

Der 12 Monate alte männliche Säugling war 60 cm groß und 6,35 kg schwer. Der BMI lag bei 17,6 kg/m². Die HIV-Diagnose im WHO Stadium III wurde in den ersten Lebensmonaten gestellt. Bei diesem Patienten wurde am 30.04.2010 um 10.10 Uhr, 2 Stunden und 10 Minuten nach letzter LPV-Einnahme, ein LPV-Serumspiegel von 2.456 ng/ml gemessen.

Zum Zeitpunkt der Erhebung am 30.4.2010 litt der Säugling an chronischer Gastroenteritis, Nierenversagen und Harnwegsinfektion mit Nachweis von Klebsiellen. Es bestand der Verdacht auf eine pulmonale Tuberkulose. Er war anämisch und hatte eine Kardiomegalie. Einen Monat zuvor hatte er eine Bluttransfusion erhalten. Es war dokumentiert, dass der Patient des Öfteren dehydriert gewesen war.

In der Tabelle 4 ist die aktuelle Medikamentenliste vom 30.4.2010 dargestellt.

Medikament	Einnahmeform	Dosierung	Start der Einnahme	Ende der Einnahme	Andauernde Einnahme
Abacavir	Oral	2 x 3 ml	29.4.2010		X
Acetic acid Tropfen	Ohren		01.4.2010		X
AmoxiClav*	Oral	125 mg	23.4.2010	29.04.2010	
Cotrimoxazol	Oral	4 x 30 mg	29.4.2010		X
Ertapenem	i.v.	130 mg	24.4.2010		X
Folsäure	Oral	5 mg/Tag	März 2010		X
Isoniazid	Oral	90 mg/Tag	29.4.2010		X
Lamivudin	Oral	2 x 4 ml	30.3.2010		X
Lopinavir/r	Oral	2 x 1,5 ml	30.3.2010		X
Multivitaminpräperat	Oral	5 ml/Tag	März 2010		X
Nystatin	Oral	1 ml/6Std	09.4.2010		X
Paracetamol	Oral	5 ml			bei Bedarf
Rimcure**	Oral	1 Tbl/Tag	29.4.2010		X
Ritonavir	Oral	2 x 1 ml	29.4.2010		X

Tabelle 4: Medikamentenplan eines 12 Monate alten Säuglings auf der pädiatrisch-infektiologischen Station des Tygerberg Hospitals im April 2010

*AmoxiClav= Amoxicillin + Clavulansäure

**Rimcure= 150 mg Rifampicin + 75 mg Isoniazid + 400 mg Pyrazinamid

Der Säugling bekam eine antibiotische Breitbandtherapie mit Amoxicillin plus Clavulansäure und Ertapenem. Das Carbapenem wurde einen Tag vor der ersten Messung der LPV-Serumkonzentration abgesetzt. Die antibiotische Prophylaxe mit Cotrimoxazol wurde am 29.04.2010 von 30 mg pro Tag auf 30 mg alle 6 Stunden erhöht. Während des Krankenhausaufenthaltes wurde wegen des Verdachts auf

Tuberkulose mit einer tuberkulostatischen Therapie begonnen. Mit dem Start der Rifampicin-haltigen Therapie wurde zu der antiretroviralen Dreierkombination ein zusätzlicher Ritonavir Booster verabreicht. Die antiretrovirale Therapie war am 30.3.2010 mit Stavudin, Lamivudin und Lopinavir/r begonnen worden und wurde am 29.4.2010 von Stavudin auf Abacavir geändert.

Am 23.4.2010 war die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase auf 62 U/l erhöht, weitere Laborwerte siehe Tabelle 5.

	28.4.2010	30.4.2010	Normwerte
CD4 positive Zellen (Anzahl/ μ l)	460		>1.000
CD4 positive Zellen (%)	34		30-40
Viruslast (Kopien/ml)		5.600.000	n.n.
Kreatinin (μ mol/l)	44	48	22-55
Serumalbumin (g/l)	33	31	32-45
Hämoglobin (g/dl)	6	9,3	9,5-16
Hämatokrit (l/l)	0,2		0,3-0,55
MCV (fl)	84		85-135
MCH (pg)	24,9		21-38
MCHC (g/dl)	29,6		25-37
Erythrozyten (Anzahl/nl)	2,42		3,0-5,4
Leukozyten (Anzahl/ μ l)	2.530	1.040	5.000-18.000
Thrombozyten (Anzahl/ μ l)	133	46*	100-250
Neutrophile (%)	48		20-65
Lymphozyten (%)	40		41-56
C-reaktives Protein (mg/l)	18		<5

Tabelle 5: Laborwerte eines 12 Monate alten Säuglings (K05) während seines stationären Aufenthaltes im April 2010 in Tygerberg Hospital
*** Kommentar des Labors: Probe nicht geronnen.**
fett gedruckt: Werte außerhalb des Normbereichs

4.3 Efavirenz Serumkonzentrationen

Efavirenz (EFV) wurde in 26 Serumproben von 24 Patienten im Alter von $9,3 \pm 3,1$ (3,7-15,9) Jahren gemessen. Hiervon waren 14 Jungen und 10 Mädchen. Der BMI betrug im Mittel $15,4 \pm 3 \text{ kg/cm}^2$. Der Mittelwert der eingenommenen EFV Dosis betrug $319 \pm 89 \text{ mg/Tag}$. Die eingenommenen Dosen von EFV variierten zwischen 200 und 600 mg am Tag. Der Mittelwert in mg pro kg Körpergewicht (KG) betrug $13,7 \pm 2,6$ (10,8-20) mg/kg KG pro Tag. Efavirenz wurde täglich abends eingenommen. Der Zeitpunkt der Blutentnahme am Vormittag war $15,7 \pm 1,4$ (12,5-18,3) Stunden nach der letzten EFV Einnahme.

Die gemessenen EFV-Serumkonzentrationen zeigten eine große Varianz, wie in Abbildung 14 zu sehen ist. Der Mittelwert lag bei $4.049 \pm 6.862 \text{ ng/ml}$. Die einzelnen Werte bewegten sich zwischen 156 und 36.340 ng/ml . In allen untersuchten Proben konnte EFV nachgewiesen und quantifiziert werden.

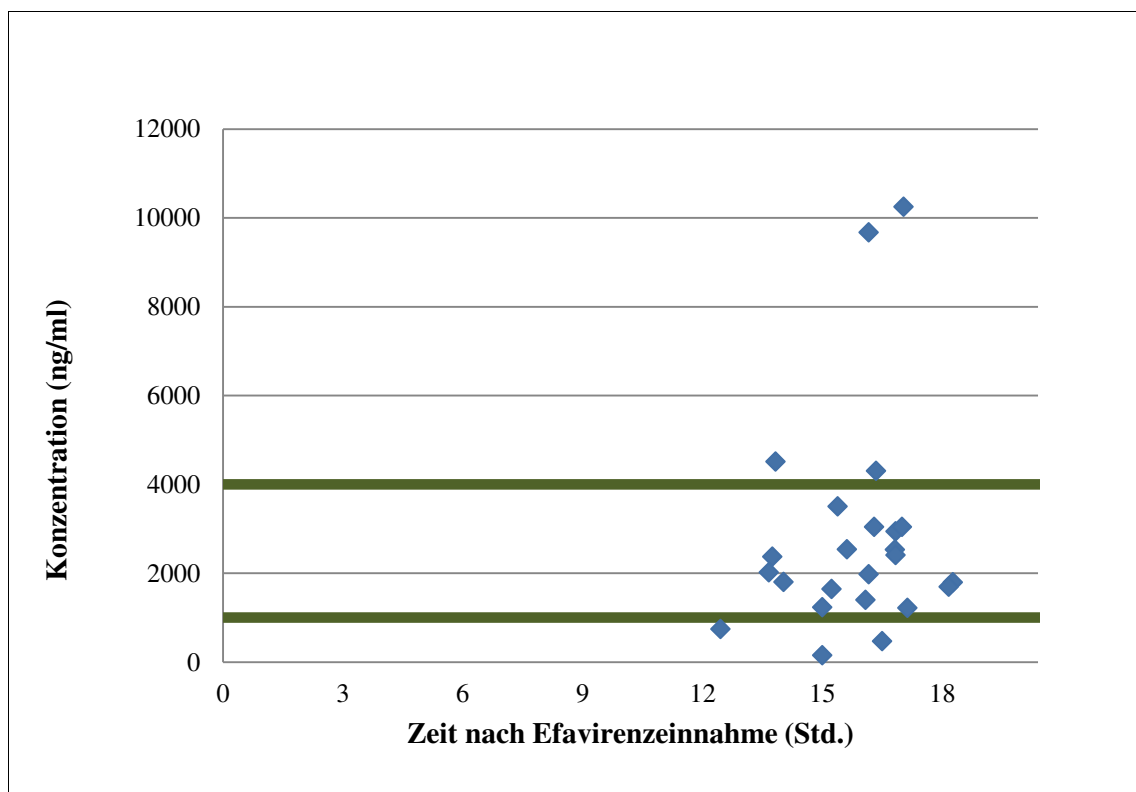


Abbildung 14: Efavirenz-Serumkonzentrationen HIV-infizierter Kinder unter antiretroviraler Therapie zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach letzter EFV-Dosis (n=24)
grüne Linien: Therapeutischer Bereich für EFV 1.000 – 4.000 ng/ml³⁴

Bei 27% der Proben (n=26) wurden Serumkonzentrationen außerhalb des therapeutischen Bereichs gemessen, 12% waren subtherapeutisch und 15% oberhalb des therapeutischen Bereichs. In Abbildung 14 sind alle 24 Patienten mit einer Messung dargestellt.

In der Abbildung 14 nicht dargestellt sind die wiederholten Messungen bei zwei Patienten. Bei einem Patienten ergab die erste Messung der EFV-Serumkonzentration 9.676 ng/ml. Nach einem Monat erfolgte eine weitere Blutentnahme und eine zweite Messung der EFV-Serumkonzentration wurde durchgeführt und ergab 36.340 ng/ml. Auf diesen Einzelfall wird weiter unten noch eingegangen. Bei dem anderen Patienten ergab die erste Messung der EFV-Serumkonzentration 472 ng/ml und die nach zwei Wochen wiederholte Messung 1.656 ng/ml.

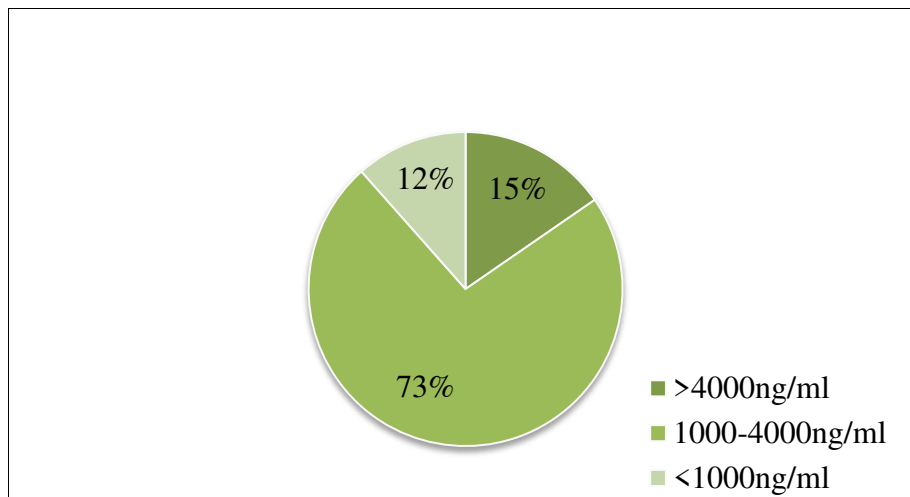


Abbildung 15: EFV- Serumkonzentrationen bei HIV-infizierten Kindern unter ART (n=26)

4.3.1 Geschlecht und EFV-Serumkonzentration

Bei den untersuchten Patienten, die EFV einnahmen, waren 14 männlich und 10 weiblich (Tabelle 6). Bei den weiblichen Patienten zeigten 90 % Serumspiegel im therapeutischen Bereich, bei den männlichen Patienten nur 57 %. Der Unterschied war nach dem Chi-Quadrat-Test jedoch nicht signifikant (Chi-Quadrat=3,048; df=1; p=0,172). Auch der Vergleich der mittleren Serumkonzentrationen von Jungen und Mädchen (Abbildung 16) zeigte keinen signifikanten Unterschied (p=0,752).

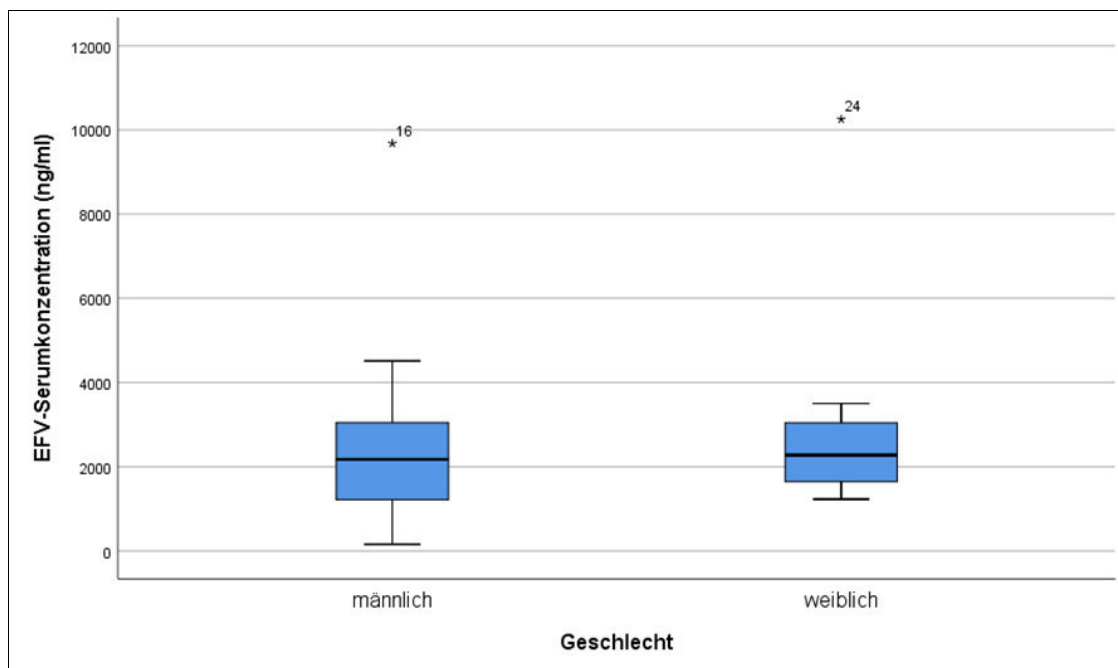


Abbildung 16: Vergleich der EFV-Serumkonzentrationen bei HIV-positiven Jungen (n=14) und Mädchen (n=10) unter antiretroviraler Therapie
Hochgestellte Zahlen: Patientennummer in der statistischen Auswertung der EFV-Konzentrationen

	Männliche Patienten n=14	Weibliche Patienten n=10
Mittelwert	2.666 ng/ml	2.997 ng/ml
Median	2.174 ng/ml	2.277 ng/ml
Standardabweichung	2.397 ng/ml	2.650 ng/ml
Ergebnisbereich	156 – 9.676 ng/ml	1.230 – 10.252 ng/ml
Serumkonzentration <1.000 ng/ml	3 Patienten (21 %)	0 Patienten (0 %)
Serumkonzentration 1.000-4.000ng/ml	8 Patienten (57 %)	9 Patienten (90 %)
Serumkonzentration >4.000 ng/ml	3 Patienten (21 %)	1 Patient (10 %)

Tabelle 6: Efavirenz-Serumkonzentrationen (n=24) männlicher und weiblicher Patienten

4.3.2 WHO-Stadium und EFV-Serumkonzentration

Es wurde ein Patient unter EFV-Therapie im WHO Stadium I gesehen. Er hatte eine EFV-Serumkonzentration von 2.533 ng/ml im therapeutischen Bereich. Die 11 Patienten mit WHO Stadium III zeigten Serumkonzentrationen von 3.073 ± 2.638 (1.217-10.252) ng/ml. Acht von ihnen zeigten Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich und 3 zeigten Serumkonzentrationen >4.000 ng/ml. Von 12 Patienten im WHO Stadium IV wurden bei 8 Patienten (67%) Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich, bei 3 Patienten Serumkonzentrationen im subtherapeutischen Bereich und bei einem Patienten eine Serumkonzentration >4.000 ng/ml gemessen. Der Anteil der Patienten mit Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich ist in Abbildung 17 dargestellt. Die mittlere Serumkonzentration bei den Patienten im Stadium IV betrug 2.579 ± 2.476 (156 – 9.676) ng/ml. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied bei dem Anteil der Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich (Chi-Quadrat=0,532; df=2; p=0,767). Auch die mittleren Serumkonzentrationen (Abbildung 18) unterschieden sich nicht signifikant zwischen Patienten in WHO Stadium I, II, III verglichen mit Patienten in WHO Stadium IV (p=0,664).

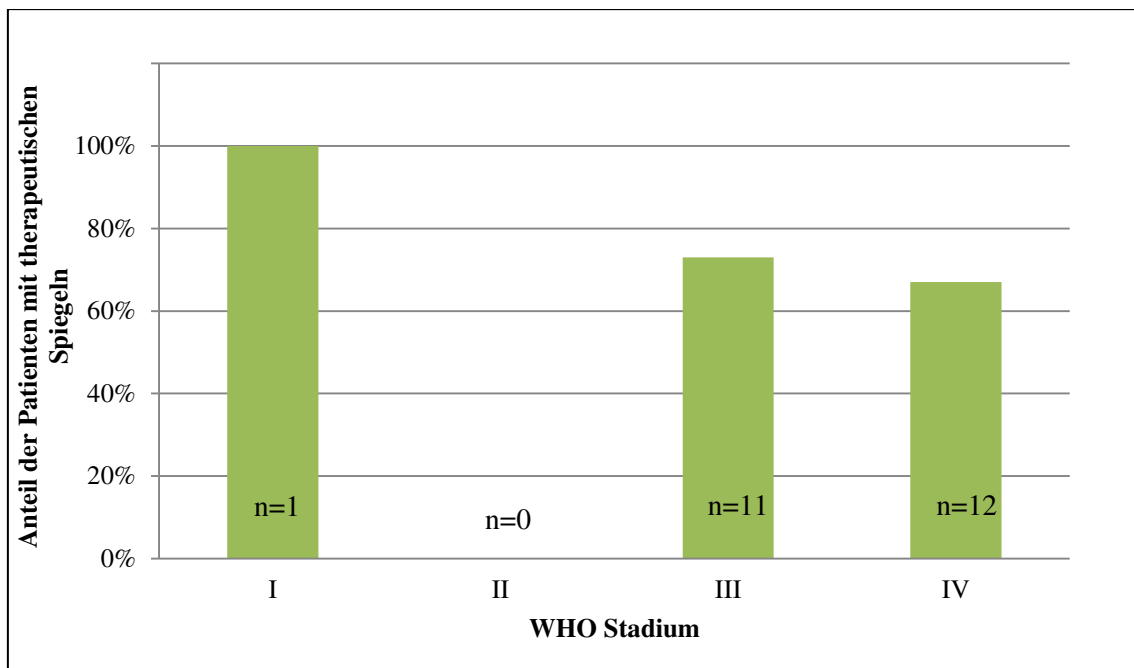


Abbildung 17: Anteil der Patienten (n=24) mit EFV-Serumspiegeln im therapeutischen Bereich (1.000-4.000 ng/ml) und WHO Stadium der HIV Infektion bei Kindern in Tygerberg Hospital in Kapstadt/Südafrika.

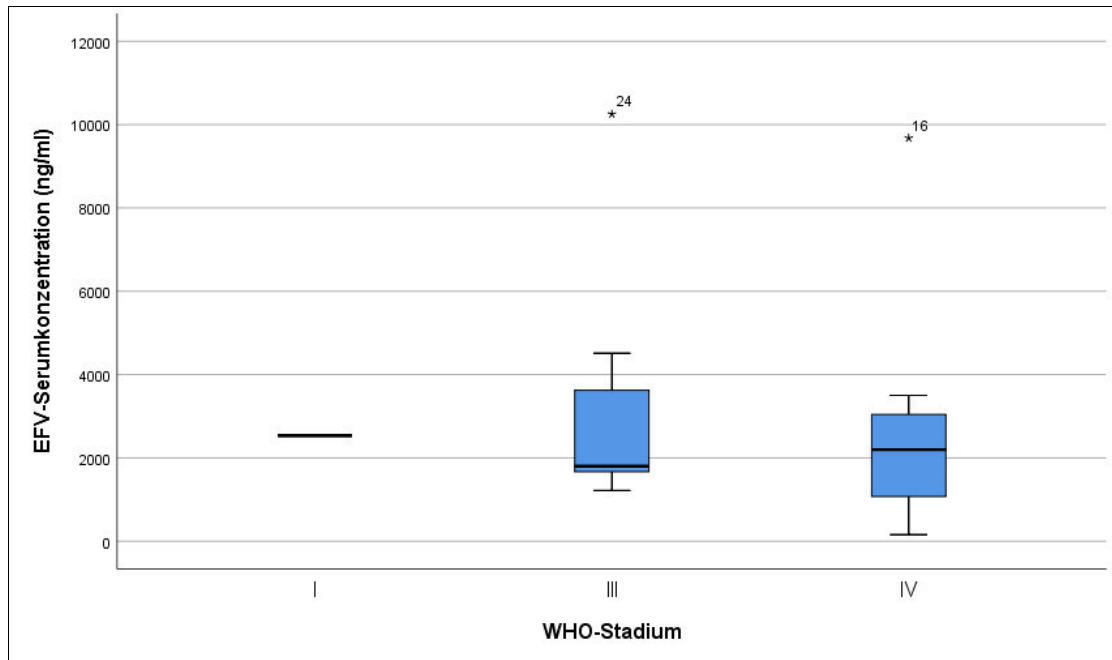
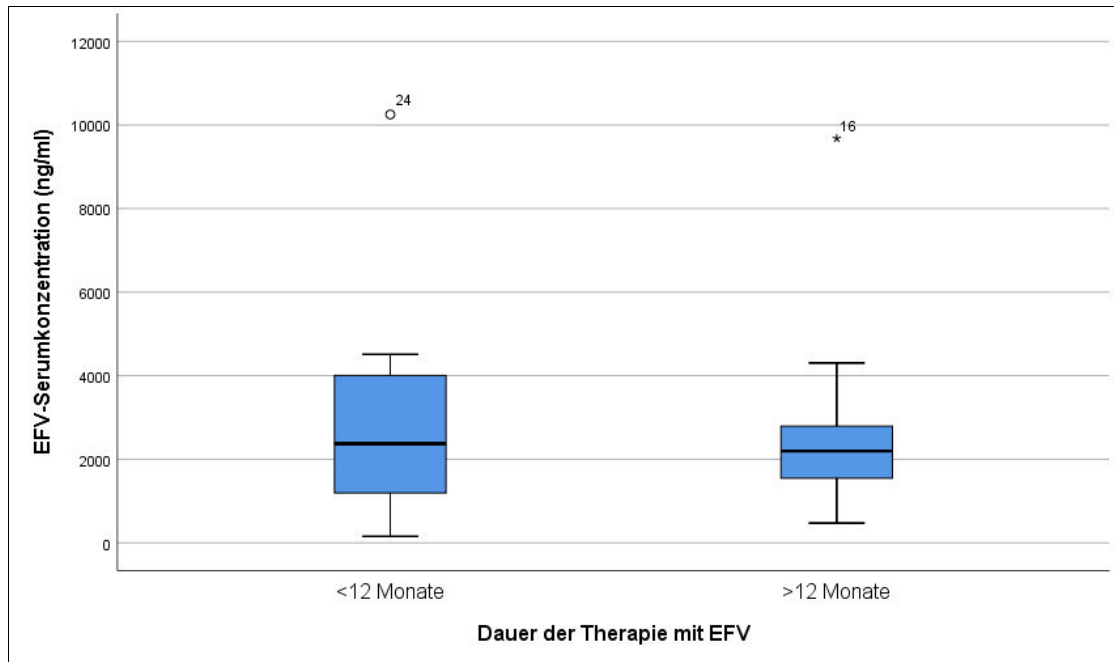


Abbildung 18: Vergleich der EFV-Serumkonzentrationen bei Kindern in WHO Stadium I (n=1), III (n=11) und IV (n=12)
Hochgestellte Zahlen: Patientennummer in der statistischen Auswertung der EFV-Konzentrationen

4.3.3 Dauer der ART und EFV-Serumkonzentrationen

Bei 8 Patienten, die sich im ersten Jahr nach Therapiebeginn mit EFV befanden, zeigten 2 subtherapeutische und 2 supratherapeutische Serumkonzentrationen. 4 von 8 (50%) lagen im therapeutischen Bereich. Im Mittel wurden Serumkonzentrationen von 3.195 ± 3.191 (156-10.252) ng/ml gemessen. Bei den 16 Patienten, die eine EFV-haltige ART länger als 12 Monate einnahmen, zeigte sich ein deutlich größerer Anteil von 81 % Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich. Nur 3 Patienten (19%) zeigten Serumkonzentrationen im nicht-therapeutischen Bereich. Es stellten sich hier Serumkonzentrationen von 2.608 ± 2.088 (472-9.676) ng/ml ein. Der Anteil an Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich unterschied sich nicht signifikant zwischen den zwei Gruppen (Chi-Quadrat=2,521; df=1; p=0,167). Auch für die mittlere Serumkonzentration (Abbildung 19) zeigte sich kein signifikanter Unterschied. (p=0,592)



**Abbildung 19: Vergleich der EFV-Serumkonzentrationen bei Kindern, die weniger als 12 Monate eine EFV-haltige ART einnahmen (n=8), mit Kinder die länger als 12 Monate eine EFV-haltige ART einnahmen (n=16)
Hochgestellte Zahlen: Patientennummer in der statistischen Auswertung der EFV-Konzentrationen**

4.3.4 CD4-Lymphozyten und EFV-Serumkonzentrationen

Von den 18 Patienten, die zum Untersuchungszeitpunkt >350 CD4-Lymphozyten/ μl hatten, wurden bei 3 Patienten (17 %) Serumkonzentrationen >4.000 ng/ml und bei 15 Patienten (83 %) im therapeutischen Bereich gemessen. Die mittlere Serumkonzentration war 2.873 ± 1.944 (1.217-9.676) ng/ml. Bei 5 Patienten mit CD4-Lymphozyten unter 350 / μl hingegen erreichten nur 2 Patienten (40 %) EFV-Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich. 2 zeigten subtherapeutische und einer supratherapeutische Serumkonzentration. Bei einem Patienten konnte die Anzahl der CD4-Lymphozyten im Blut nicht dokumentiert werden. Die statistische Testung beim Anteil der Serumkonzentrationen im subtherapeutischen, therapeutischen und supratherapeutischen Bereich zeigte für die Eigenschaft CD4-Lymphozyten <350 / μl verglichen mit CD4-Lymphozyten >350 / μl einen signifikanten Unterschied (Chi-Quadrat=8,219; df=2; p=0,016). Der Unterschied der mittleren Serumkonzentration war zwischen den zwei Gruppen nicht signifikant. (p=0,297)

4.3.5 HI-Viruslast und EFV-Serumkonzentrationen

Sechs Patienten hatten zum Zeitpunkt der Blutentnahme für die vorliegende Erhebung eine messbare HI-Viruslast >50 Kopien/ml. Die Viruslast betrug im Mittel 308.987 ± 730.530 ($420-1.800.000$) Kopien/ml. Zwei von ihnen zeigten EFV-Serumkonzentrationen im subtherapeutischen Bereich, 4 im therapeutischen Bereich. Die Serumkonzentration betrug 1.607 ± 1.239 ($156-3.045$) ng/ml. Bei den 17 Patienten mit HI-Viruslast unter der Nachweisgrenze von 50 Kopien/ml waren die Spiegel im Mittel mit 3.185 ± 2.730 ($747-10.252$) ng/ml circa doppelt so hoch wie bei den Patienten mit messbarer Viruslast >50 Kopien/ml. Der Unterschied der mittleren Serumkonzentrationen war jedoch nicht signifikant ($p=0,191$). Ein Patient mit Viruslast unter der Nachweisgrenze zeigte einen subtherapeutischen Spiegel, 12 zeigten Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich und 4 Patienten zeigten Serumkonzentrationen >4.000 ng/ml. Für den Anteil an Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich zeigte sich bei den zwei Gruppen kein signifikanter Unterschied. ($p=1,0$)

4.3.6 Stationäre/ambulante Patienten und EFV-Serumkonzentrationen

Von 7 aufgrund von opportunistischen Erkrankungen stationäre Patienten zeigten 2 Individuen EFV-Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich. Drei waren subtherapeutisch und 2 oberhalb des therapeutischen Bereichs. Die Serumkonzentrationen lagen im Mittel bei 2.924 ± 3.396 ($156-9.676$) ng/ml. Im Gegensatz dazu zeigten bei den 17 Patienten, die ambulant zur Therapiekontrolle in die Tagesklinik des Tygerberg Hospitals kamen, 15 Patienten Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich. Zwei Patient zeigten Serumkonzentrationen >4.000 ng/ml (siehe Abbildung 20). Die EFV-Serumkonzentrationen waren 2.754 ± 2.080 ($1.217-10.252$) ng/ml. Der Anteil an Serumkonzentrationen im therapeutischen versus außerhalb des therapeutischen Bereichs zeigte zwischen ambulanten und stationären Patienten einen signifikanten Unterschied (Chi-Quadrat=8,543; $df=1$; $p=0,009$). Die mittleren Serumkonzentrationen unterschieden sich zwischen den zwei Gruppen (Abbildung 21) nicht signifikant ($p=0,505$).

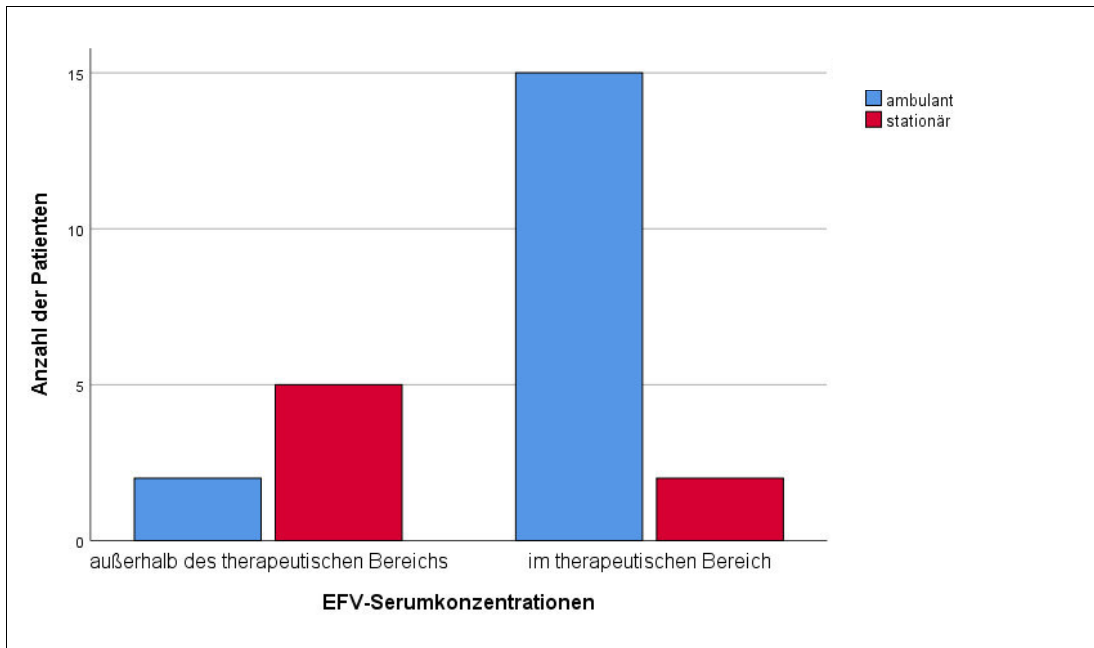


Abbildung 20: Vergleich der Patientenzahlen mit EFV-Serumkonzentrationen im therapeutischen und nicht-therapeutischen Bereich bei ambulanten (n=17, blau) und stationären (n=7, rot) Patienten

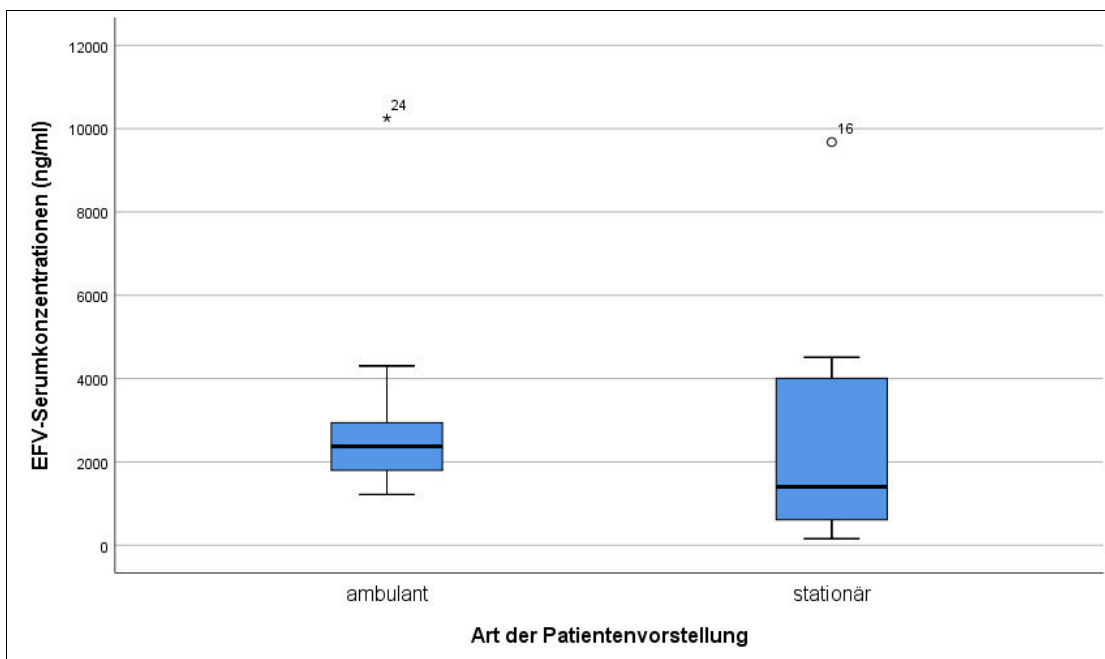


Abbildung 21: Vergleich der EFV-Serumkonzentrationen bei ambulanten(n=7) und stationären(n=17) Patienten. Hochgestellte Zahlen: Patientennummer in der statistischen Auswertung der EFV-Konzentrationen

4.3.7 Komorbiditäten und EFV-Serumkonzentrationen

Die 8 Patienten, die zum Zeitpunkt der Blutentnahme für die vorliegende Erhebung keine Komorbiditäten angaben, zeigten Serumkonzentrationen zwischen 1.230 und 4.304 ng/ml, 7 von ihnen lagen im therapeutischen Bereich und eine Serumkonzentration lag mit 4.304 ng/ml im Bereich wenig über 4.000 ng/ml. Der Mittelwert war 2.525 ± 937 ng/ml. Dagegen zeigten von den 16 unter Komorbiditäten leidenden Patienten 6 (38 %) nicht-therapeutische Serumkonzentrationen, drei waren im subtherapeutischen Bereich, drei waren >4.000 ng/ml. Die Serumkonzentrationen lagen im Mittel bei 2.943 ± 2.960 (156-10.252) ng/ml. Der Unterschied beim Anteil der Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich (Abbildung 22) war nicht signifikant (Chi-Quadrat=1,613; df=1; p=0,352). Auch die mittleren Serumkonzentrationen unterschieden sich nicht signifikant. (p=0,612)

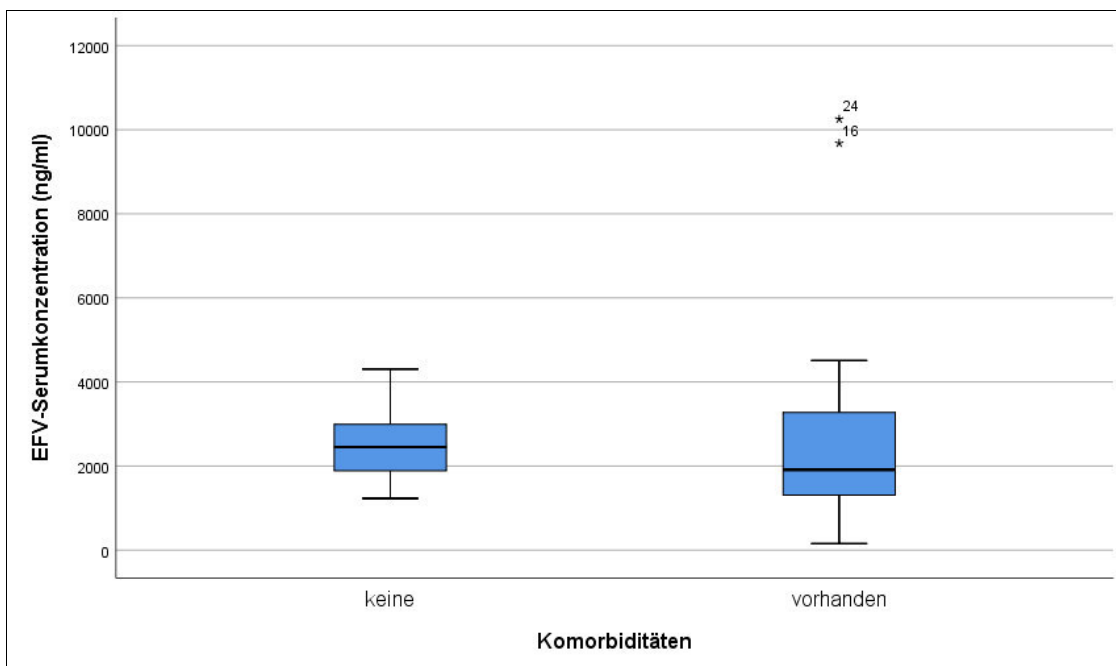
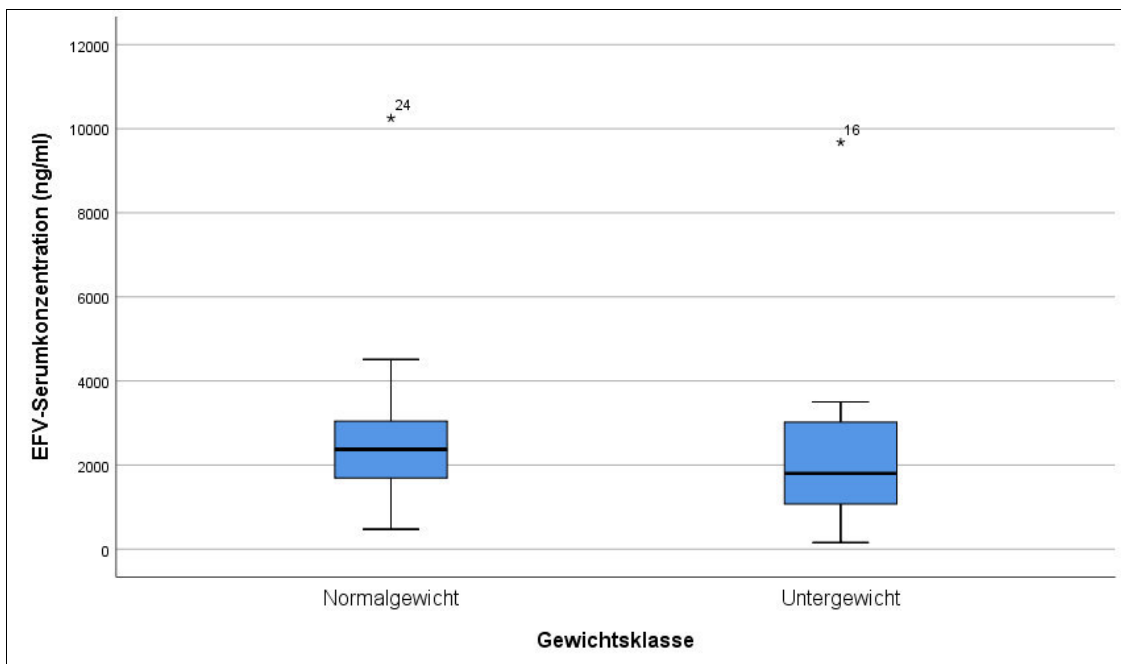


Abbildung 22: Vergleich der EFV-Serumkonzentrationen bei HIV-Patienten mit (n=16) und ohne (n=8) Komorbiditäten
Hochgestellte Zahlen: Patientennummer in der statistischen Auswertung der EFV-Konzentrationen

4.3.8 Untergewicht und EFV-Serumkonzentrationen

Unter den 7 untergewichtigen Kindern fanden sich nur 4 (57 %), bei denen die Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich lagen. Bei den 3 übrigen (43 %) hatten 2 Patienten subtherapeutische Serumkonzentrationen und ein Patient zeigte eine Serumkonzentration oberhalb des therapeutischen Bereichs. Die mittlere Serumkonzentration betrug 2.832 ± 3.214 (156-9.676) ng/ml. Im Vergleich dazu wurden bei 13 von 17 normalgewichtigen Patienten (76 %) Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich mit 2.791 ± 2.187 (472-10.252) ng/ml gemessen. Drei Patienten zeigten Serumkonzentrationen oberhalb und einer unterhalb des therapeutischen Bereichs. Der Unterschied des Anteil an Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich zwischen untergewichtigen und normalgewichtigen Kindern war nicht signifikant (Chi-Quadrat=0,897; df=1; p=0,374). Auch die mittleren Serumkonzentrationen, wie in Abbildung 23 dargestellt, unterschieden sich nicht signifikant zwischen den zwei Gruppen. (p=0,589)



**Abbildung 23: Vergleich der EFV-Serumkonzentrationen bei Kindern mit Normalgewicht (n=17) und Untergewicht (n=7)
Hochgestellte Zahlen: Patientennummer in der statistischen Auswertung der EFV-Konzentrationen**

4.3.9 Tuberkulostatische Komedikation und EFV-Serumkonzentrationen

Von den 24 Patienten, die eine EFV-haltige ART einnahmen, nahmen 7 gleichzeitig tuberkulostatische Medikamente ein. Diese 7 Patienten sind in Abbildung 24 dargestellt. Bei zwei Patienten enthielt die tuberkulostatische Therapie Rifampicin (Rif). Beide Patienten unter gleichzeitiger Therapie mit EFV und Rif zeigten EFV-Serumkonzentration außerhalb des therapeutischen Bereichs. Ein Patient mit 9.676 ng/ml zeigte eine Serumkonzentration oberhalb und der andere mit 472 ng/ml zeigte eine Serumkonzentration unterhalb des therapeutischen Bereichs.

Ein Kind wurde aufgrund einer multiresistenten Tuberkulose (MDR = multidrug-resistant tuberculosis) mit hochdosiertem Isoniazid plus Pyrazinamid, Ethionamid und Ethambutol behandelt. Ein anderes Kind wurde aufgrund einer hochresistenten Tuberkulose (XDR = extensively drug-resistant tuberculosis) mit der eben genannten tuberkulostatischen Vierfachtherapie plus Terizidon behandelt. Vier weitere Kinder wurden mit einer niedrig dosierten Isoniazidmonotherapie behandelt. Von 6 Patienten, die eine tuberkulostatische Therapie ohne Rifampicin (Rif) erhielten, waren bei 4 Patienten die EFV-Spiegel im therapeutischen Bereich, bei einem >4.000 ng/ml und bei einem im subtherapeutischen Bereich <1.000 ng/ml. Hier konnte bei dem Anteil an Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich im statistischen Test bei sehr kleiner Fallzahl keine Signifikanz, wohl aber ein Trend ($p=0,076$) gesehen werden (Chi-Quadrat=5,299; $df=1$; $p=0,076$).

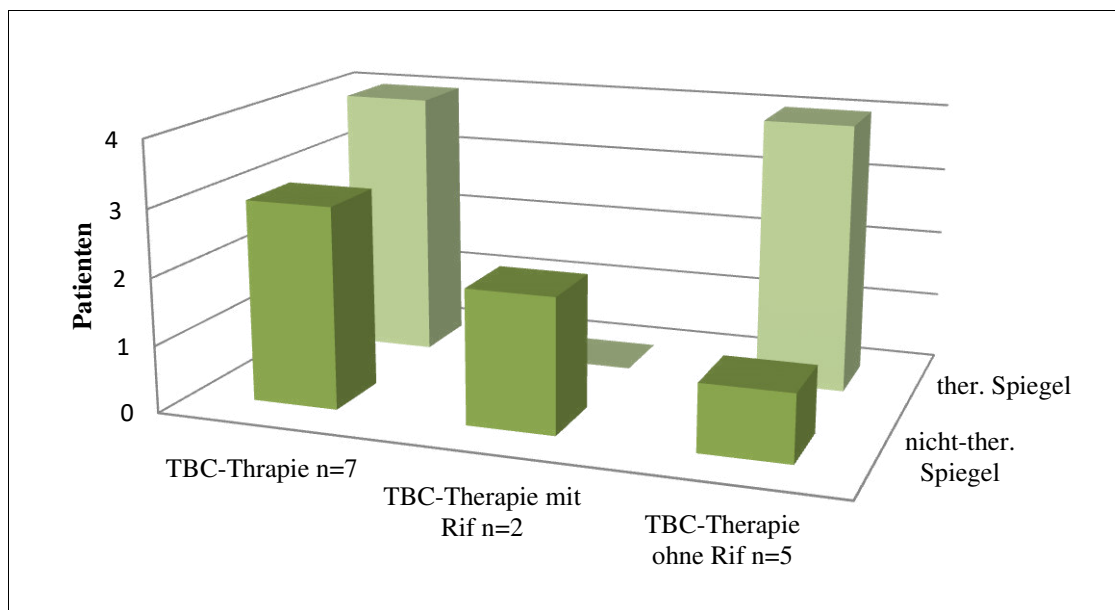


Abbildung 24: Anzahl der EFV-Serumspiegel unter tuberkulostatischer Therapie (n=7) mit und ohne Rifampicin

- = Nicht-therapeutische Serumspiegel (n=3)
- = Therapeutische Serumspiegel (n=4)

4.3.10 Therapieadhärenz und EFV-Serumkonzentrationen

Von den Patienten (n=24) unter EFV-haltiger ART gab ein Patient an, in den letzten sieben Tagen eine Medikamenteneinnahme vergessen zu haben. Er hatte eine EFV-Serumkonzentration von 2.533 ng/ml. Die übrigen 23 Patienten zeigten Serumkonzentrationen von 2.815 ± 2.508 (156–10.252) ng/ml, 70 % der Spiegel waren im therapeutischen Bereich, drei (13%) im sub- und vier (17%) im suprathérapeutischen Bereich.

4.3.11 Kasuistik: Siebenjähriger Patient (K30)

Anamnese und Untersuchungsbefund

Es wird im Folgenden ein Patient vorgestellt, der unerwartet hohe Serumkonzentrationen von Efavirenz zeigte. Anhand der folgenden Darstellung wird deutlich, wie viele verschiedene Faktoren potentiell Einfluss nehmen könnten auf die Höhe der erreichten Serumkonzentrationen.

Die Verfasserin vorliegender Arbeit sah am 07.06.2010 einen 7 Jahre alter Jungen. Zu diesem Zeitpunkt war er als stationärer Patient auf der infektiologischen Kinderstation

des Tygerberg Hospitals. Der Grund für die stationäre Aufnahme war eine akute Gastroenteritis. Bei Aufnahme am 25.05.2010 befand sich der Patient in reduziertem Allgemeinzustand und untergewichtigem Ernährungszustand. Der Patient hatte einen BMI von $11,1 \text{ kg/m}^2$. Nach der klinischen WHO-Stadieneinteilung befand sich der Patient in HIV Stadium IV. Bei der körperlichen Untersuchung fielen eine Hepatomegalie und ein Candidabefall des Skrotums auf.

Medikation

Die antiretrovirale Therapie bestand aus Abacavir zweimal täglich 160 mg, Lamivudin zweimal täglich 75 mg, Efavirenz (EFV) einmal täglich 250 mg. Der Patient nahm eine EFV-haltige ART seit 19,5 Monaten ein. Am 11.5.2010 war ein NRTI des antiretroviralen Regimes von Stavudin auf Abacavir umgestellt worden. Grund für die Umstellung war ein zuvor aufgetretenes Lipodystrophiesyndrom. Aktuell lagen keine Klagen über Nebenwirkungen vor. Der Patient hatte in der Vergangenheit bereits eine Chemotherapie zur Behandlung einer akuten myeloischen Leukämie erhalten. Zum Zeitpunkt der Vorstellung bestand die tuberkulostatische Therapie aus Rifampicin, Isoniazid und Pyrazinamid.

Neben der ART mit Abacavir, Lamivudin und Efavirenz, einem Multivitaminpräparat und einer niedrigdosierten Cotrimoxazol-Prophylaxe bekam der Patient während des stationären Aufenthaltes ein Folsäure- und ein Zinkpräparat. Als tuberkulostatische Therapie bekam er zweimal täglich ein Kombinationspräparat mit 150 mg Rifampicin, 75 mg Isoniazid und 400 mg Pyrazinamid, außerdem einmal täglich 100 mg Isoniazid und 300 mg Ethambutol. Zu Beginn des Krankenhausaufenthaltes wurde eine antibiotische Therapie mit Amoxicillin+Clavulansäure (für 12 Tage), Metronidazol (für 6 Tage) und Gentamycin (für 6 Tage) gegeben. Außerdem wurde initial für 6 Tage Cholestyramin gegeben.

Labor

Am Tag der stationären Aufnahme fiel ein C-reaktives Protein (CRP) von 212 mg/l (Norm $<5 \text{ mg/l}$) auf, welches wie in Tabelle 8 aufgeführt im Verlauf des stationären Aufenthaltes unter antibiotischer Therapie abfiel. Am 29.05.2010 fielen im Blutbild viele Werte auf, die außerhalb des Referenzbereichs lagen. Diese sind in Tabelle 7

dargestellt. In der Magen-Lavage am 4.6.2010 konnte Mycobacterium tuberculosis nachgewiesen werden, welches auf Rifampicin und Isoniazid sensibel war.

	29.05.2010	Norm
Hämoglobin	9 g/dl	10,5-12,9 g/dl
Hämatokrit	0,27 l/l	0,353–0,428 l/l
Erythrozyten	2,56 /pl	4,05-5,15 /pl
MCV	106,4 fl	77,1-91,5 fl
MCH	35 pg	25,8-31,7 pg
MCHC	32,9 g/dl	33-35,1 g/dl
Red cell distribution (RDW)	16,20 %	11,6-14,8 %
Neutrophile Granulozyten	9,1 /nl	1,7-4,3 /nl
Lymphozyten	0,85 /n	1,9-4,3 /nl

Tabelle 7: Laborwerte außerhalb des Normbereichs des stationären Patienten mit akuter Gastroenteritis, Candidabefall des Skrotums, pulmonaler Tuberkulose und HIV-Stadium IV

	25.05.2010	29.05.2010	31.05.2010
CRP	212 mg/l	164 mg/l	94 mg/l

Tabelle 8: Entzündungsparameter eines 7-jährigen Patienten mit akuter Gastroenteritis, Candidabefall des Skrotums, pulmonaler Tuberkulose und HIV-Stadium IV

Messungen der EFV-Serumkonzentration

Am 7.6.2010 um 6.00 Uhr bekam der Patient seine tuberkulostatische Therapie. Um 8.00 Uhr wurden die NNRTI der ART verabreicht, worauf der Patient erbrach. Die letzte Efavirenz (EFV) Einnahme vor der Blutentnahme erfolgte am Vorabend, dem 6.6.2010 um 20.00 Uhr. Der EFV Spiegel gemessen bei der Blutentnahme um 12.10

Uhr am 7.6.2010 lag bei 9.676 ng/ml. Die Zeit zwischen EFV Einnahme und Blutentnahme betrug 16 Stunden und 10 Minuten.

Einen Monat später, am 6.7.2010, stellte sich der Patient poststationär in der ambulanten Tagesklinik vor. Er gab an, in den letzten 7 Tagen einmal seine antiretroviralen Medikamente nicht eingenommen zu haben. Sein BMI betrug zu diesem Zeitpunkt 12,7 kg/m². Die letzte Einnahme der antiretroviralen Medikamente vor Blutentnahme war am Vorabend dem 5.7.2010 um 20.00 Uhr. Die tuberkulostatischen Medikamente wurden nach Angaben des Patienten und der Erziehungsberechtigten am 6.7.2010 um 6.00 Uhr eingenommen. Die Blutentnahme erfolgte am 6.7.2010 um 10:52 Uhr. Der EFV Spiegel betrug 36.340 ng/ml. Die Zeit zwischen EFV Einnahme und Blutentnahme betrug 14 Stunden und 52 Minuten.

Polymorphismustestung

Aufgrund der gemessenen hohen EFV-Serumspiegel wurde im Nachhinein mit den behandelnden Pädiatern in Kapstadt, Südafrika, Kontakt aufgenommen. Es wurde vor Ort sowohl eine erneute EFV-Spiegelmessung durchgeführt, als auch eine CYP 2B6-Polymorphismustestung. Die EFV-Spiegel waren im Folgejahr im therapeutischen Bereich. Die Testung auf einen CYP 2B6 Polymorphismus war negativ.

5 Diskussion

Bei der Antiretroviralen Therapie (ART) handelt es um eine Pharmakotherapie bestehend aus einer variablen Kombination verschiedener Virustatika, die nicht zu einer endgültigen Viruselimination führt und deswegen konsequent und lebenslang eingenommen werden muss. Eine lückenlose Adhärenz ist besonders bei Kindern sehr wichtig. Einerseits gilt es, therapeutische Wirkstoffkonzentrationen zu erreichen, um einer Resistenzentwicklung des Virus entgegenzuwirken. Andererseits können nebenwirkungsträchtige Überdosierungen sich u.a. auch auf die Adhärenz negativ auswirken und sind möglichst zu vermeiden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, anhand von konsekutiv durchgeführten Blutentnahmen herauszufinden, welche Serumkonzentrationen der Medikamente Efavirenz und Lopinavir sich bei Kindern in Südafrika einstellen. Weiterhin wird in der Diskussion dieser Arbeit der mögliche Stellenwert von Therapeutischem Drug Monitoring in der ART thematisiert, um Verbesserungsmöglichkeiten hinsichtlich der beiden genannten Zielanliegen aufzuzeigen.

5.1 Lopinavir (LPV)

In der Arbeit von VERWEEL ET AL³⁵ wurden für C_{\min} inadäquate Werte bei 7 (30%) von 23 Kindern gemessen. Bei den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit sind 17% (n=29) Serumkonzentrationen kleiner C_{\min} .

VERWEEL ET AL³⁵ zeigte in seiner Studie auch, dass Kinder unter 2 Jahren ein signifikant höheres Risiko für unzureichende C_{\min} Spiegel haben als Kinder über 2 Jahren. Bei Kleinkindern im Alter zwischen 2 Wochen und 6 Monaten wurden in zwei weiteren Studien für C_{\min} verschiedene Mittelwerte errechnet, einmal 1.400 ng/ml (n=9)³⁶ und in einer zweiten Studie 2.370 ng/ml (n=21)³⁷. Somit wurden in beiden Studien niedrigere C_{\min} Werte ermittelt als die dieser Arbeit zu Grunde liegenden C_{\min} Werte von 5.500 ng/ml. Der pharmazeutische Hersteller von Kaletra® (LPV/r) gibt in seiner Produktinformation allgemein C_{\min} Werte von 5.500 ± 5.400 ng/ml an. Für Kleinkinder unter 2 Jahren werden in der Produktinformation jedoch C_{\min} Mittelwerte von 3.400 ng/ml angegeben.¹⁰ Somit sind die C_{\min} Werte im Mittel bei Kleinkindern zwischen 2

Wochen und 6 Monaten von 1.400 ng/ml und 2.370 ng/ml in klinischen Arbeiten niedriger als in der Fachinformation mit C_{\min} Werten von 3.400 ng/ml.

5.1.1 Therapeutischer Bereich

Es gibt bei Lopinavir keine eindeutige Empfehlung für anzustrebende Serumkonzentrationen wie einen therapeutischen Bereich.

CHADWICK ET AL³⁸ empfiehlt in seiner Arbeit als unteren Wert des therapeutischen Bereichs für therapie-naive Patienten Talspiegel über 1.000 ng/ml. Bei therapieerfahrenen Patienten sollten Talspiegel über 4.000 ng/ml erreicht werden, schlagen die Autoren KAPPELHOFF ET AL³³ in ihrer Arbeit vor. Die aktuelle wissenschaftliche Datenlage bezüglich des Zusammenhanges zwischen hohen LPV Spiegel und Toxizität ist bis dato offen.

Aufgrund der unterschiedlichen Empfehlungen und der Uneinigkeit im Hinblick auf die zu erreichenden therapeutischen Spiegel entschied sich die Autorin vorliegender Arbeit, die gemessenen Konzentrationen von LPV bei Kindern in Südafrika in Bezug zu den pharmakokinetischen Größen C_{\max} und C_{\min} von 9.600 ng/ml und 5.500 ng/ml darzustellen^{31,32}. Bei Kindern im Alter von 0 bis 2 Jahren wurden für C_{\max} und C_{\min} Werte von 8.200 ± 2.900 und 3.400 ± 2.100 ng/ml vom Arzneimittelhersteller veröffentlicht.¹⁰

In einer Arbeit von JULLIEN ET AL³⁹ mit 157 Patienten im Alter zwischen 3 Tagen und 18 Jahren wird eine große intraindividuelle Variabilität dargestellt. Dort wurden LPV-Plasmakonzentrationen von 8.990 ± 4.890 (330-29.700) ng/ml gemessen.

Einige Autoren wie VERWEEL empfehlen den Einsatz von TDM bei allen Kindern, die mit LPV behandelt werden. In der Arbeit von VERWEEL ET AL³⁵ wurden bei 23 Kindern unter LPV-haltiger ART Plasmakonzentrationen gemessen. Hier zeigten sich bei 7 von 23 Kindern inadäquate C_{\min} LPV-Plasmakonzentration < 1.000 ng/ml. Eine Dosissteigerung um 33% führte in genannter Arbeit zu C_{\min} Plasmakonzentrationen > 1.000 ng/ml.

5.1.2 Kasuistik, verstorbener Patient

Bei dem oben vorgestellten Patienten handelte es sich um einen 12 Monate alten Patienten mit HIV im WHO-Stadium III. Er nahm zum Zeitpunkt der Blutentnahme seit

einem Monat antiretrovirale Medikamente ein. Der Lopinavir-Spiegel betrug 2.456 ng/ml, 2 Stunden und 10 Minuten nach letzter LPV-Einnahme gemessen.

Bei einer Zeit bis zum Auftreten des Spitzenplasmaspiegels (T_{\max}) von 4,2 Stunden wäre 2 Stunden und 10 Minuten nach letzter Einnahme ein LPV-Serumspiegel in der Größenordnung zwischen C_{\min} 5.500 ng/ml und C_{\max} 9.600 ng/ml^{31,32} zu erwarten. Für Kinder zwischen 0 und 2 Jahren wären Werte zwischen C_{\min} 3.400±2.100 ng/ml und C_{\max} 8.200±2.900 ng/ml¹⁰ zu erwarten. Die in dieser Arbeit gemessene Serumkonzentration von 2.456 ng/ml befindet sich unterhalb des nach Datenlage zu erwartenden Bereichs.

Der Patient war jünger als 2 Jahre. Für dieses Alter besteht ein signifikant höheres Risiko für ungenügende C_{\min} Spiegel, als für Kinder über 2 Jahren.³⁵ Er zeigte ähnliche LPV-Spiegel wie die oben genannten Spiegel aus zwei weiteren Arbeiten von 1.400 ng/ml³⁶ und 2.370 ng/ml³⁷.

Bei dem untersuchten Säugling fanden sich mehrere der Faktoren, für die in dieser Arbeit ein Zusammenhang mit unzureichenden Medikamentenspiegeln gesehen wurde. Der Patient war multimorbide und litt unter anderem an einer Gastroenteritis. Außerdem befand sich der Patient in stationärer Behandlung und nahm verschiedene Medikamente gleichzeitig ein. Seine HIV-Infektion befand sich in WHO Stadium III.

Eine Studie zeigte bei Neugeborenen und Säuglingen unter 10 kg Körpergewicht eine Reduktion der LPV-Halbwertszeit (HWZ). Außerdem variiert die Pharmakokinetik während der Kindheit deutlich. Besonders Säuglinge jünger als 6 Monate und Jungen älter als 12 Jahre wurden als Risikogruppen für niedrige LPV-Spiegel identifiziert.³⁹ Eine weitere Studie bei 12 Säuglingen im Alter zwischen 14 Tagen und 6 Monaten zeigte ebenfalls eine Reduktion der HWZ von LPV in dieser Altersgruppe.⁴⁰

In einer Mortalitätsstudie an 399 Kindern wurden 245 Kinder, die mit LPV behandelt wurden, eingeschlossen. In dieser Studie wurden 202 Säuglinge jünger als 12 Monate beobachtet. Die Säuglingssterblichkeit war 94,0 (71,6-123,4) Tote pro 100 Kinderjahre bei unbehandelten Kindern, verglichen mit 25,7 (9,7-68,6) Toten pro 100 Kinderjahre unter denen, die eine Therapie bestehend aus der Kombination von 2 antiretroviralen Wirkstoffen bekamen, und 23,5 (10,6-52,3) Tote pro 100 Kinderjahren unter denen, die

eine ART bestehend aus einer Dreierkombination von antiretroviralen Medikamenten, einnahmen. In dieser letzten Gruppe starben 6 Säuglinge. Sie befanden sich alle im ersten Monat nach Therapiebeginn.⁴¹

Auch der dargestellte Patient verstarb im ersten Monat nach Therapiebeginn. Es ist möglich, dass für die Progression der Erkrankung durch die HIV-Infektion die Therapie zu spät begonnen wurde, um die opportunistischen Erkrankungen aufgrund von fortschreitender Suppression des Immunsystems zu verhindern. Folglich ist zu Beginn der antiretroviralen Therapie im Falle bereits fortgeschrittener Immundefizienz die Letalität höher als im späteren Verlauf unter effektiver ART.

5.2 Efavirenz (EFV)

EFV-Spiegel wurden in einer Arbeit von VILJOEN ET AL⁴² bei 42% der untersuchten Kinder (n=58) in Südafrika außerhalb des therapeutischen Bereichs (1.000–4.000 ng/ml) gemessen. Bei 17% lagen subtherapeutische Spiegel <1.000 ng/ml vor, bei 25% der Kinder EFV-Plasmaspiegel >4.000 ng/ml. In einer weiteren Studie bei Kindern (n=15) in Südafrika wurde eine hohe Prävalenz von subtherapeutischen EFV Spiegeln gefunden. Hier zeigten sich bei 40% subtherapeutische Spiegel <1.000 ng/ml.⁴³ In der vorliegenden Arbeit lagen bei den Kindern unter EFV-haltiger ART 27% der untersuchten Patientenproben (n=24) außerhalb des therapeutischen Bereichs. 12% befanden sich im subtherapeutischen Bereich und 15% im Bereich >4.000 ng/ml. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch die Arbeit von PATHANAKIT ET AL⁴⁴.

5.2.1 Therapeutischer Bereich

Für Efavirenz gibt es eine Empfehlung für einen optimalen therapeutischen Bereich, dem die Assoziation von hohen Spiegeln und zentralnervösen Nebenwirkungen einerseits und niedrigen Spiegeln und virologischem Versagen andererseits zugrunde liegen. Dies wurde in einer Arbeit von MARZOLINI ET AL³⁴ aufgezeigt. In dieser Arbeit werden EFV-Spiegel zwischen 1.000 und 4.000 ng/ml als therapeutischer Bereich empfohlen. Bei EFV-Spiegeln >4.000 ng/ml steigt das Risiko für unerwünschte Nebenwirkungen. Für EFV wurden zentralnervöse Nebenwirkungen wie Schwindel, Halluzinationen, Schlafstörungen und Alpträume beschrieben.^{15,45} Diese Nebenwirkungen traten in der der Untersuchung von MARZOLINI ET AL³⁴ mit 103

Studienteilnehmern bei 10% der Probanden auf, bei EFV-Spiegeln >4.000 ng/ml bei 24% und mit EFV-Spiegeln zwischen 1.000 und 4.000 ng/ml nur bei 9%.

Jedoch schloss zuletzt genannte Arbeit nur Erwachsene HIV-Patienten ein. In einer Arbeit von HIRT ET AL⁴⁶ mit 48 Kindern wurden bei 7 Kindern EFV Talspiegel >4.000 ng/ml gemessen. Keines dieser Kinder zeigte unerwünschte Nebenwirkungen auf EFV. So konnte in jener Arbeit kein Zusammenhang zwischen hohen EFV Serumkonzentrationen und Toxizität bestätigt werden. In einer anderen Untersuchung in Thailand an 63 Kindern hatten 10 Kinder EFV Spiegel >4.000 ng/ml. Davon zeigten drei Kinder psychiatrische Komorbiditäten (30%). Bei den 45 Kindern mit Serumspiegeln im therapeutischen Bereich zeigten nur 2 (4%) psychiatrische Komorbiditäten.⁴⁴

5.2.2 Kasuistik EFV

Bei dem dargestellten Fall waren mit 9.676 ng/ml und 36.340 ng/ml die Serumkonzentrationen deutlich oberhalb des therapeutischen Bereichs (1.000-4.000 ng/ml)³⁴ gemessen worden. Der Patient war untergewichtig und gab Nachlässigkeit bei der ART-Einnahme in den letzten 7 Tagen an. Der Patient wurde gleichzeitig mit einer Rifampicin-haltigen tuberkulostatischen Medikation behandelt. Bemerkenswert ist, dass selbst bei fraglicher Compliance ein exorbitant hoher Spiegel gemessen wurde. Bei dem hier dargestellten Patienten zeigten sich eine Reihe von Begleitfaktoren, für die sich in der vorliegenden Arbeit eine Assoziation mit nicht-therapeutischen EFV-Serumkonzentrationen darstellen ließ.

Es konnte aufgrund der verfügbaren Daten nicht abschließend geklärt werden, wodurch die hohen EFV-Spiegel verursacht wurden. In der durchgeführten Polymorphismus-Testung zeigten sich keine genetischen Faktoren, die Störungen im Metabolismus von Efavirenz erklären könnten. Der dargestellte Fall zeigt, dass es bei Patienten, die multimorbide sind und Ko-Medikation einnehmen, aufschlussreich sein kann, mithilfe von EFV-Spiegelmessungen die tatsächliche Substanzexposition anzuzeigen.

5.3 Serumkonzentrationen und mögliche Einflussfaktoren

5.3.1 Geschlecht

Es konnten in vorliegender Arbeit bei Kindern in Südafrika unter LPV-haltiger ART bei 3 von 14 Mädchen und bei 2 von 11 Jungen Serumkonzentrationen $<C_{\min}$ gemessen werden. Das Durchschnittsalter bei den Patienten unter LPV Therapie betrug 2,2 Jahre. Dass sich bei männlichen und weiblichen pädiatrischen Patienten ähnliche Serumkonzentrationen einstellten, deckt sich mit dem Ergebnis einer großen Arbeit, die 323 HIV positive Kinder in Südafrika einschloss. Es fanden sich keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern bezüglich des virologischen Versagens der antiretroviralen Therapie, der Therapieadhärenz und der Höhe der LPV-Spiegel.⁴⁷

Bei den Patienten unter EFV-haltiger ART konnten jedoch Unterschiede zwischen den Geschlechtern dargestellt werden. Weibliche Patienten hatten zu 90 % Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich und männliche Patienten zeigten nur in 57 % der Fälle Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich. Das durchschnittliche Alter betrug 9,3 Jahre. Eine Analyse von Medikamentenspiegeln bei 174 Kindern in Kamerun zeigte, dass Kinder des männlichen Geschlechts eine 2,2-fache höhere Wahrscheinlichkeit für virologisches Versagen hatten als weibliche Kinder. Jedoch war in der multivariablen Analyse männliches Geschlecht nicht signifikant mit schlechter Adhärenz assoziiert.⁴⁸ Auch bei Erwachsenen zeigte eine Studie mit 2.838 HIV-Patienten in Malawi eine signifikant höhere Mortalität bei männlichen Patienten im Vergleich zu weiblichen,⁴⁹ genau wie eine Arbeit mit 3.919 erwachsenen HIV-Patienten in Simbabwe.⁵⁰ Jedoch wird in den Studien an Erwachsenen, in denen männliche Patienten eine höhere Mortalität aufwiesen, auch gezeigt, dass sich männliche Patienten in einem späteren HIV-Stadium vorstellten, die ART später begannen und eine niedrigere Therapieadhärenz zeigten als weibliche HIV-Patientinnen.^{49,50}

Ein Unterschied zwischen den Kindern mit LPV oder EFV bestand im Lebensalter. Bei einem Durchschnittsalter von 2,2 Jahren wie bei den Kindern unter LPV Therapie kam es bei der Medikamentenapplikation vor allem auf die Bezugspersonen an. Bei Patienten im durchschnittlichen Alter von 9,3 Jahren, wie bei den Kindern unter EFV-haltiger ART, fiel den Patienten selbst schon eine wichtigere Rolle bei der Einnahme

der Medikamente zu. Die Ergebnisse aus dem pädiatrischen Bereich legen nahe, dass weniger pharmakokinetische, vielmehr aber soziologische und verhaltensspezifische Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Patienten für die angeführten Varianzen verantwortlich sein könnten.

5.3.2 WHO-Stadium

Es zeigte sich in dieser Arbeit, dass sowohl bei EFV als auch bei LPV in höheren WHO-Stadien der Patienten tendenziell niedrigere Serumkonzentrationen erreicht wurden als in niedrigeren WHO-Stadien. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam für Nevirapin eine Arbeit von ZOUFALY ET AL⁴⁸, der eine Assoziation zwischen WHO-Stadium 3 oder 4 und subtherapeutischen Spiegeln feststellen konnte. Auch lückenhafte Therapieadhärenz <75% war bei LPV-, EFV- oder Nevirapin-haltiger ART mit WHO Stadium 3 und 4 assoziiert, wobei ein fortgeschrittenes HIV-Stadium auch Folge mangelnder Adhärenz sein kann. Wenn bei Kindern eine HIV-Infektion im WHO Stadium 3 und 4 assoziiert ist mit mangelnder Therapieadhärenz und niedrigeren Medikamentenspiegeln, können diese durch Messungen der Serumkonzentrationen detektiert werden.

5.3.3 Dauer der ART

Unter den Patienten mit LPV-haltiger Therapie gab es keine signifikanten Unterschiede bei den erreichten Serumkonzentrationen zwischen denjenigen, die sich im ersten Therapiejahr befanden, und solchen, die schon länger als 12 Monate LPV einnahmen. Im Gegensatz dazu zeigten Patienten, die schon länger als 12 Monate eine EFV-haltige ART einnahmen, öfter EFV-Spiegel im therapeutischen Bereich (81%) als jene, die sich im ersten Jahr unter EFV-haltiger ART befanden. Dieses Ergebnis deckt sich mit der Beobachtung einer Datenauswertung von 688 Patienten in Südafrika, die zeigte, dass die Therapieadhärenz mit der Zeit zunimmt.⁵¹ Wenn die Therapieadhärenz zunimmt, müsste somit das Risiko für Serumkonzentrationen im subtherapeutischen Bereich abnehmen.

Das Risiko für virologisches Versagen ist geringer je länger eine Suppression der Virusreplikation besteht, zeigte auch eine Arbeit mit 1.305 erwachsenen HIV-Patienten.⁵² In dieser Arbeit wurden die Serumspiegel der Virustatika allerdings nicht

gemessen. Jedoch kann man bei erfolgreicher viraler Suppression davon ausgehen, dass die Medikamentenspiegel in einem effektiven Bereich lagen.

Im Sinne von TDM wäre demnach besonders in der initialen Phase einer ART das Messen von Serumkonzentrationen sinnvoll, bis eine kontinuierliche virale Suppression erreicht ist. Jedoch zeigten Studien auch, dass die Exposition von Proteaseinhibitoren bei gleicher Dosis über die Zeit abnimmt.^{53,54} Eine Arbeit mit 6 pädiatrischen Probanden zeigte bei 4 Probanden über einen Zeitraum von 2 Jahren eine Abnahme der Exposition des PI, in dem Fall Indinavir. Bei 3 Patienten war die Area under the curve unterhalb des beschriebenen Zielwertes. Bei 2 dieser 3 Patienten nahm die Viruslast im Verlauf wieder zu auf Werte über 500 Kopien/ml.²⁷ Wenn die Exposition von PI über die Zeit abnimmt und somit das Risiko für ein Therapieversagen und Resistenzentwicklungen steigt, dann kann die regelmäßige Messung von Plasmaspiegeln über einen langen Zeitraum im Sinne von TDM bei Kindern ihre Berechtigung haben.

5.3.4 CD4-Lymphozyten und Viruslast

Bei den Patienten unter LPV-haltiger ART zeigten sich weder zwischen Patienten mit niedrigen und hohen CD4-Lymphozytenzahlen noch zwischen Patienten mit hoher oder niedriger Viruslast unterschiedliche LPV-Serumkonzentrationen.

Demgegenüber hatten Patienten unter EFV-haltiger ART mit CD4-Lymphozyten >350 Zellen/ml zu 80 % therapeutische Spiegel, während die Patienten mit CD4-Lymphozyten <350 Zellen/ml nur zu 40 % therapeutische Spiegel aufwiesen.

Ähnlich war es mit dem virologischen Parameter der Viruslast. Patienten mit einer Viruslast unterhalb der Nachweisgrenze zeigten höhere EFV-Spiegel als Patienten mit einer Viruslast >400 Kopien/ml. Bei EFV waren also nicht-therapeutische Spiegel assoziiert mit einer niedrigen Anzahl an CD4-Lymphozyten und einer hoher Viruslast. Auffällige Werte des immunologischen Monitorings, des virologischen Monitorings und des Drug Monitorings waren miteinander assoziiert.

In einer Arbeit von TUCKER ET AL⁵⁵ wurde dargestellt, dass bei Erwachsenen das klinische Monitoring zusammen mit einem immunologischen Monitoring (Messen der

CD4-Lymphozyten) einem alleinigen klinischen Monitoring in der Therapiekontrolle überlegen war. Jedoch zeigte sich bei Kindern in seiner Arbeit dieser Vorteil nicht.

Es wurde in vielen anderen Arbeiten herausgearbeitet, dass die Anzahl der CD4-Lymphozyten ein wichtiger Indikator für Mortalität sei. Hohe Zahlen von CD4-Lymphozyten prognostizieren eine niedrige Mortalität bei HIV positiven Kindern in ressourcenschwachen Regionen.⁵⁶ In der bereits zitierten Arbeit von ZOUFALY ET AL⁴⁸ wurden Nevirapin-, EFV- und LPV-Spiegelmessungen bei 174 HIV positiven Kindern durchgeführt. Zwischen Kindern mit einer Viruslast <200 Kopien/ml und Kindern mit einer Viruslast >200 Kopien/ml fand sich kein signifikanter Unterschied in den erreichten Medikamentenspiegeln. Es wurden zu gleichen Teilen therapeutische und nicht-therapeutische Spiegel gemessen. Es wurde in jener Arbeit auch herausgestellt, dass Kinder mit subtherapeutischen Spiegeln ein viermal höheres Risiko für virologisches Versagen hatten, als Kinder mit therapeutischen Spiegeln.⁴⁸ Es zeigten Patienten in der Studie von FABBIANI ET AL⁵⁷ mit therapeutischen Medikamentenspiegeln signifikant häufiger eine effektiv supprimierte HI-Viruslast <50 Kopien/ml als Patienten mit subtherapeutischen Spiegeln.

Neben dem immunologischen und virologischen Monitoring kann das Drug Monitoring zusätzliche Informationen über die adäquate Substanzexposition der individuellen ART geben.

5.3.5 Komorbiditäten, Komedikation und Nebenwirkungen

In vorliegender Arbeit wurden bei 17 % der Kinder ohne Komorbiditäten, bei 21 % der Kinder mit Komorbiditäten und bei 30 % der Kinder mit Diarrhö LPV-Serumkonzentrationen <C_{min} gemessen. Auch die mittlere LPV-Serumkonzentration war bei den Kindern mit Diarrhö am niedrigsten. Die häufigsten Nebenwirkungen bei einer Therapie mit LPV waren in klinischen Studien Diarrhö, Übelkeit, Erbrechen. Außerdem traten Hypertriglyceridämien und Hypercholesterinämien auf. In den klinischen Zulassungsstudien Phase II bis Phase IV brachen 7 % der Patienten vorzeitig aufgrund von behandlungsbedingter Nebenwirkungen die Studie ab.¹⁰

In einer Metaanalyse, die Daten von 1.469 Patienten auswertete, war die Inzidenz von Diarrhö als Nebenwirkung einer Therapie mit Lopinavir 15,5 %.⁵⁸ Gastroenteritis mit Diarrhö und Erbrechen ist ein häufiges Krankheitsbild in der Pädiatrie. In Südafrika sei

die Diarrhö der achthäufigste Grund für eine Vorstellung in einem Zentrum für medizinische Grundversorgung. Bei Kindern unter 5 Jahren sei Diarrhö die sechsthäufigste Diagnose bei einem Besuch in einer basismedizinischen Sprechstunde, stellte MASH ET AL⁵⁹ nach der Analyse von 18.856 Konsultationsgründen dar. Inwieweit die Diarrhö bei den 10 Kindern unserer Arbeit Symptom einer Gastroenteritis oder Nebenwirkung von Lopinavir war, ist im Nachhinein nicht in Gänze zu klären. Es zeigten sich in dieser Arbeit bei Patienten mit Diarrhö/Erbrechen gehäuft niedrige LPV-Serumkonzentrationen. Bei Diarrhö sind die Dünndarmpassagezeiten und das Resorptionsverhalten des Darmes verändert. Außerdem ist bei Kindern mit Erbrechen eine suffiziente orale Applikation von Medikamenten erschwert. Hieraus kann sich das vermehrte Auftreten niedriger Serumkonzentrationen erklären.

Unter einer Therapie mit EFV zeigten stationäre pädiatrische Patienten in 71 % der Fälle nicht-therapeutische Spiegel, im Gegensatz zu ambulanten pädiatrischen Patienten (4%). Allgemein zeigten 14 % der Kinder ohne Komorbiditäten Serumkonzentrationen im nicht-therapeutischen Bereich, bei Kindern mit Komorbiditäten waren es 35 %.

Bei Komorbiditäten und oft daraus resultierender Komedikation ist das Risiko für Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Medikamenten erhöht. Insbesondere bei Efavirenz und Lopinavir, die maßgeblich über das CYP P450 System in der Leber metabolisiert werden, bietet diese Art von Metabolismus Raum für diverse Interaktionen. Beispielsweise wird bei der Komedikation mit dem tuberkulostatischen Medikament Rifampicin, einem starken Induktor von CYP P450 3A4, der Abbau von Lopinavir oder Efavirenz beschleunigt, wodurch es zu niedrigen Serumspiegeln kommen kann.²³ In dieser Arbeit nahmen zwei Patienten der EFV-Gruppe eine Rifampicin-haltige tuberkulostatische Komedikation ein. Einer zeigte eine subtherapeutische Efavirenz-Serumkonzentration, der zweite zeigte eine Efavirenz-Serumkonzentration >4.000 ng/ml. Da Rifampicin ein Induktor von Cyp 3A4 ist und Efavirenz als Substrat über Cyp 3A4 metabolisiert wird, ist bei gleichzeitiger Einnahme eine niedrige Serumkonzentration von Efavirenz zu erwarten.²⁴

Auch verschiedene Antimykotika und diverse Antibiotika können durch Inhibition von CYP P450 Enzymen in den Metabolismus antiretroviraler Medikamente eingreifen. So kann es bei Komorbiditäten, die einer antibiotischen oder antimykotischen Therapie

bedürfen, zu veränderten Serumspiegeln kommen. Außerdem kann durch eine höhere Anzahl an Tabletten, die eingenommen werden sollen, die Adhärenz beeinträchtigt sein.⁶⁰

5.3.6 Untergewicht

Bei Untergewicht wären ohne Dosisanpassung eher erhöhte Serumkonzentrationen von Medikamenten zu erwarten. In der Pädiatrie werden viele Medikamente gewichtsadaptiert dosiert. Ob nach dem pädiatrischen Dosierungsstandard eine Tendenz zur Überdosierung bzw. erhöhten Serumkonzentrationen oder erniedrigten Serumkonzentrationen besteht, bleibt zu untersuchen.

Bei Kindern unter LPV-haltiger ART waren die LPV-Serumkonzentrationen der untergewichtigen Kinder im Mittel niedriger als die der normalgewichtigen Kinder. Nur zwei von neun untergewichtigen Kindern zeigten jedoch Serumkonzentrationen unterhalb von C_{min} . Bei den Kindern unter EFV-halter ART zeigten 43 % der untergewichtigen Kinder Serumkonzentrationen im nicht-therapeutischen Bereich, es kamen sowohl sub- als auch supratherapeutische Serumkonzentrationen vor.

Der Effekt von Untergewicht auf die Pharmakokinetik und den virologischen Erfolg von Lopinavir und Efavirenz wurde in einer Arbeit von BARTELINK ET AL⁶¹ untersucht. Von 330 Kindern in Uganda waren 22 % untergewichtig. Es zeigte sich in einer populations-pharmakokinetischen Auswertung kein signifikanter Unterschied zwischen nicht-untergewichtigen und untergewichtigen Kindern in Bezug auf die Pharmakokinetik von Efavirenz. Es gab bei LPV einen Trend zu niedrigeren Serumkonzentrationen bei untergewichtigen Kindern im Vergleich zu normalgewichtigen Kindern. Es wird in der Fachinformation empfohlen, LPV zu den Mahlzeiten einzunehmen¹⁰, da die Resorption durch fetthaltige Speisen gesteigert wird. Bei Untergewicht aufgrund von Nahrungsmangel wird unter Umständen die Medikation nicht verlässlich zusammen mit fetthaltigen Speisen eingenommen. Dies kann wiederum zu einer geringeren Resorption von Lopinavir führen.

Insgesamt konnte bei Kindern in Uganda eine niedrigere EFV- und LPV-Exposition gesehen werden verglichen mit der Exposition von Kindern in ressourcen-starken Ländern.⁶¹ Ernährungsunsicherheit kann zu Untergewicht und zu einer geringeren Therapieadhärenz in der ART führen.^{62,63} In der Untersuchung von HIRT ET AL⁴⁷ zeigte

sich, dass ein Körpergewicht von weniger als 15 kg mit nicht therapeutischen EFV-Konzentrationen assoziiert war.

5.4 Therapeutisches Drug Monitoring in der antiretroviralen Therapie

TDM ist ein etabliertes Verfahren, um eine medikamentöse Therapie zu individualisieren, indem Serumkonzentrationen gemessen werden und diese mit dem therapeutischen Bereich des spezifischen Medikaments verglichen werden. Anschließend kann unter Berücksichtigung der gemessenen Serumkonzentrationen eine Adjustierung der Dosis erfolgen.⁶⁴

Für eine effiziente ART müssen Patienten eine lebenslange medikamentöse Therapie einnehmen. Wünschenswert wäre hierfür der Zugang zu einer Therapie mit optimiertem Nebenwirkungsprofil, möglichst wenig bis keine Toxizität bei gleichzeitiger Vermeidung von Resistenzentwicklung.

Voraussetzungen für den sinnvollen Einsatz von TDM sind zunächst, dass zwischen dem Plasmaspiegel und dem therapeutischen und/oder toxischen Effekt eine nachgewiesene Assoziation besteht. Außerdem sollte eine ausgeprägte inter-individuelle Variabilität in der Pharmakokinetik der Substanz vorhanden sein, die intra-individuelle Variabilität sollte demgegenüber möglichst gering sein. Zusätzlich muss ein kosteneffektives Testsystem zur Verfügung stehen, das mit dem Einsatz eines kleinen Blutvolumens in kurzer Zeit eine valide Plasmakonzentrationsbestimmung der Substanz liefern kann. Mithilfe der pharmakokinetischen Daten sollte eine therapeutische Breite definiert sein, wobei der Einsatz von TDM vor allem bei einer geringen therapeutischen Breite zu erwägen ist.^{57,65}

Einige antiretrovirale Medikamente qualifizieren sich für den Einsatz von TDM. Für die NNRTI und PI besteht eine Korrelation zwischen systemischer Wirkstoffkonzentration und antiretroviraler Wirkung.⁶⁶ Die NRTI hingegen werden intrazellulär durch eine Phosphorylierung aktiviert, deshalb korrelieren die Plasmakonzentrationen der Wirkstoffe zu schwach mit dem Therapieerfolg. Die Messung der intrazellulären Spiegel ist jedoch technisch sehr aufwendig und deshalb in der ambulanten Routine nicht anwendbar.^{67,68}

In der klinischen Praxis ist es oft schwer, Prädispositionen für subtherapeutische Medikamentenspiegel zu identifizieren. Statistisch wurde bisher noch kein signifikanter Unterschied in der Beeinflussung der Pharmakokinetik der antiretroviralen Medikamente durch Geschlecht, Alter, BMI, Schwangerschaft, Infektion mit Hepatitis B oder C, ethnischer Zugehörigkeit oder Komedikation mit CYP P450 aktivierenden Substanzen gefunden.⁵⁷ In vorliegender Arbeit konnten einige Assoziationen zwischen Medikamentenexposition und Ko-Faktoren wie Untergewicht, WHO-Stadium, Komorbiditäten, Anzahl der CD4-Lymphozyten und Viruslast gefunden werden.

5.4.1 Kontrolle der Therapieadhärenz

In der vorliegenden Arbeit fielen bei 4 Kindern mit mangelnder Therapieadhärenz nicht nachweisbare LPV-Serumkonzentrationen auf. Mangelnde Therapieadhärenz war in einer Arbeit von ZOUFALY⁴⁸ mit fortgeschrittenem HIV Stadium assoziiert. Wie bereits oben erwähnt, ist die Therapieadhärenz der Patienten unter ART besonders wichtig, da mangelnde Adhärenz rasch zu Resistenzentwicklung und Therapieversagen führen kann. Es gibt keinen Goldstandard zur Messung der Adhärenz. Zur Verfügung stehen die eigenen Angaben, die Angaben des Erziehungsberechtigten oder das Zählen der Tabletten. Das Therapeutische Drug Monitoring stellt eine Möglichkeit der direkten Messung von Adhärenz dar. In einer Studie von VAN ROSSUM ET AL⁶⁹ wurden bei 40 Kindern unter Proteaseinhibitor-haltiger ART regelmäßig Plasmaspiegel gemessen. Es konnte gezeigt werden, dass Plasmaspiegelmessungen hilfreich sein können bei der Detektion von mangelnder Therapieadhärenz bei PI-haltiger ART.

In einer Arbeit von RAKHMANINA ET AL²⁶ wurde der Fall eines weiblichen Teenagers beschrieben. Hier wurden im Rahmen von EFV-Serumspiegelmessungen mehrmals subtherapeutische Serumkonzentrationen gemessen und damit mangelnde Therapieadhärenz detektiert. Nach wiederholten Beratungsgesprächen konnte die Therapieadhärenz verbessert werden. Der Autor rät zum Einsatz von TDM bei Patienten in der Pubertät.

Niedrige Medikamentenspiegel können mangelnde Adhärenz und / oder individuelle Besonderheiten in der Pharmakokinetik aufzeigen und damit einen frühen Hinweis auf Therapieversagen geben.⁷⁰

5.4.2 Pharmakokinetik bei Kindern

Die Pharmakokinetik (PK) beschreibt die Absorption, die Distribution, die Metabolisierung und die Exkretion eines Medikamentes im Körper. Zwischen der PK von Erwachsenen und Kindern zeigen sich deutliche Differenzen. Viele Parameter verändern sich bei dem ständigen Wachstum und der dynamischen Entwicklung während der Kindheit. Kinder unterscheiden sich von Erwachsenen hinsichtlich des pH-Werts im Magen, der Magenentleerungszeiten, der intestinalen Motilität und der Sekretion von Gallensäuren. Diese Faktoren beeinflussen die Absorption eines Wirkstoffes. Für die Distribution der Wirkstoffe fällt ins Gewicht, dass sich das Gesamtkörperwasser von circa 75% bei Neugeborenen im Laufe der Zeit auf 55% bei Erwachsenen reduziert. Bei den Enzymaktivitäten die Metabolisierung betreffend treten signifikante Unterschiede bei Kindern auf. So liegt die frühkindliche Aktivität der P450 Enzyme im Vergleich zu einem Erwachsenen nur bei 20-70%. Die Exkretion wird maßgeblich determiniert durch die Nierenfunktion, welche im Alter von 3-5 Jahren ihre Spitzenwerte erreicht.²⁷

5.4.3 Therapeutisches Drug Monitoring bei Kindern

Aufgrund dieser Besonderheiten der Pharmakokinetik bei Kindern, die sich über den Wachstumsprozess hinweg ständig verändert, erscheint ein Monitoring der Therapie sinnvoll. In einer Veröffentlichung betonte BURGER⁷¹ die Bedeutung einer lebenslang durchzuführenden antiretroviralen Therapie. Von allen HIV-infizierten Individuen sind Kinder zweifelsfrei die, die so viele Behandlungsoptionen wie möglich für ihre nahe und ferne Zukunft brauchen.

In der aktuellen Leitlinie zur Therapie der HIV-Infektion für Deutschland und Österreich wird der Einsatz von TDM bei Multimedikation, erheblichem Unter- oder Übergewicht, Nebenwirkungen, Therapieversagen (DD Resistenz), ungenügender Therapieadhärenz, intestinalen Resorptionsstörungen, Leberfunktionsstörungen, Therapie in der Schwangerschaft, Einsatz neuer Substanzen und ART bei Kindern empfohlen.⁷²

5.4.4 Therapeutisches Drug Monitoring in der Therapie mit Efavirenz

RAKHMANNINA ET AL²⁶ stellte zwei pädiatrische Patienten unter EFV-haltiger ART vor, bei denen hohe EFV-Spiegel im Rahmen einer Serumspiegelmessung für Studienzwecke auffielen. Keiner der beiden Patienten klagte über Beschwerden, die

zum Nebenwirkungsprofil von EFV passen. Bei beiden Patienten wurde durch eine genetische Untersuchung ein CYP 2B6 516 TT Polymorphismus gefunden. Aufgrund des Polymorphismus trat ein Defekt in der Metabolisierung von Efavirenz auf und es kam infolge dessen zu erhöhten EFV-Serumspiegeln. Daraufhin wurde die EFV Dosis der ART reduziert.

Eine andere Untersuchung hat den Zusammenhang zwischen hohen EFV-Spiegeln, CYP 2B6 Polymorphismus und Medikamenten-assoziiertes Leberschädigung bei Patienten in Äthiopien beschrieben. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass durch Messungen von EFV-Serumkonzentrationen die zu verabreichenden Dosen reduziert und Leberschädigungen verhindert werden können.⁷³ FAYET MELLO ET AL⁷⁴ berichtete über erfolgreiches Therapeutisches Drug Monitoring in der Therapie mit EFV. Es konnte aufgrund von TDM die EFV-Dosis reduziert, somit Kosten gespart und neurologische Nebenwirkungen verhindert werden.

5.5 Limitationen

Für die Interpretation der Daten der vorliegenden Untersuchung sind die im Folgenden aufgeführten Punkte zu beachten.

5.5.1 Datenerhebung

Die Erhebung der Daten für vorliegende Arbeit fand in der klinischen Routine statt, abseits vom Setting klinischer Studien. Erst während des Besuchs in der Tagesklinik wurden die Erziehungsberechtigten gefragt, ob sie einem Einschluss in die Untersuchung zustimmten. So wurde das vorherige Einnahmeverhalten nicht durch das Wissen um eine Serumkonzentrationsmessung beeinflusst und es konnte ein realistisches Bild der Serumkonzentrationen im Alltag gewonnen werden. Bei der Datenerhebung wurde der Zeitpunkt der letzten Medikamenteneinnahme von den Erziehungsberechtigten berichtet. Die letzte Medikamenteneinnahme vor der Blutentnahme wurde nicht durch medizinisches Personal beobachtet.

Es konnte gezeigt werden, welche Serumkonzentrationen sich in der Realität bei Kindern im Tygerberg Hospital in Kapstadt/Südafrika einstellen.

Es lagen bei den Messungen der Serumkonzentrationen bei einem Großteil der Fälle keine Talspiegel vor. Bei der Interpretation der LPV-Serumkonzentrationen ist dies

kritisch zu sehen, da bei kurzer Halbwertszeit zwischen Spitzen- und Talspiegel ein relevanter Konzentrationsunterschied vorliegt. Nach durchschnittlichen pharmakokinetischen Werten sinkt C_{\max} mit 9.600 ng/ml innerhalb von 7,8 Stunden auf C_{\min} mit 5.500 ng/ml. T_{\max} beträgt 4,2 Stunden.^{31,32} Während dies bei der Interpretation von EFV-Spiegeln wegen der niedrigen Varianz zwischen Spitzen- und Talspiegeln aufgrund der großen Halbwertszeit von 40 bis 55 Stunden^{15,45} zu vernachlässigen ist, muss es bei der Interpretation der Serumkonzentrationen von LPV, das eine niedrige HWZ von 5 bis 6 Stunden hat¹⁰, kritisch bedacht werden.

Ein häufiger Grund für subtherapeutische Serumkonzentrationen ist mangelnde Therapieadhärenz. Als Instrument zur Erfassung der Therapieadhärenz stand in dieser Arbeit lediglich das Interview mit den Patienten und deren Erziehungsberechtigten zur Verfügung.

5.5.2 Studienpopulation

Vorliegende Arbeit bezieht sich auf eine Studie mit 53 Kindern. Ein Teil von ihnen bekam eine ART mit dem Proteaseinhibitor LPV (n=29), die anderen bekamen eine ART mit dem NNRTI EFV (n=24). Somit handelte es sich bei den zu untersuchenden Gruppen um eine relativ kleine Anzahl von Probanden. Werden die Ergebnisse wiederum in Untergruppen aufgeteilt, wird die Anzahl der untersuchten Patienten noch kleiner. In vorliegender Arbeit gibt es zum Beispiel 9 untergewichtige Patienten unter LPV-Therapie. Zum Teil wurden in vorliegender Arbeit auch Einzelfälle beschrieben. Die Herausforderung der kleinen Fallzahlen in klinische Erhebungen ist typisch für die Pädiatrie. Denn den Rahmenbedingungen für wissenschaftliche Erhebungen sind durch ethische Gesichtspunkte berechtigter Weise bei Kindern enge Grenzen gesetzt. Vorliegende Arbeit konnte dennoch zeigen, welche Serumkonzentrationen bei Kindern in der klinischen Routine gemessen wurden. Es konnten einige mögliche Einflussfaktoren auf die Serumkonzentrationen dargestellt werden.

Das dargestellte Patientenkollektiv zeigte ein durchschnittliches Bild der pädiatrischen HIV-Patienten unter ART, bei denen aufgrund einer klinischen Indikation Blut im Rahmen eines Krankenhausaufenthaltes oder eines ambulanten Besuchs abgenommen wurde.

5.6 Ausblick

Therapeutisches Drug Monitoring ist ein etabliertes Instrument, um eine medikamentöse Therapie zu individualisieren. Unzureichende Serumkonzentrationen von PI oder NNRTI in der ART könnten durch TDM identifiziert und die Exposition der antiretroviralen Therapie bei pädiatrischen Risikopatienten verbessert werden.

Für die Entwicklung der Richtwerte für TDM in der ART müssen die verschiedenen Halbwertzeiten (HWZ) der untersuchten Substanzen berücksichtigt werden. Das 12-stündige Einnahmeschema von LPV wird beispielsweise in der klinischen Praxis ungenügend unterbrochen. Dies sollte bei der Implementierung von Serumspiegelmessungen bei Kindern in der klinischen Routine beachtet werden.

Bei EFV, das eine lange Halbwertzeit hat und nur einmal täglich eingenommen werden muss, wäre die Implementierung eines TDM-Schemas in der klinischen Praxis leichter vorstellbar ohne die Einnahmezeiten der Medikamente maßgeblich verändern zu müssen.

Es sind mehr klinische Studien notwendig, um einerseits Risikopopulationen zu definieren und andererseits die Rolle der Dosissteigerung von Medikamenten bei niedrigen Serumkonzentrationen zu ermitteln.

6 Zusammenfassung

In der antiretroviralen Therapie bei Kindern bleibt die Rolle von Therapeutischem Drug Monitoring bisher unklar.

Es war Ziel vorliegender Arbeit, bei Kindern unter antiretroviraler Therapie (ART) in Südafrika die Lopinavir (LPV) und Efavirenz (EFV) Serumkonzentrationen in der klinischen Routine zu messen und Risikofaktoren für unzureichende Medikamentenexposition zu identifizieren. Zu diesem Zweck wurde eine prospektive Studie im Tygerberg Hospital, Stellenbosch durchgeführt. Siebenundfünfzig Serumkonzentrationen von 53 Patienten wurden mit einer etablierten High-performance liquid Chromatography (HPLC) Methode im Universitätsklinikum Würzburg gemessen.

Für Efavirenz wird in der Literatur ein therapeutischer Bereich von 1.000-4.000 ng/ml empfohlen. Bei Lopinavir wurden die Serumkonzentrationen vorliegender Arbeit ins Verhältnis zu der pharmakokinetischen Größe C_{min} von 5.500 ng/ml gesetzt.

Es wurde das Serum von 53 HIV-infizierten Kindern im Alter von 0,2-15,8 Jahren untersucht. Insgesamt zeigten 12 Kinder Serumspiegel außerhalb des therapeutischen Bereichs bei EFV oder kleiner C_{min} bei LPV.

Eine LPV-haltige ART nahmen 29 der Kinder ein (Medianalter 1,83 Jahre). Eine Messung der Konzentration von Lopinavir zeigte eine mittlere Serumkonzentration von 8.618 ± 6018 (n.n.-24.629) ng/ml. 17% der LPV-Serumkonzentrationen waren kleiner C_{min} . Bei der Untersuchung folgender Faktoren zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der mittleren Serumkonzentrationen und keine Assoziation mit Serumkonzentrationen $<C_{min}$: Geschlecht, Dauer der ART <12 Monate, Anzahl der CD4-Lymphozyten, Viruslast, Komorbiditäten und angegebene Therapieadhärenz.

Kinder im fortgeschrittenen HIV-Stadium nach WHO Stadium IV zeigten mit 6.817 ± 4.273 ng/ml niedrigere LPV-Serumkonzentrationen als Kinder in WHO Stadien I, II, III mit 11.331 ± 6.819 ng/ml. Der Unterschied war allerdings nicht signifikant ($p=0,074$).

Tendenziell waren die LPV-Serumkonzentrationen bei Kinder mit Untergewicht ($n=9$) mit 6.859 ± 4.322 ng/ml niedriger als bei normalgewichtigen Kindern ($n=9$) mit einer

mittleren LPV-Serumkonzentration von 10.542 ± 6.275 ng/ml. Der Unterschied war aber nicht signifikant ($p=0,133$). Es fiel weiterhin auf, dass 3 von 10 Kinder mit gastroenteritischen Symptomen in den letzten sieben Tagen Serumkonzentrationen $<C_{\min}$ zeigten. Es zeigte sich allerdings kein signifikanter Unterschied zu Kindern ohne gastroenteritische Symptome. ($p=0,358$)

Ein ART-Regime mit dem Nicht-Nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitor Efavirenz nahmen 24 der untersuchten Kinder ein (Medianalter 9,3 Jahre). Die Zeit von EFV-Einnahme bis zur Blutentnahme variierte zwischen 12 und 19 Stunden. Es konnte eine große Varianz mit $156-36.340$ ng/ml gemessen werden. Im Mittel war die Serumkonzentration 4.049 ± 6862 ng/ml. 27% der Serumkonzentrationen lagen außerhalb des therapeutischen Bereichs.

Für folgende Faktoren zeigte sich keine signifikante Assoziation mit nicht-therapeutischen EFV-Serumkonzentrationen: Geschlecht, WHO Stadium, Dauer der ART >12 Monate, HI-Viruslast, Komorbiditäten, Untergewicht und angegebene Therapieadhärenz.

Kinder mit CD4-Lymphozyten <350 Zellen/ μ l Blut zeigten signifikant häufiger Serumkonzentrationen außerhalb des therapeutischen Bereichs als Kinder mit >350 CD4-Lymphozyten/ μ l Blut. ($p=0,016$)

Bei dem Vergleich des Anteils der EFV-Serumkonzentrationen im therapeutischen Bereich zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen ambulant vorgestellten versus hospitalisierten Patienten ($p=0.009$). Es ließ sich eine Assoziation zwischen hospitalisierten Patienten und nicht-therapeutischen Serumkonzentrationen finden.

Es zeigte sich außerdem bei Kindern, die eine Rifampicin-haltige tuberkulostatische Therapie gleichzeitig zur ART einnahmen, ein Trend zu nicht therapeutischen EFV-Serumkonzentrationen ($p=0,076$) bei sehr kleiner Fallzahl.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, zusammen mit den Ergebnissen anderer Studien, dass mithilfe von Therapeutischem Drug Monitoring von Efavirenz und Lopinavir Risikosituationen für Therapieversagen oder Medikamententoxizität frühzeitig erkannt werden können.

7 Literaturverzeichnis

1. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868-71.
2. World Health Organization. Global data on HIV/AIDS. (27.07.2010, available from http://www.who.int/hiv/data/global_data/en/index.html.)
3. Nazziwa R, Sekadde M, Kanyike F, et al. Efavirenz poisoning in a 12 year old HIV negative African boy. *Pan Afr Med J* 2012;12:86.
4. UNAIDS. Statistics of SubSaharan Africa. (27.07.2010, available from <http://www.unaids.org/en/CountryResponses/Regions/SubSaharanAfrica.asp>.)
5. South African government. Statistics South Africa 2009. (27.7.2010, available from www.statssa.gov.za.)
6. United States of America, Department of Health and Human Services, National Institutes of Health. Diagram of the HIV virus. 2005. (26.1.2018, available from <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:HI-Virion-en-2.png>)
7. United States of America, Department of Health & Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults 1993. (28.03.2015, available from <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00018871.htm>.)
8. World Health Organization. WHO Case Definitions of HIV for Surveillance and Revised Clinical Staging and Immunological Classification of HIV-Related Disease in Adults and Children. 2007; 12-39.

9. United States of America, Department of Health & Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults 1993. (28.03.2015, available from <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00018871.htm>.)
10. Abbott. Product information Kaletra. 2011. (05.01.2012, available from www.abbott.ch.)
11. The Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration. Life expectancy of individuals on combination antiretroviral therapy in high-income countries: a collaborative analysis of 14 cohort studies. *Lancet* 2008;372:293-9.
12. Cabrera SE, Santos D, Valverde MP, et al. Influence of the cytochrome P450 2B6 genotype on population pharmacokinetics of efavirenz in human immunodeficiency virus patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:2791-8.
13. Heil SG, van der Ende ME, Schenk PW, et al. Associations between ABCB1, CYP2A6, CYP2B6, CYP2D6, and CYP3A5 alleles in relation to efavirenz and nevirapine pharmacokinetics in HIV-infected individuals. *Ther Drug Monit* 2012;34:153-9.
14. Ngaimisi E, Mugusi S, Minzi OM, et al. Long-term efavirenz autoinduction and its effect on plasma exposure in HIV patients. *Clin Pharmacol Ther* 2010;88:676-84.
15. Bristol-Myers Squibb. Product information Efavirenz. (22.12.2011, available from www.sustiva.com)
16. Lakhman SS, Ma Q, Morse GD. Pharmacogenomics of CYP3A: considerations for HIV treatment. *Pharmacogenomics* 2009;10:1323-39.

17. Croxtall JD, Lyseng-Williamson KA, Perry CM. Raltegravir. *Drugs* 2008;68:131-8.
18. Republic of South Africa, South African National Department of Health. Clinical Guidelines for the management of HIV in children. 2nd edition 2010. (06.01.2012, available from www.samedical.org.)
19. University of Cape Town, Faculty of Health Sciences, The Division of Clinical Pharmacology. South African Medicines Formulary (SAMF). Health and Medical Publishing Group of the South African Medical Association 2008;9:336-9.
20. Mitsuya H, Broder S. Inhibition of the in vitro infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus (HTLV-III/LAV) by 2',3'-dideoxynucleosides. *Proc natl Acad Sci U S A* 1986;83:1911-5.
21. Deutsche AIDS Gesellschaft e.V. Deutsch-Österreichische Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion. Stand 2014. (25.04.2015, available from www.daignet.de)
22. Guengerich FP. Cytochromes P450, drugs, and diseases. *Mol Interv* 2003;3:194-204.
23. Cohen K, van Cutsem G, Boulle A, et al. Effect of rifampicin-based antitubercular therapy on nevirapine plasma concentrations in South African adults with HIV-associated tuberculosis. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:389-93.
24. L'Homme R F, Nijland HM, Gras L, et al. Clinical experience with the combined use of lopinavir/ritonavir and rifampicin. *AIDS* 2009;23:863-5.
25. Zanger UM, Klein K, Saussele T, et al. Polymorphic CYP2B6: molecular mechanisms and emerging clinical significance. *Pharmacogenomics* 2007;8:743-59.

26. Rakhmanina NY, van den Anker JN, Soldin SJ, et al. Can therapeutic drug monitoring improve pharmacotherapy of HIV infection in adolescents? *Ther Drug Monit* 2010;32:273-81.
27. Fraaij PL, Rakhmanina N, Burger DM, et al. Therapeutic drug monitoring in children with HIV/AIDS. *Ther Drug Monit* 2004;26:122-6.
28. Robert Koch Institut. HIV-AIDS in Deutschland - Eckdaten der Schätzung. Epidemiologische Kurzinformation des Robert Koch-Instituts Stand 2013. (15.04.2014, available from www.rki.de)
29. Langmann P, Klinker H, Schirmer D, et al. High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of HIV-1 protease inhibitors indinavir, saquinavir and ritonavir in plasma of patients during highly active antiretroviral therapy. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1999;735:41-50.
30. Langmann P, Schirmer D, Vath T, et al. High-performance liquid chromatographic method for the determination of HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz in plasma of patients during highly active antiretroviral therapy. *Journal of chromatography B, Biomedical sciences and applications* 2001;755:151-6.
31. Murphy RL, Brun S, Hicks C, et al. ABT-378/ritonavir plus stavudine and lamivudine for the treatment of antiretroviral-naïve adults with HIV-1 infection: 48-week results. *AIDS* 2001;15:F1-9.
32. Hurst M, Faulds D. Lopinavir. *Drugs* 2000;60:1371-9
33. Kappelhoff BS, Crommentuyn KM, de Maat MM, et al. Practical guidelines to interpret plasma concentrations of antiretroviral drugs. *Clin Pharmacokinet* 2004;43:845-53.

34. Marzolini C, Telenti A, Decosterd LA, et al. Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. *AIDS* 2001;15:71-5.
35. Verweel G, Burger DM, Sheehan NL, et al. Plasma concentrations of the HIV-protease inhibitor lopinavir are suboptimal in children aged 2 years and below. *Antivir Ther* 2007;12:453-8.
36. Chadwick EG, Pinto J, Yogev R, et al. Early initiation of lopinavir/ritonavir in infants less than 6 weeks of age: pharmacokinetics and 24-week safety and efficacy. *Pediatr Infect Dis J* 2009;28:215-9.
37. Chadwick EG, Capparelli EV, Yogev R, et al. Pharmacokinetics, safety and efficacy of lopinavir/ritonavir in infants less than 6 months of age: 24 week results. *AIDS* 2008;22:249-55.
38. Back D, Gibbons S, Khoo S. An update on therapeutic drug monitoring for antiretroviral drugs. *Ther Drug Monit* 2006;28:468-73.
39. Jullien V, Urien S, Hirt D, et al. Population analysis of weight-, age-, and sex-related differences in the pharmacokinetics of lopinavir in children from birth to 18 years. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:3548-55.
40. Chadwick EG, Rodman JH, Britto P, et al. Ritonavir-based highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus type 1-infected infants younger than 24 months of age. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24:793-800.
41. Estripeaut D, Mosser J, Doherty M, et al. Mortality and Long-Term Virologic Outcomes in Children and Infants Treated with Lopinavir/Ritonavir. *Pediatr Infect Dis J* 2013;32(12):e466-72.

42. Viljoen M, Gous H, Kruger HS, et al. Efavirenz plasma concentrations at 1, 3, and 6 months post-antiretroviral therapy initiation in HIV type 1-infected South African children. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2010;26:613-9.
43. Ren Y, Nuttall JJ, Egbers C, et al. High prevalence of subtherapeutic plasma concentrations of efavirenz in children. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;45:133-6.
44. Puthanakit T, Tanpaiboon P, Aulpibul L, et al. Plasma efavirenz concentrations and the association with CYP2B6-516G >T polymorphism in HIV-infected Thai children. *Antivir Ther* 2009;14:315-20.
45. Adkins JC, Noble S. Efavirenz. *Drugs* 1998;56:1055-64.
46. Hirt D, Urien S, Olivier M, et al. Is the recommended dose of efavirenz optimal in young West African human immunodeficiency virus-infected children? *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:4407-13.
47. Shiao S, Kuhn L, Strehlau R, et al. Sex differences in responses to antiretroviral treatment in South African HIV-infected children on ritonavir-boosted lopinavir- and nevirapine-based treatment. *BMC Pediatr* 2014;14:39.
48. Zoufaly A, Fillekes Q, Hammerl R, et al. Prevalence and determinants of virological failure in HIV-infected children on antiretroviral therapy in rural Cameroon: a cross-sectional study. *Antivir Ther* 2013;18:681-90.
49. Chen SC, Yu JK, Harries AD, et al. Increased mortality of male adults with AIDS related to poor compliance to antiretroviral therapy in Malawi. *Trop Med Int Health* 2008;13:513-9.

50. Takarinda KC, Harries AD, Shiraishi RW, et al. Gender-related differences in outcomes and attrition on antiretroviral treatment among an HIV-infected patient cohort in Zimbabwe: 2007-2010. *Int J Infect Dis* 2015;30:98-105.
51. Maqutu D, Zewotir T, North D, et al. Determinants of optimal adherence over time to antiretroviral therapy amongst HIV positive adults in South Africa: a longitudinal study. *AIDS Behav* 2011;15:1465-74.
52. Lima VD, Bangsberg DR, Harrigan PR, et al. Risk of viral failure declines with duration of suppression on highly active antiretroviral therapy irrespective of adherence level. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010;55:460-5.
53. Huang L, Wring SA, Woolley JL, et al. Induction of P-glycoprotein and cytochrome P450 3A by HIV protease inhibitors. *Drug Metab Dispos* 2001;29:754-60.
54. Gisolf EH, van Heeswijk RP, Hoetelmans RW, et al. Decreased exposure to saquinavir in HIV-1-infected patients after long-term antiretroviral therapy including ritonavir and saquinavir. *AIDS* 2000;14:801-5.
55. Tucker JD, Bien CH, Easterbrook PJ, et al. Optimal strategies for monitoring response to antiretroviral therapy in HIV-infected adults, adolescents, children and pregnant women: a systematic review. *AIDS* 2014;28 Suppl 2:S151-60.
56. Cross Continents Collaboration for Kids Analysis and Writing Committee. Markers for predicting mortality in untreated HIV-infected children in resource-limited settings: a meta-analysis. *AIDS* 2008;22:97-105.
57. Fabbiani M, Di Giambenedetto S, Bracciale L, et al. Pharmacokinetic variability of antiretroviral drugs and correlation with virological outcome: 2 years of experience in routine clinical practice. *J Antimicrob Chemother* 2009;64:109-17.

58. Wegzyn CM, Fredrick LM, Stubbs RO, et al. Diarrhea associated with lopinavir/ritonavir-based therapy: results of a meta-analysis of 1469 HIV-1-infected participants. *J Int Assoc Physicians AIDS Care* 2012;11:252-9.
59. Mash B, Fairall L, Adejayan O, et al. A morbidity survey of South African primary care. *PloS One* 2012;7:e32358.
60. Cohen CJ, Meyers JL, Davis KL. Association between daily antiretroviral pill burden and treatment adherence, hospitalisation risk, and other healthcare utilisation and costs in a US medicaid population with HIV. *BMJ Open* 2013;3:e003028
61. Bartelink IH, Savic RM, Dorsey G, et al. The effect of malnutrition on the pharmacokinetics and virologic outcomes of lopinavir, efavirenz and nevirapine in food insecure HIV-infected children in Tororo, Uganda. *Pediatr Infect Dis J* 2015;34:e63-70.
62. Anema A, Vogenthaler N, Frongillo EA, et al. Food insecurity and HIV/AIDS: current knowledge, gaps, and research priorities. *Curr HIV/AIDS Rep* 2009;6:224-31.
63. Young S, Wheeler AC, McCoy SI, et al. A review of the role of food insecurity in adherence to care and treatment among adult and pediatric populations living with HIV and AIDS. *AIDS Behav* 2014;18 Suppl 5:S505-15.
64. Pretorius E, Klinker H, Rosenkranz B. The role of therapeutic drug monitoring in the management of patients with human immunodeficiency virus infection. *Ther Drug Monit* 2011;33:265-74.
65. Klinker H, Langmann P. Therapeutisches Drug Monitoring in der HIV-Therapie. *AIDS und HIV-Infektionen* 2003. Jäger: AIDS und HIV-Infektionen 2003; 41: 1-17.

66. Colombo S, Telenti A, Buclin T, et al. Are plasma levels valid surrogates for cellular concentrations of antiretroviral drugs in HIV-infected patients? *Ther Drug Monit* 2006;28:332-8.
67. Fraaij PL, van Kampen JJ, Burger DM, et al. Pharmacokinetics of antiretroviral therapy in HIV-1-infected children. *Clin Pharmacokinet* 2005;44:935-56.
68. Burger DM, Aarnoutse RE, Hugen PW. Pros and cons of therapeutic drug monitoring of antiretroviral agents. *Curr Opin Infect Dis* 2002;15:17-22.
69. van Rossum AM, Bergshoeff AS, Fraaij PL, et al. Therapeutic drug monitoring of indinavir and nelfinavir to assess adherence to therapy in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:743-7.
70. Back D, Gatti G, Fletcher C, et al. Therapeutic drug monitoring in HIV infection: current status and future directions. *AIDS* 2002;16 Suppl 1:S5-37.
71. Burger DM. The role of therapeutic drug monitoring in pediatric HIV/AIDS. *Ther Drug Monit* 2010;32:269-72.
72. Deutsche AIDS-Gesellschaft. Deutsch-Österreichische Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion. 2014. (26.1.2018, available from <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/055-001.html>)
73. Yimer G, Amogne W, Habtewold A, et al. High plasma efavirenz level and CYP2B6*6 are associated with efavirenz-based HAART-induced liver injury in the treatment of naive HIV patients from Ethiopia: a prospective cohort study. *Pharmacogenomics J* 2012;12:499-506.
74. Fayet Mello A, Buclin T, Decosterd LA, et al. Successful efavirenz dose reduction guided by therapeutic drug monitoring. *Antivir Ther* 2011;16:189-97.

Anhang

- Lebenslauf
- Publikationsliste
- Publikation
- Studienprotokoll
- Muster der Erhebungsbögen, Informed-consent-Bögen
- Danksagung

09/2013 – 01/2014 Gynäkologie Montpellier/Frankreich
Bugando Medical Centre
Mwanza/Tansania

Ärztliche Weiterbildung

Seit 10/2014 Pädiatrie
Prof.-Hess-Kinderklinik, Bremen

11/2016 – 10/2017 Neonatologie und pädiatrische Intensivmedizin
Klinikum Links der Weser, Bremen

Seit 3/2018 Verbundweiterbildung Pädiatrie in Prof.-Hess-Kinderklinik und
Kinderarztpraxis Bremen Huchting Dres.Hafermann/Meine/Trapp

Dissertation

Seit 2010 Universitätsklinik Würzburg, Innere Medizin, Schwerpunkt Infektiologie, Prof.Klinker
„Lopinavir- und Efavirenz-Serumkonzentrationen bei antiretroviral behandelten HIV-
infizierten Kindern in Südafrika.“

03 – 08/2010 Forschungsaufenthalt im Rahmen eines Graduiertenkollegs an der Universität
in Stellenbosch (Kapstadt/Südafrika)

Stipendien

02/2008 – 05/2014 Konrad-Adenauer-Stiftung

03/2010 – 08/2010 Deutsche Forschungsgesellschaft

06/2013 – 09/2013 Europäische Union: Erasmus

09/2013 – 01/2014 Deutscher Akademischer Austauschdienst

Studienbegleitende Tätigkeiten

04/2007 – 04/2013 Ehrenamtliches Engagement im Asyl-Arbeitskreis der Katholischen
Hochschulgemeinde Würzburg

04/2009 – 02/2013 Assistenz in der Ambulanzsprechstunde für Geflüchtete für die
Missionsärztliche Klinik Würzburg

Bremen, 20.06.2019

Publikationsliste

- M. Schultheiß, S. Kling, M. von Bibra, B. Rosenkranz, H. Klinker
Lopinavir serum concentrations of critically ill infants: a pharmacokinetic investigation in South Africa
Med Microbiol Immunol. 2018 Nov; 207(5-6):339-343.
- M. Zabel, M. von Bibra, K. Jablonka, P. Lasch
Bilirubinencephalopathie bei einem Neugeborenen mit G6PD-Mangel
67. Jahrestagung der Norddeutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin, 13.-14.4.2018, Bremen, Poster 18ndgkj37
- M. von Bibra, P. Kaiser-Labusch, A.-J. Lemke, H.-I. Huppertz
Weichteiltuberkulose am Oberschenkel? – eine Fokussuche.
13. Kongress für Infektionskrankheiten und Tropenmedizin, 15.-18.6.2016, Würzburg, Poster P-178, Abstractband S. 279.
- S. P. Zvada, S. Sy, N. Bauer, M. von Bibra, D. Clemens, H. Klinker, H. Derendorf, B. Rosenkranz
Pharmacokinetics of Efavirenz Among HIV infected South Africans Across Different Age Groups Including Pregnant Women
PAGE (Population Approach group Europe) Meeting 2015, 2.-5.6.2015, Heronissos, Crete, Greece, Abstract II-77
- M. von Bibra, B. Rosenkranz, E. Pretorius, H. Rabie, C. Edson, U. Lenker, M. Cotton, H. Klinker
Are lopinavir and efavirenz serum concentrations in HIV-infected children in the therapeutic range in clinical practice?
Paediatrics and Int Child Health. 2014 May;34(2):138-41.
- M. von Bibra, C. Edson, E. Pretorius, H. Rabie, U. Lenker, B. Rosenkranz, M. Cotton, H. Klinker
Efavirenz-Plasmakonzentrationen im Rahmen der antiretroviralen Therapie bei HIV-infizierten Kindern in Südafrika
5. Deutsch-Österreichischer AIDS-Kongress, 15.-18.06.2011, Hannover, Poster P123, Abstractband S. 93
- B. Rosenkranz, M. von Bibra, C. Edson, H. Rabie, U. Lenker, H. Klinker, M. Cotton
Efavirenz levels in HIV infected children.
6th International Conference on Pharmaceutical and Pharmacological Sciences, 25.-27.09.2011, Durban, South Africa, Vortrag 11.1.11.2, Abstractbook S. 66

Are lopinavir and efavirenz serum concentrations in HIV-infected children in the therapeutic range in clinical practice?

Mirjam von Bibra¹, Bernd Rosenkranz², Erina Pretorius², Helena Rabie³, Claire Edson³, Ulrike Lenker¹, Mark Cotton³, Hartwig Klinker¹

¹Department of Internal Medicine II, Division of Infectious Diseases, University of Wuerzburg Medical Center, Germany, ²Division of Pharmacology, Department of Medicine, University of Stellenbosch, Cape Town 7505, South Africa, ³Department of Paediatrics and Child Health, Stellenbosch University and Tygerberg Children's Hospital, Cape Town, South Africa

Background: In antiretroviral treatment the role of therapeutic drug monitoring via measurement of serum levels remains unclear, especially in children.

Aim: To quantify exposure to LPV and EFV in children receiving therapy in a routine clinical setting in order to identify risk factors associated with inadequate drug exposure.

Method: A prospective study was conducted in a routine clinical setting in Tygerberg Children's Hospital, South Africa. A total of 53 random serum levels were analyzed. Serum concentrations were determined by an established high-performance liquid chromatography method.

Results: Of 53 HIV-infected children treated with lopinavir ($n=29$, median age 1.83 y) or efavirenz ($n=24$, median age 9.3 years), 12 showed serum levels outside the therapeutic range (efavirenz) or below C_{min} (lopinavir). Low bodyweight, rifampicin co-treatment, and significant comorbidity were potential risk factors for inadequate drug exposure.

Conclusion: These findings, together with previous studies, indicate that therapeutic drug monitoring can improve the management of antiretroviral therapy in children at risk.

Introduction

There is little data about the pharmacokinetics of antiretrovirals (ARVs) in children beyond controlled clinical trials performed for regulatory approval. Such studies are usually conducted in clinically stable children. According to South African treatment guidelines, the first-line ARV regimen for children consists of the two nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NRTIs) stavudine or abacavir plus lamivudine, plus either ritonavir-boosted lopinavir (LPV), a protease inhibitor licensed also for children below 3 years of age, or efavirenz (EFV), a non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitor (NNRTI), for older children. Drugs are dosed according to weight bands.¹

Therapeutic drug monitoring (TDM) is a well established tool to adjust dosage for drugs with a narrow therapeutic range, large inter-patient variability and a clear association between drug concentration and therapeutic and/or toxic effects.² This is especially important for children, whose pharmacokinetic

characteristics change continuously during the growth and maturation process leading to changes in drug absorption, distribution, metabolism and excretion and therefore higher inter-individual variability.^{3,4}

Although serum concentrations of LPV and EFV correlate with the efficacy of these drugs,⁵ the role of TDM remains unclear.⁶ The aim of this study was therefore to quantify exposure to LPV and EFV in children receiving therapy whilst in routine care in order to identify risk factors associated with inadequate drug-exposure.

Subjects and Methods

This was a prospective study in children receiving two NRTIs and either LPV for more than 3 days or EFV for more than 8 days. Patients were recruited during hospitalization or as outpatients. The patients were treated according to the South African treatment guidelines for children.¹ Age, sex, weight, height, ethnicity, WHO clinical stage, co-morbidities, co-medication, laboratory results, ARV regimen and time between medication intake and blood sampling were recorded. No follow-up viral load data were available for any of the children. Documentation of

Correspondence to: M von Bibra, Department of Internal Medicine II, Division of Infectious Diseases, University of Wuerzburg Medical Centre, Germany. Email: mirivb@web.de

drug administration depended on the accuracy of the care-giver or nursing personnel.

All blood samples were taken at random time points during routine clinical visits to Tygerberg Children's Hospital, Cape Town. Parents or other care-givers provided information about adherence to ARV treatment during the 7 days before blood sampling, the time of EFV administration the previous evening or the time of LPV administration that morning. Clinical data including co-medication and co-morbidity was extracted from the clinical files or was provided by the parents or care-givers. Adherence was determined by means of interviews.

Laboratory methods

The samples were centrifuged for 10 minutes (4000 rpm, 2177.28 g) and de-activated in a water bath (56°C, 60 min); serum was stored at -80°C until analysis.

LPV and EFV concentrations were determined in the laboratory of the Division of Infectious Diseases, University of Würzburg, Germany by an established high-performance liquid chromatography (HPLC) method.^{7,8} Wavelengths of 220 nm and 254 nm were used for detection.

For treatment-naïve and -experienced adults, LPV plasma levels above 1000 ng/ml⁹ and above 4000 ng/ml respectively,¹⁰ are recommended. C_{max} and C_{min} have been reported to be 9600 ng/ml and 5500 ng/ml.^{11,12} C_{max} and C_{min} in children under 2 years have been reported to be 8,200±2,900 and 3,400±2,100 ng/ml.¹³ As no therapeutic range for LPV has been clearly defined thus far, the interpretation of the LPV concentrations in this study used published C_{min}

levels as cut-off values for adequate drug exposure. The recommended therapeutic range of EFV in adults is between 1000 and 4000 ng/ml,^{10,14} and this was used for interpretation of EFV levels.

The study was approved by the Health Research Ethics Committee of the Faculty of Health Sciences, University of Stellenbosch (no. N09/05/151).

Results

A total of 53 patients aged between 0.2 and 15.8 years treated between March and August 2010 were included in the study population (Table 1). A total of 29 patients were on a PI-based ART-regimen with ritonavir-boosted LPV, and 24 were on an NNRTI-based regimen with EFV. Forty-seven children had severe, WHO stage 3 or 4 disease. The most recent viral load in 20 children was >400 copies/ml. No data on toxicity were available and no symptoms of toxicity were reported. Of 53 care-givers, 40 reported 100% adherence. Thirteen care-givers reported when interviewed that there had been about 2.2 (1.1) [1-4] days within the last 7 when the child had missed a dose.

Reported co-morbidities were gastro-enteritis (10), tuberculosis (6), upper respiratory tract infection (6), pneumonia (5), sepsis (4), candidoses (3), CMV-encephalopathy (2), renal failure (2), abscess on sacrum (1), hepatitis B infection (1), pruritic papular eruption (1), tinea corporis (1) and urinary tract infection (1).

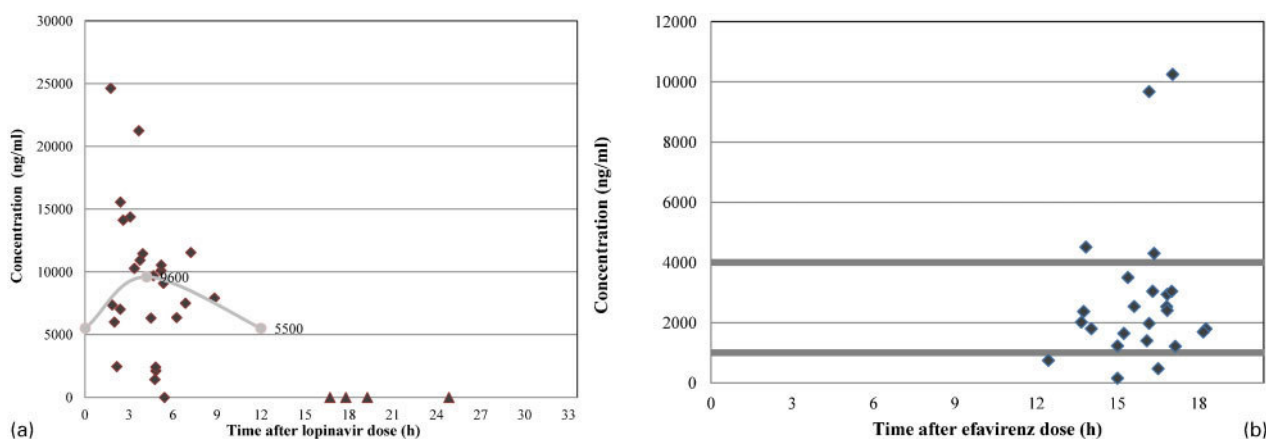
Lopinavir

LPV analysis was performed in 31 blood samples from 29 patients (follow-up levels were available for two children). Their BMI was 16.4 (2.9) k/m² (n=26).

Table 1 Patients' demographic characteristics

		LPV group n=29	EFV group n=24
Age, y	Mean	2.2	9.3
	Median	1.9	9.3
	SD	1.8	3.1
	Range	0.2-7.1	3.7-15.9
Male (%)		41.4	58.3
WHO stage	1	1	1
	2	2	0
	3	10	11
	4	14	12
	Not staged	2	0
Duration of cART, mths	Mean	48	43
	Median	48	12
	SD	17.4	59
	Range	0.1-74.3	0.3-111
CD4 cells (cells/ml)	Mean	1208	840.8 (n=23)
	Median	1213	734 (n=23)
	SD	633.7	569.4 (n=23)
	Range	96-2957	2-1619 (n=23)
CD4 cells (%)	Mean	26	34.6 (n=23)
	Median	27.8	34.6 (n=23)
	SD	10.5	0.8 (n=23)
	Range	9.6-44.4	3.2-72 (n=23)

cART, combination antiretroviral therapy



A: Lopinavir-containing combination antiretroviral therapy (cART) regimen ($n=29$); Pharmacokinetic data reported for lopinavir have been included in the graph for comparison (Hurst 2000, Murphy 2001): C_{max} 9600 ng/ml, C_{min} 5500 ng/ml, T_{max} 4.2 h; \blacklozenge included in analysis; \blacktriangle , excluded from analysis. **B:** Efavirenz-containing cART ($n=24$); therapeutic range for EFV 1000–4000 ng/ml.

Figure 1 Serum concentrations in HIV-infected children at different time points

Seventeen of 29 children were younger than 2 years. LPV was co-administered with RTV in a syrup formulation (Kaletra®) in 28 patients, and a 7-year-old girl took LPV co-administered with RTV formulated as a tablet. The mean (SD) [range] LPV dose was 147.5 (31.5) [80–200] mg ($n=26$) corresponding to a mean 324.3 (60.1) [259.3–502.8] mg/m² twice daily ($n=26$). The co-administered ritonavir dose was 80.75 (13) mg/m² ($n=26$) given twice daily. All patients who received co-administration of rifampicin ($n=3$) were on a double-boosted LPV regimen with additional intake of 1.1 (0.1) ml ritonavir syrup [88 (8) mg ritonavir] twice daily, corresponding to a dose of 13.2 (1.9) [10.7–15] mg/kg or 264.9 (16.7) [244.9–282.3] mg/m².

The sampling times ranged from 0.83 to 28.4 hrs after LPV administration. All LPV levels taken within 12 hours of medication were included in the analysis. Sampling times for the analysis group ranged from 0.83 to 8.83 hrs. LPV plasma concentrations showed considerable variability between 0 and 24,629 ng/ml [mean (SD) 8618 (6018) ng/ml].

As shown in Fig. 1A, 17% of LPV serum levels were below published C_{min} levels. 29% of patients with co-morbidities had levels less than C_{min} , and 4 of 9 patients with gastro-enteritis within 6 days before blood sampling showed levels below C_{min} . No serum level below C_{min} was detected in the six children with no co-morbidity. Three of ten underweight patients had levels less than C_{min} .

Efavirenz

The analysis of EFV was performed in 26 blood samples from 24 patients. Their BMI was 15.4±3 kg/m² ($n=23$) and their age was between 3.7 and 15.9 years. The mean (SD) [range] EFV dose was 319 (89) [200–600] mg/day corresponding to a mean 18.3 (16.9) [10.8–20.0] mg/kg/day formulated as capsules ($n=22$) or as tablets ($n=2$). Blood sampling times

ranged from 12 to 19 hrs after EFV administration. EFV serum concentrations showed great variability, with a mean (SD) of 4049 (6862) ng/ml [156–36,340 ng/ml].

EFV serum concentrations are shown in Fig. 1B. Amongst all samples, 27% showed serum levels outside this range, with 12% below and 15% above the therapeutic range. Of seven patients hospitalized for treatment of opportunistic infections such as tuberculosis ($n=4$) or encephalopathy ($n=2$), three showed levels below and two above the therapeutic range. Of two patients receiving a rifampicin-containing tuberculosis treatment regimen, one was below and one above the therapeutic range. Of five patients on a regimen without rifampicin for treatment of tuberculosis (e. g. for multi drug resistant tuberculosis), four were within the therapeutic range and one below. Of six underweight patients, three were within the therapeutic range, two below and one above. Samples from all eight patients with no co-morbidity were within the therapeutic range.

Altogether, 17% of LPV serum levels were lower than published C_{min} values, and 27% of EFV levels were outside the recommended therapeutic range.

Discussion

In this study, a remarkable proportion of children treated with lopinavir or efavirenz showed drug exposure beyond expected levels. Low bodyweight, rifampicin co-treatment, gastro-enteritis, and other significant co-morbidities were associated with inadequate drug exposure.

For LPV, inter-person variability was found to be large in several studies. In a pediatric study, C_{min} was reported to be inadequate in seven (30%) of 23 children.¹⁵ Children <2 years are at the greatest risk of sub-therapeutic LPV levels. Two studies showed C_{min} values in infants aged 2 weeks to 6 months to be

1400 ng/ml¹⁶ and 2370 ng/ml,¹⁷ which is lower than the data for C_{\min} of 3200 ng/ml published by a pharmaceutical company.¹³ Some authors recommend using TDM in all children treated with LPV.¹⁵

A wide variation in EFV levels has been well documented with up to 42% of South African children having sub-therapeutic levels with mid-dose sampling.¹⁸ The influence of CYP2B6 516G>T polymorphism on EFV concentrations was demonstrated by Viljoen *et al.*¹⁸ This could predispose to the development of resistance. For interpretation of the data obtained in this study, the following should be taken into account: mainly for practical reasons, blood levels of both ARVs were taken at random times after drug administration instead of at trough levels. Whereas this is not a major concern for EFV owing to its low peak/trough fluctuations because of the long half-life of 40–55 hrs,^{19,20} this should be taken into account in interpreting the levels of LPV which has a shorter half-life of 5–6 hrs.¹³ In clinical practice, random blood samples are often taken for drugs with a short half-life, and guidance on interpreting the results should be developed with this in mind. For LPV, the relationship between toxicity and high blood levels remains unclear. For clinical Therapeutic Drug Monitoring (TDM) of this drug, a therapeutic range remains to be defined.

In this study, underweight and opportunistic infections were associated with sub-therapeutic drug levels. Gastro-enteritis in the LPV group and rifampicin-containing TB regimen in the EFV-group were identified as potential risk factors for sub-optimal drug exposure. More data are needed to define the population at risk and ascertain the role of increasing dosage where exposure is low. TDM may contribute to improving ARV exposure in at-risk children.

References

- 1 Republic of South Africa. Clinical Guidelines for the Management of HIV in children, 2nd edn, 2010: South African National Department of Health, 2010. Available from: www.samedical.org
- 2 Pretorius E, Klinker H, Rosenkranz B. The role of therapeutic drug monitoring in the management of patients with human immunodeficiency virus infection. *Ther Drug Monit.* 2011 Jun;33(3):265–74. PubMed PMID: 21566505. Epub 2011/05/14. eng.
- 3 Fraaij PL, Rakhmanina N, Burger DM, de Groot R. Therapeutic drug monitoring in children with HIV/AIDS. *Ther Drug Monit.* 2004;26:122–6.
- 4 Anderson BJ, Holford NH. Mechanism-based concepts of size and maturity in pharmacokinetics. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 2008;48:303–32.
- 5 Colombo S, Telenti A, Buclin T, Furrer H, Lee BL, Biollaz J, *et al.* Are plasma levels valid surrogates for cellular concentrations of antiretroviral drugs in HIV-infected patients? *Ther Drug Monit.* 2006;28:332–8.
- 6 Van Heeswijk RP. Critical issues in therapeutic drug monitoring of antiretroviral drugs. *Ther Drug Monit.* 2002;24:323–31.
- 7 Langmann P, Schirmer D, Vath T, Zilly M, Klinker H. High-performance liquid chromatographic method for the determination of HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz in plasma of patients during highly active antiretroviral therapy. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2001;755:151–6.
- 8 Langmann P, Klinker H, Schirmer D, Zilly M, Bienert A, Richter E. High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of HIV-1 protease inhibitors indinavir, saquinavir and ritonavir in plasma of patients during highly active antiretroviral therapy. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1999;735:41–50.
- 9 Back D, Gibbons S, Khoo S. An update on therapeutic drug monitoring for antiretroviral drugs. *Ther Drug Monit.* 2006;28:468–73.
- 10 Kappelhoff BS, Crommentuyn KM, de Maat MM, Mulder JW, Huitema AD, Beijnen JH. Practical guidelines to interpret plasma concentrations of antiretroviral drugs. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43:845–53.
- 11 Murphy RL, Brun S, Hicks C, Eron JJ, Gulick R, King M, *et al.* ABT-378/ritonavir plus stavudine and lamivudine for the treatment of antiretroviral-naïve adults with HIV-1 infection: 48-week results. *AIDS.* 2001;15:F1–9.
- 12 Hurst M, Faulds D. Lopinavir. *Drugs.* 2000;60:1371–9, discussion 80–1.
- 13 Abbott. Product Information. Kaletra®. 2011; Available from: www.abbott.ch
- 14 Marzolini C, Telenti A, Decosterd LA, Greub G, Biollaz J, Buclin T. Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. *AIDS.* 2001;15:71–5.
- 15 Verweel G, Burger DM, Sheehan NL, Bergshoeff AS, Warris A, van der Knaap LC, *et al.* Plasma concentrations of the HIV-protease inhibitor lopinavir are suboptimal in children aged 2 years and below. *Antivir Ther.* 2007;12:453–8.
- 16 Chadwick EG, Pinto J, Yogev R, Alvero CG, Hughes MD, Palumbo P, *et al.* Early initiation of lopinavir/ritonavir in infants less than 6 weeks of age: pharmacokinetics and 24-week safety and efficacy. *Pediatr Infect Dis J.* 2009;28:215–19.
- 17 Chadwick EG, Capparelli EV, Yogev R, Pinto JA, Robbins B, Rodman JH, *et al.* Pharmacokinetics, safety and efficacy of lopinavir/ritonavir in infants less than 6 months of age: 24 week results. *AIDS.* 2008;22:249–55.
- 18 Viljoen M, Gous H, Kruger HS, Riddick A, Meyers TM, Rheeders M. Efavirenz plasma concentrations at 1, 3, and 6 months post-antiretroviral therapy initiation in HIV type 1-infected South African children. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2010;26:613–19.
- 19 Bristol-Myers Squibb. Product Information. Efavirenz®. 2001; Available from: www.sustiva.com
- 20 Adkins JC, Noble S. Efavirenz. *Drugs.* 1998;56:1055–64, discussion 65–6.

CLINICAL TRIAL PROTOCOL

Title of project

The impact of therapeutic drug monitoring (TDM) on antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS

Applicants/affiliation

Stellenbosch University
Faculty of Health Sciences
South Africa

Prof. B. Rosenkranz
Prof. M. Cotton
Dr. J. Taljaard
E. Pretorius

Department of Pharmaceutics
University of Florida
USA

Prof. H. Derendorf
Dr. S.N. Sabarinath

Division of Infectious Diseases
Center for Infectious Diseases DGI
University of Würzburg Medical Centre
Germany

Prof. H. Klinker

INTRODUCTION

Treatment with antiretroviral drugs contributed to the improvement of life of many HIV-infected patients in recent years, but unfortunately antiretroviral therapy is not without problems. Major problems associated with antiretroviral therapy (ART) include low adherence to antiretroviral drugs, drug resistance, toxicity, pharmacokinetics and pharmacological interactions. Many studies have shown that the pharmacokinetics of antiretroviral drugs is of great importance for the efficacy and safety of therapy and also for its influence on the development of toxicity. In the case of HIV infection, viral replication must be continuously suppressed and drug levels must therefore be maintained constantly above the concentration required to inhibit viral replication. Otherwise, residual replication may increase the patient's risk of developing drug resistant virus strains and subsequently treatment failure. For instance, resistance to Non Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs) can develop through a single mutation in the Reverse Transcriptase-(RT-) gene within a few days. Thus, analysis of the exposure-response curves for both efficacy and toxicity allows identification of a therapeutic window. By maintaining plasma drug concentrations within this window, patients should be able to achieve an optimal balance between efficacy and safety.

The emerging evidence of the link between drug exposure and antiviral efficacy as well as toxicity has begun to focus attention on the role of monitoring plasma drug levels in patients receiving ART (M. Boffito *et al.*, 2005). Therapeutic drug monitoring (TDM) uses drug concentrations to individualise and optimise therapy by dosage adjustments and many clinicians have advocated for the use of therapeutic drug monitoring in HIV antiretroviral therapy. TDM might be a useful tool in the following clinical situations: poor adherence to therapy, intestinal absorption disorder, impaired liver function, multi-medication (drug interactions), unsatisfactory efficacy of therapy, patients who fail treatment with 2nd line drugs, in children and infants, during pregnancy, protease inhibitor (PI)-NNRTI-associated side effects and interactions, in pharmacogenetics, once daily regimens and in clinical studies.

A special problem in treating HIV patients is the co-infection with tuberculosis (TB) which is very frequent in South Africa. Human immunodeficiency virus (HIV) infection has led to a global increase in the incidence of tuberculosis. Almost one third of African patients with TB develop the disease as a result of HIV infection, and TB is the main cause of death in African patients with HIV/acquired immune deficiency syndrome (AIDS) (Sharma *et al.*, 2005). The standard drugs used against TB in South Africa include rifampicin, isoniazid, ethambutol and pyrazinamide. Rifampicin remains to be one of the most important tuberculostatic drugs and is a strong inducer of the cytochrome p-450. Thus, patients on an antiretroviral treatment

with NNRTI and PIs are at risk for decreased NNRTI-/PI plasma concentrations (Fletcher *et al.*, 2002).

A co-formulation of lopinavir and ritonavir (Kaletra®) has been developed for clinical use. The poor oral uptake of lopinavir, coupled with its extensive and rapid metabolism by the cytochrome P450 (CYP) 3A4 isoenzyme in the liver, precludes its use as a single PI in antiretroviral regimens. Ritonavir is a potent inhibitor of hepatic CYP3A4 and also inhibits drug-transporting cellular efflux proteins such as P-glycoprotein (Pgp). Therefore, the co-administration of lopinavir with a low dose of ritonavir, significantly increases plasma lopinavir concentrations to values that are associated with adequate suppression of viral load. The combination of two PIs in one capsule decreases total pill burden, which may increase adherence and patient acceptance. It has been recommended that the lopinavir/ritonavir (Kaletra®) dose should be increased when used in combination with the NNRTIs such as efavirenz and nevirapine. The reason for this is explained by the interaction between lopinavir/ritonavir and these NNRTIs. These drugs share common metabolic pathways. Both NNRTIs are metabolized by CYP3A4 and both act as CYP3A inducers and therefore may influence the lopinavir plasma drug levels (Crommentuyn *et al.*, 2005).

The last years have brought enormous advances in both basic and clinical research on HIV disease. Despite of the foregoing, the rate of HIV-positive patients that fails to reach or maintain durable virological suppression under antiretroviral therapy might be as high as 50 %. Therefore new tools to improve antiretroviral drug efficacy are currently needed (Ivanovic *et al.*, 2008). The Würzburg group has developed several new methods to determine plasma concentrations of PIs (lopinavir and ritonavir) and NNRTIs (nevirapine, efavirenz), using High Pressure Liquid Chromatography/HPLC and Gas chromatography/GC (P. Langmann *et al.*, 2002, 2006). Plasma concentrations of antiretroviral agents vary markedly among individuals given the same dose, sometimes by more than 10-fold (Barry *et al.*, 1998). Some studies have shown that a substantial proportion of patients may have subtherapeutic PI levels. Probably the most important reason for the variability of PI and NNRTI plasma concentrations is their extensive metabolism by liver microsomes and the influence of p-glycoprotein, a multidrug transporter system. Suboptimal drug concentrations correlate significantly with the risk of HIV treatment failure. It has been clearly demonstrated previously that a better control of viral replication is achieved by pharmacologically guided therapy.

AIM

Multiple factors may lead to elevated or subtherapeutic PI and NNRTI levels, causing toxicity or treatment failure. Children have different pharmacokinetics than adults and therefore children's responses cannot always be predicted from adults (FDA website, 2009). We therefore plan to use therapeutic drug monitoring to study the pharmacokinetics of certain PIs and NNRTIs in infants, children and adults and to describe a possible relationship between anti-retroviral (ARV) drug pharmacokinetics and certain covariates/patient characteristics. The PIs and NNRTIs that will be studied include the following: nevirapine, efavirenz, lopinavir and ritonavir. The results of this study will provide evidence-based guidance for antiretroviral treatment and the covariates/patient characteristics that may influence optimal antiretroviral therapy.

The more specific aims of this study are to determine:

- Pharmacokinetics of the nevirapine, efavirenz, lopinavir and ritonavir and their resulting plasma concentration
- The correlation of pharmacokinetics (PK) of the studied drugs with their efficacy and safety
- The appropriate dose of lopinavir/ritonavir combination in this patient population (assumption: current recommendation is possibly too low?)
- The appropriate dose of nevirapine, efavirenz, lopinavir/ritonavir in combination regimen with rifampicin in this patient population
- Adherence/compliance of the study population to the studied ARVs
- Influence of diabetes on ART
- Influence of drug induced hepatitis on ART

Blood samples will be stored for potential use for pharmacogenetics (P450 isoenzymes) and resistance testing at a later stage.

SIGNIFICANCE

The data derived from this study will be used to provide guidance to future patients from different ages and with different influencing covariates/patient characteristics as to the most appropriate dose for each of the studied antiretroviral drugs, and also in combination with rifampicin. The outcomes will help to identify noncompliance (when the patient does not take the medication regularly as prescribed), to identify the effect of drug interactions and help to tailor dosages of the studied drugs to ensure efficacy and safety in a specific patient.

METHOD

Study design

This is a prospective study

Inclusion criteria

HIV-infected adults, adolescents (12-18 years), children (2-12 years), infants (1 month-2 years) and neonates (< 1 month) who needs hospitalization and who are on specific ARD's (any of the following: nevirapine, efavirenz, lopinavir and ritonavir) will be recruited from Tygerberg Hospital. This includes special populations or patients that are diagnosed with the following:

- Preterm neonates
- ICU patients
- Patients with TB (on rifampicin)
- Patients with diarrhoea
- Patients with protein energy malnutrition
- Patients suffering from diabetes
- Patients with drug induced hepatitis whose ARD treatment may be temporality stopped

A dedicated nurse (which will be supported by medical students from Würzburg) will be appointed for assessing the hospital patients at Tygerberg and for the blood sampling of the patients. A MSc. student will also be appointed to help with the administration of the study.

The study population may possibly be expanded to include outpatients from adult HIV clinics at TBH and Delft, who have routine phlebotomies every 6 months. Three extra blood samples (3 ml each) will be taken on the day of their routine blood sampling, to determine the plasma concentrations of the ARVs the patient are taking at that current stage. A dedicated nurse (who will be supported by medical students from Würzburg as available) will be appointed for assessing the patients at Tygerberg and Delft HIV Clinics and for the blood sampling of patients.

Exclusion criteria

Patients whose medical condition is such as to make the drawing of blood inadvisable. Also patients (or parents or legal guardians in the case of children and legal guardians in the case of ICU patients that are unable to communicate) who are unwilling to give permission to participate in the study.

Blood specimens

Often, 2-3 routine clinical blood samples per day are taken from hospitalized patients. These sampling times will be used for the testing of plasma drug concentrations for our study. For the purpose of the study a total of three blood samples will be taken from each patient over his/her full stay in hospital. These three extra blood samples (3 ml each) will be taken from adults, adolescents (12-18 years) and children (2-12 years) on the time of routine clinical venepuncture to minimize discomfort to the patient. Special consideration will be given to the amount of blood taken from infants (1 month-2 years), neonates (< 1 month) and children (under 12 years of age). The study will restrict the blood sampling of this part of the study population to the weight and circulating blood volume of the children and neonates of various ages. The number of blood samples and the blood sample volumes of preterm neonates will be restricted to 1 blood sample of 1 ml and of full-term neonates to a maximum of 2 blood samples of 1 ml. It will be ensured that the blood sampling of the study in combination with clinical venepuncture does not exceed the maximum allowable sample volume of the patients (Table 1).

	Weight (kg)	Normal daily fluid requirement (ml)	Circulating blood volume (ml)	Maximum allowable sample volume over 2 weeks (ml)
Age				
Preterm neonate	1.5	144	120	3.6
Full-term neonate	4	384	144	9.6
Child (3 years)	15	1 250	320	36
Child (12 years)	40	1 920	1 200	96

Table 1. Average reference weights and volumes of children representing various age groups. (Abdel Rahman *et al.*, 2007)

Further consideration will be given to patients with diarrhoea or any other patient whose medical condition restricts blood sampling. The antiretroviral drug specimens will be centrifuged and be stored in the Pharmacology Division's -70 °C freezer until it is shipped to Würzburg and analyzed. The rifampicin specimens will be analyzed at the Division of Pharmacology (Stellenbosch).

Sample size

It is envisaged to enrol at least 50 patients to this study. An interim will be performed after 50 patients have been enrolled to the study. Thereafter, the exact sample size of the study will then be determined.

Site

Blood sampling will be performed at Tygerberg Hospital.

Screening

Patients will be recruited when meeting the inclusion criteria. When a patient who fulfills the inclusion criteria is admitted to Tygerberg hospital the research nurse will be informed and inform the patient, or parent/legal guardian about the study. If the patient/parent/legal guardian agrees, the patient/parent/legal guardian will be notified about the informed consent and be given the necessary explanations.

Methods

The determination of plasma levels will be performed by High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) and Gas-Chromatography (GC) as described by Langmann *et al.* (2002, 2006).

Data recording and management

Each patient will be allocated a study specific randomization number and the following data will be recorded for each patient on a case report form (CRF1) at the time of admittance to the study:

- Current HAART regimen
- Concurrent drug therapy, including over-the-counter and herbal preparations
- Description of the usual method of ARV dosing, as well as the brand name of the drugs being used
- Estimated times of the last three ARV doses according to parental or patient recall
- Age
- Gender
- Weight
- Height
- Nutritional classification

The following information will also be obtained from the patient's clinical file:

- Latest viral load and CD4/CD8 count (with date and time)
- Latest serum creatinine (with date)
- Serum albumin (with date)
- Significant past medical history and parameters related to toxicity e.g. liver function tests

At the time of each pharmacokinetic study (taking of a blood sample) the following data will be recorded for each patient on a patient specific case report form (CRF2):

- Patient randomization number
- Exact time of the last dose of ARD or rifampicin
- Exact time of venepuncture
- Current HAART regimen and generic drug that patient is taking

In this study no specific drug or medical device will be investigated or tested on patients. Any potential study-related adverse events will be reported to the Principal- or Sub-investigators.

Data Monitoring

Monitoring for data integrity will be performed quarterly and at the end of the study by the Division of Pharmacology (Stellenbosch).

Patient confidentiality and anonymity:

To protect patient confidentiality, especially the patients' HIV status, a study number will be assigned to each patient. Only the study number will be used as a reference in the database, to protect patient confidentiality. The study number and name will be kept in a separate database. The electronic database will be password-protected and access restricted to the study investigators. The blood samples will be allocated a sample barcode and linked to the patient through the individual subject barcode. Personal information will only be found on the consent form, which will be stored separately from all other anonymous patient information, including the CRF. As the proposed project is a co-operation between Stellenbosch University, University of Florida and University of Würzburg Medical Centre, data will be also transmitted to these universities under strict obedience of data protection. The reporting on patients from this study in any type of manuscript will be done anonymously.

Laboratory method

The plasma concentration of nevirapine, efavirenz, lopinavir and ritonavir will initially be performed in Würzburg. It is intended to develop the assays for ARV determination also in the Division of Pharmacology (Stellenbosch) by a Master Student as part of an International Research Training Group (IRTG) program. The samples may furthermore be stored to include pharmacogenetics (P-450, p-GP) and resistance testing by Würzburg as a second step of this study. The plasma concentration of rifampicin will be determined by the Division of Pharmacology (Stellenbosch). A material transfer agreement will be obtained for the transfer of blood samples.

The population PK evaluation will be performed by Division of Pharmacology (Stellenbosch University), in consultation with the Department of Pharmaceutics, University of Florida.

Statistical method

The population pharmacokinetic method as described by Barrett *et al.* (2005) and Sheiner and Ludden (1992) will be used to perform the pharmacokinetic (PK) evaluation. This statistical method will generate population pharmacokinetic data using a sparse sampling scheme taken from a large number of individuals from the same population. This will be done by the Department of Pharmaceutics (University of Florida) and the Division of Pharmacology (Stellenbosch University).

ETHICAL CONSIDERATIONS

Written informed consent will be obtained from each patient/parent/legal guardian (in the case of children or ICU patients who are unable to communicate) when submitted to hospital. The patient information and consent forms will be available in English, Afrikaans and Xhosa.

Patients taking part in this study will not receive feedback about their drug plasma levels, since the plasma samples will be stored for a few weeks to a few months before being analyzed. If however the later results of the drug plasma concentration of specific patients show non-compliance to their ART or if virus resistance is established, the patients will be informed and necessary support will be given to such a patient.

This study will deliver benefit to future patients on the studied ARV's and rifampicin, since the pharmacokinetic data and covariates that influence antiretroviral drug therapy will serve as guidance for safe and efficacious ART in the future.

This study will be conducted according to internationally accepted ethical standards and guidelines.

FUNDING AND TIMELINE

Partial funding will be provided by departmental funds. In addition, a MSc. student fellowship has been applied for. Additional funding requests will be made. A detailed budget is attached (Appendix 1).

It is estimated that the study will take approximately 2 years to complete. We plan to start collecting specimens in 2009.

REFERENCES

S.M. Abdel-Rahman, M.D. Reed, T.G. Wells, G.L. Kearns, Considerations in the rational design and conduct of phase ½ pediatric clinical trials: avoiding the problems and pitfalls, *Clin. Pharmacol. Ther.* 2007; 81(4): 483-494.

J.S. Barrett, L. Labbé, M. Pfister, Application and impact of population pharmacokinetics in the assessment of antiretroviral pharmacotherapy, *Clin. Pharmacokin.* 2005; 44: 591-625.

M.G. Barry, C. Merry, J. Lloyd, K. Halifax, P. Carey, F. Mulcahy, D.J. Back, Variability in through plasma saquinavir concentrations in HIV patients: a case for therapeutic drug monitoring, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1998; 45: 501-2.

M. Boffito, E. Acosta, D. Burger, C.V. Fletcher, C. Flexner, R. Garaffo, G. Gatti, M. Kurowski, C.F. Perno, G. Peytavin, M. Regazzi, D. Back, Current status and future prospects of therapeutic drug monitoring and applied clinical pharmacology in antiretroviral therapy, *Antivir. Ther.* 2005;10: 375-92.

K.M.L. Crommentuyn, B.S. Kappelhoff, J.W. Mulder, A.T.A. Mairuhu, E.C.M. Van Gorp, P.L. Meenhorst, A.D.R. Huitema, J.H. Beijnen, Population pharmacokinetics of lopinavir in combination with ritonavir in HIV-1-infected patients, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2005; 60 (4): 378-389.

FDA 2009. Should your child be in a clinical trial?

<http://www.fda.gov/consumer/updates/pediatrictrial101507.html>

C.V. Fletcher, P.L. Anderson, T.N. Kakuda, T.W. Schacker, K. Henry, C.R. Gross, R.C. Brundage, Concentration-controlled compared with conventional antiretroviral therapy for HIV infection, *AIDS.* 2002; 16: 551-60.

J. Ivanovic, E. Nicastrì, P. Ascenzi, R. Bellagamba, E. De Marinis, S. Notari, P.L. Pucillo, V. Tozzi, G. Ippolito, P. Narciso, Therapeutic Drug Monitoring in the Management of HIV-Infected Patients, *Curr. Med. Chem.* 2008; 15 (19): 1925-1939.

P. Langmann, D. Schirmer, T. V  th, S. Desch, M. Zilly, H. Klinker, Rapid determination of nevirapine in human plasma by gas chromatography, *J. Chromatogr.* 2002; B 767, 69-74.

P. Langmann, M. Zilly, R. Winzer, H. Klinker, Therapeutic Drug Monitoring: A Tool to Individualize Highly Active Antiretroviral Therapy in HIV Infected Patients, *Curr. Pharmaceut. Anal.* 2006; 2: 205-217.

S.K. Sharma, A. Mohan, T. Kadiravan, HIV-TB coinfection: epidemiology, diagnosis & management, *Indian J. Med. Res.* 2005; 121 (4): 550–567.

L.B. Sheiner, T.M. Ludden, Population pharmacokinetics/dynamics, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1992; 32: 185-209.

Pat. -No.			
CTC-No.			

The impact of therapeutic drug monitoring (TDM) on antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS

DATE

D	D	M	M	Y	Y

PATIENT CHARACTERISTICS

Date of birth

D	D	M	M	Y	Y

Sex

male	
female	
race	

Date of informed consent

D	D	M	M	Y	Y

PHYSICAL EXAMINATION

Weight

kg		

Height

cm		

NUTRITIONAL CLASSIFICATION

	Yes	No
Kwashiorkor		
Marasmic Kwashiorkor		
Underweight		

HIV DIAGNOSIS

Date of first diagnosis

D	D	M	M	Y	Y

STAGING (according to WHO 1,2,3,4)

Stage:

--

Pat. -No.			
CTC-No.			

The impact of therapeutic drug monitoring (TDM) on antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS

CONCOMITANT DISEASES (significant)

None

	Disease	Date onset DDMMYY	Date stop DDMMYY	On going
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				

**SIGNIFICANT CONCOMITANT MEDICATION
(last 4 weeks)**

None

	Medication	Way of application	Dosage	Date onset DDMMYY	Date stop DDMMYY	On going
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						

Pat. -No.			
CTC-No.			

The impact of therapeutic drug monitoring (TDM) on antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS

Clinical Tests	Date and time	Units	Value																										
CD4 Cells	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td>D</td><td>D</td><td>M</td><td>M</td><td>Y</td><td>Y</td> </tr> <tr> <td colspan="6" style="text-align: center;"> <table border="1" style="margin: 0 auto;"> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td>h</td><td>h</td><td>m</td><td>m</td> </tr> </table> </td> </tr> </table>							D	D	M	M	Y	Y	<table border="1" style="margin: 0 auto;"> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td>h</td><td>h</td><td>m</td><td>m</td> </tr> </table>										h	h	m	m	Cells/ μ l	
D	D	M	M	Y	Y																								
<table border="1" style="margin: 0 auto;"> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td>h</td><td>h</td><td>m</td><td>m</td> </tr> </table>										h	h	m	m																
h	h	m	m																										
CD8 cells	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td>D</td><td>D</td><td>M</td><td>M</td><td>Y</td><td>Y</td> </tr> </table>							D	D	M	M	Y	Y	Cells/ μ l															
D	D	M	M	Y	Y																								
Creatinine	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td>D</td><td>D</td><td>M</td><td>M</td><td>Y</td><td>Y</td> </tr> </table>							D	D	M	M	Y	Y	mg/dl															
D	D	M	M	Y	Y																								
Viral load	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td>D</td><td>D</td><td>M</td><td>M</td><td>Y</td><td>Y</td> </tr> </table>							D	D	M	M	Y	Y	Copies/ml															
D	D	M	M	Y	Y																								
Serum albumin	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td>D</td><td>D</td><td>M</td><td>M</td><td>Y</td><td>Y</td> </tr> </table>							D	D	M	M	Y	Y	mg/l															
D	D	M	M	Y	Y																								

COMMENTS

None

CASE REPORT FORM REVIEW

I confirm that all Information reported for this patient is accurate and complete.

D	D	M	M	Y	Y

Investigator Signature

Pat. -No.			
-----------	--	--	--

The impact of therapeutic drug monitoring (TDM) on antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS

DATE

D	D	M	M	Y	Y

HIV MEDICATION

Medication	Time of medication intake <i>prior</i> to blood sampling					
	h	h	m	m	D	D
	h	h	m	m	D	D
	h	h	m	m	D	D
	h	h	m	m	D	D
	h	h	m	m	D	D

MISSING LAST 7 DAYS

None

Number of Days

Pat. -No.			
-----------	--	--	--

The impact of therapeutic drug monitoring (TDM) on antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS

MEAL PRIOR TO BLOOD SAMPLING

Heavy meal (e.g. a full plate of food)	<input type="checkbox"/>
Medium meal (e.g. a sandwich)	<input type="checkbox"/>
Light meal (e.g. a biscuit, cracker or fruit)	<input type="checkbox"/>
No meal	<input type="checkbox"/>

Time of meal

<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
h	h	m	m

TB MEDICATION

Medication	Time of medication intake <i>prior</i> to blood sampling								
Rifampicin	<table border="1"> <tr> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>h</td> <td>h</td> <td>m</td> <td>m</td> </tr> </table>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	h	h	m	m
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>						
h	h	m	m						

LABORATORY - BLOOD SAMPLING

1. First blood sample (trough level)

Collection time

<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
h	h	m	m

Collection date

<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
D	D	M	M	Y	Y

2. Medicine taken

<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
h	h	m	m

3. Second blood sample (if applicable)

Collection time

<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
h	h	m	m

Pat. -No.			
-----------	--	--	--

The impact of therapeutic drug monitoring (TDM) on antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS

COMMENTS None

CASE REPORT FORM REVIEW

I confirm that all Information reported for this patient is accurate and complete.

D	D	M	M	Y	Y

Investigator Signature

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Klinker für seine Geduld und seine Unterstützung auf meinem Weg zu der Publikation und zu der Fertigstellung der Promotionsarbeit. Vielen Dank für die vielen Lesestunden und Beratungstermine.

Ich danke meinen Eltern für ihre Liebe, ihren Glauben, dass nichts unmöglich ist, und ihre Ermutigung auf meinem Lebensweg. Meinen Großeltern danke ich für ihre Unterstützung auch durch die vielen Gebete, die mich begleiten.

Ich danke meinen Kollegen in Südafrika in der klinischen Pharmakologie. Insbesondere danke ich Herrn Jan DeBruyn, der sein Büro mit mir geteilt hat und immer ein offenes Ohr für mich hatte. Herrn Prof. Rosenkranz danke ich für seinen professionellen Rat. Erina, Desiree und Anthony danke ich für die Zusammenarbeit im Projektteam und die Unterstützung in fachlichen Fragen.

Der pädiatrischen HIV-Ambulanz im Tygerberg Hospital danke ich für die freundliche Aufnahme und die Zusammenarbeit. Ein besonderer Dank geht an Herrn Prof. Cotton, Frau Dr. Rabie und Frau Dr. Edson.

Danke an die lieben Kolleginnen des infektiologischen Labors in der Universitätsklinik in Würzburg. Vielen Dank für das wohlwollende Mithineinnehmen, die Hilfe und die freundlichen Erklärungen.

Frau Keller danke ich für die kompetente und freundliche statistische Beratung.

Ich danke der Gemeinschaft im Kloster Wülfighausen, dass ich dort Ruhe, Verpflegung und Ermutigung beim Schreiben geschenkt bekam.

Danke an meinen Onkel Herrn Dr. Eiche fürs Korrekturlesen und die Begleitung auf meinem medizinischen Weg.

Vielen Dank an meine Freundinnen Dr. Annika Oberhagemann und Dr. Nele Möllering. Es hat mir sehr geholfen, dass wir uns austauschen, gegenseitig unterstützen und ermutigen konnten. Gemeinsam war der Weg zur Fertigstellung der Promotionsarbeit leichter als allein.