

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

Direktor: Professor Dr. med. Hermann Einsele

**„Die Rolle des Therapeutischen Drug Monitoring bei der antiretroviralen
Therapie kritisch kranker Säuglinge mit HIV-Infektion – eine pharmakokinetische
Untersuchung in Südafrika“**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Michael Schultheiß

aus München

Würzburg, September 2019

Referent: Prof. Dr. med. H. Klinker

Korreferent:

Dekan: Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung:

Der Promovend ist Arzt

Widmung

Ich widme diese Arbeit Herrn Dr. Louis Heyns, Oberarzt der Kinderintensivstation am Tygerberg Hospital in Kapstadt, der kurz nach meinem Forschungsaufenthalt in Südafrika Opfer eines sinnlosen, willkürlichen Gewaltverbrechens wurde.

Für seine tagtägliche Unterstützung und tolle klinische Lehre bin ich ihm sehr dankbar.

Seinen Hinterbliebenen wünsche ich viel Kraft.

Inhalt

Inhalt.....	I
Abkürzungsverzeichnis.....	V
1. Einleitung.....	1
1.1. HIV (Humanes Immundefizienz Virus) und AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrom).....	1
1.1.1. Die Epidemiologie von HIV und AIDS.....	1
1.2. Das HI-Virus.....	3
1.2.1. Klassifikation und Aufbau des Virus.....	3
1.2.2. Replikation des HI-Virus.....	4
1.3. Übertragungswege des HI-Virus.....	5
1.4. Verlauf der HIV-Infektion.....	6
1.4.1. Klassifikation der HIV-Stadien bei Kindern.....	7
1.5. Die Therapie der HIV-Erkrankung.....	8
1.5.1. Möglichkeiten und Limitationen der antiretroviralen Therapie.....	8
1.5.2. Substanzklassen.....	9
Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI).....	9
Nicht-Nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NNRTI).....	10
Protease Inhibitoren (PI).....	10
Integrase Inhibitoren (INI).....	10
Entryinhibitoren (Fusions-/Co-Rezeptorinhibitoren).....	10
1.5.3. Die pädiatrische HIV-Therapie und medikamentöse Prophylaxe in der Republik Südafrika.....	10
1.6. Therapeutisches Drug Monitoring (TDM).....	12
1.6.1. Grundlagen des Therapeutischen Drug Monitorings.....	12
1.6.2. Die Rolle des Cytochrom-P-450-Systems in der antiretroviralen Therapie.....	14

1.7.	Die Pharmakokinetik der Substanzen Lopinavir, Efavirenz und Nevirapin in der pädiatrischen HIV-Therapie.....	15
1.7.1.	Lopinavir	16
1.7.2.	Efavirenz	17
1.7.3.	Nevirapin	17
2.	Fragestellung	19
3.	Patienten, Material und Methodik.....	22
3.1.1.	Erhebung der Daten	22
3.1.2.	Einschlusskriterien.....	24
3.1.3.	Ausschlusskriterien.....	24
3.2.	Methoden	25
3.2.1.	Verarbeitung der Blutproben im Pharmakologischen Institut der Universität Stellenbosch	25
3.2.2.	Methodik zur Quantifizierung von Lopinavir im Serum	25
3.2.3.	Methodik zur Quantifizierung von Nevirapin im Serum	26
3.2.4.	Methodik zur Quantifizierung von Efavirenz im Serum	28
3.3.	Statistische Methoden.....	29
4.	Ergebnisse	31
4.1.	Patientenkollektiv.....	31
4.2.	Nevirapin-Serumspiegel	35
4.2.1.	Nevirapin-Serumspiegel (Einzelproben)	37
4.2.2.	Nevirapin-Serumspiegel und das Zeitintervall zwischen Medikamenteneinnahme und Blutentnahme	37
4.2.3.	Nevirapin-Serumspiegel und die Dauer der antiretroviralen Prophylaxe	38
4.2.4.	Nevirapin-Serumspiegel und Alter	39
4.2.5.	Nevirapin-Serumspiegel und Körpergewicht	40
4.2.6.	Nevirapin-Serumspiegel und Geschlecht	42

4.2.7.	Nevirapin-Serumspiegel und Ethnizität	42
4.2.8.	Nevirapin-Serumspiegel, Alter und Dosierung.....	42
4.3.	Lopinavir-Serumspiegel	43
4.3.1.	Lopinavir-Serumspiegel (Einzelproben)	44
4.3.2.	Lopinavir-Serumkonzentration und Zeitintervall zwischen der Einnahme der Medikamente und der Blutentnahme	45
4.3.3.	Lopinavir-Serumspiegel und Dauer der antiretroviralen Therapie.....	46
4.3.4.	Lopinavir-Serumspiegel und Körpergewicht.....	47
4.3.5.	Lopinavir-Serumspiegel und Alter	49
4.3.6.	Lopinavir-Serumspiegel und Ethnizität	51
4.3.7.	Lopinavir-Serumspiegel und Geschlecht.....	52
4.3.8.	Lopinavir-Serumspiegel auf einer pädiatrischen Intensivstation im Vergleich mit Lopinavir-Serumspiegeln ambulanter Patienten	52
4.3.8.1.	Patienten und Serumspiegel im ambulanten Setting.....	52
4.3.8.2.	Vergleich der Lopinavir-Serumspiegel in den Gruppen der intensivmedizinischen und ambulanten Patienten.....	54
4.3.9.	Intraindividuelle Schwankungen	56
4.4.10.	Intraindividuelle Schwankung und Nahrungsaufnahme - Fallbericht.....	59
4.4.	Fallbericht eines elfjährigen Jungen unter einem Efavirenz-Therapieregime	60
5.	Diskussion.....	62
5.1.	Die Höhe der Serumkonzentrationen im Verhältnis zu angestrebten therapeutischen Bereichen.....	64
5.1.1.	Anzustrebender therapeutischer Bereich und Höhe der Serumkonzentrationen von Nevirapin	64
5.1.2.	Anzustrebender therapeutischer Bereich und Höhe der Lopinavir- Serumkonzentrationen	65
5.2.	Mögliche Einflussfaktoren auf die Höhe der Serumspiegel	68
5.2.1.	Mögliche Einflussfaktoren auf die Höhe der NVP-Serumspiegel.....	68

5.2.1.1.	Zeitintervall zwischen Medikamenteneinnahme und Blutentnahme	68
5.2.1.2.	Dauer der antiretroviralen Prophylaxe	69
5.2.1.3.	Gewicht und Alter und die Dosierung nach Gewichtskategorien	69
5.2.1.4.	Geschlecht.....	71
5.2.1.5.	Ethnizität	71
5.2.2.	Mögliche Einflussfaktoren auf die Höhe der LPV-Serumspiegel.....	72
5.2.2.1.	Zeitintervall zwischen Medikamenteneinnahme und Blutentnahme	72
5.2.2.2.	Dauer der antiretroviralen Therapie.....	72
5.2.2.3.	Alter.....	73
5.2.2.4.	Körpergewicht.....	74
5.2.2.5.	Geschlecht.....	75
5.2.2.6.	Ethnizität	76
5.3.	LPV-Serumkonzentrationen in unterschiedlichen therapeutischen Umfeldern – die Rolle der Adhärenz	77
6.	Zusammenfassung.....	80
	Literatur.....	85
	Anhang.....	94

Abkürzungsverzeichnis

3TC	Lamivudin
ABC	Abacavir
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ALT	Alanin-Aminotransferase
ARV	Antiretroviral drugs
AST	Aspartat-Aminotransferase
AUC	Area under the curve
AZT	Azidothymidin
BMI	Body-Mass-Index
c-ART	Combined antiretroviral therapy
CD4	Cluster of differentiation
CDC	Center for Disease Control
CMV	Cytomegalie Virus
CYP-450	Cytochrom-P-450
ddI	Didanosin
DNS	Desoxyribonucleinsäure
EFV	Efavirenz
HAART	Highly Active Anti-Retroviral Therapy
GV	Geschlechtsverkehr
HWZ	Halbwertszeit
INI	Integrase-Inhibitor
ISTD	Interner Standard
LLQ	Lower level of quantification
LPV	Lopinavir
MSM	Männer, die Sex mit Männern haben
NNRTI	Nicht nukleosidische Reverse-Transkriptase Inhibitoren
NRTI	Nukleosidische Reverse-Transkriptase Inhibitoren

NVP	Nevirapin
PI	Protease Inhibitor
PICU	Pediatric Intensiv Care Unit
PJP	<i>Pneumocystis-jirovecii</i> -Pneumonie
PMTCT	Prevention of mother to child transmission
RKI	Robert-Koch-Institut
RNS	Ribonukleinsäure
RTV	Ritonavir
TDF	Tenofovir
TDM	Therapeutisches Drug Monitoring
ULQ	Upper limit of quantification
VL	Viruslast
WHO	World Health Organisation

1. Einleitung

1.1. HIV (Humanes Immundefizienz Virus) und AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrom)

AIDS, eine erworbene Immunschwäche, wurde erstmals 1981 als ein klinisches Syndrom beschrieben. In ersten Berichten bezog man sich vor allem auf die Häufung von Fällen des Kaposi-Sarkoms sowie der Pneumocystis-jirovecii-Pneumonie (PJP).

Die Inzidenz dieser Indikatorerkrankungen der Immunschwäche bei einem Kollektiv bestehend aus jungen, zuvor gesunden Personen war bis zu diesem Zeitpunkt noch nicht beobachtet und dokumentiert worden. Es wurde zunächst vermutet, dass die Erkrankung an AIDS in spezifischen Lebensgewohnheiten ihren Ursprung hatte. So kam es unter anderem zu einer ausgeprägten Stigmatisierung einer Patientengruppe, die zu Beginn der wissenschaftlichen Berichterstattung von AIDS besonders stark betroffen war, nämlich Männer, die Sex mit Männern hatten (MSM).² Schließlich gelang es 1983 den Virologen Luc Montagnier und François Barré-Sinoussi, das HI-Virus zu isolieren und als den auslösenden Erreger von AIDS zu identifizieren.³ Erste Hinweise auf HIV-Antikörper, die sich in alten Seren aus Zaire (von 1959), aus Uganda (von 1972) und aus Malawi (von 1974) gezeigt hatten, bewiesen, dass das HI-Virus sich schon zu diesen früheren Zeitpunkten in Teilen Afrikas verbreitet hatte.^{4,5}

1.1.1. Die Epidemiologie von HIV und AIDS

Im Jahr 2014 lebten weltweit 36,9 Millionen Menschen mit einer HIV-Infektion. Abbildung 1 zeigt die orientierende Prävalenz der Erkrankung in den verschiedenen Regionen der Welt. Wegen der weiterhin hohen Neuinfektionsrate, aber auch wegen der steigenden globalen Verfügbarkeit einer antiretroviralen Therapie (ART) und der daraus resultierenden höheren Lebenserwartung wächst diese Zahl kontinuierlich. 15,8

Millionen Betroffene (Stand Juni 2015) hatten Zugang zu einer ART. Bei Kindern (Alter < 15 Jahre) lag der Anteil bei 23% (Stand 2013). Die Neuinfektionsrate unter Erwachsenen war seit dem Jahr 2000 um 35 % gefallen (58 % bei Kindern), die Zahl der Todesfälle durch AIDS seit 2004, ihrem Höhepunkt, um 40 %. Nichtsdestotrotz kam es 2014 zu 1,4 Millionen AIDS-bedingten Todesfällen und zu 2 Millionen Neuinfektionen.

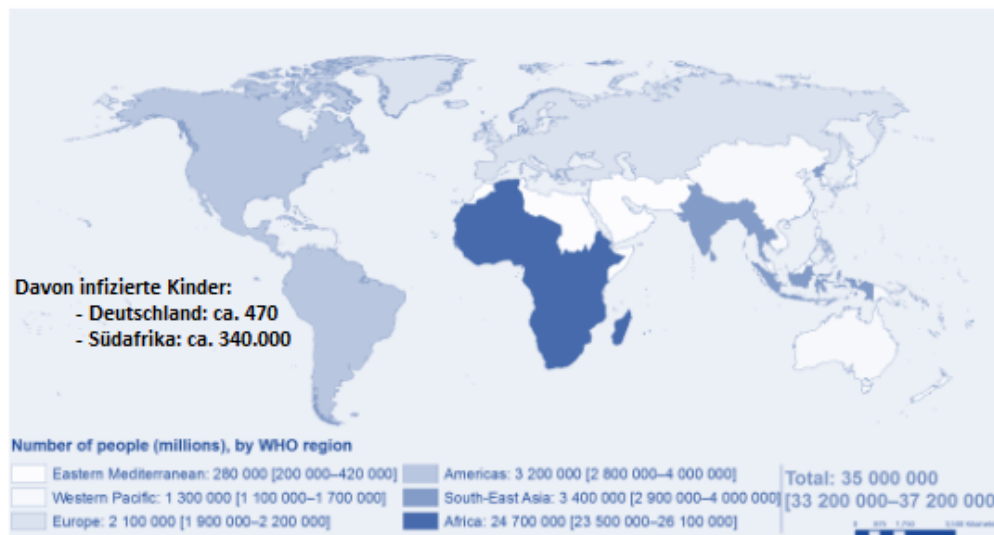


Abbildung 1: Menschen weltweit, die mit einer HIV-Infektion leben. Modifiziert nach WHO (2013)⁶.

2014 lebten 2,6 Millionen Kinder mit einer HIV-Infektion, die meisten davon (2,2 Millionen) in Subsahara-Afrika. Die Zahl der neu infizierten Kinder lag bei 220.000, die Zahl der AIDS-bedingten kindlichen Todesfälle bei 150.000. ^{7,8}

Von den etwa 72.100 Menschen, die 2016 in **Deutschland** mit einer HIV-Diagnose lebten, waren rund 59.000 männlich (82%). Unter einer ART waren 60.700 Personen (84%). 2016 kam es zu ungefähr 3.400 Neuinfektionen, wovon etwa 2.700 auf das Kollektiv von Männern, die Sex mit Männern haben (MSM), entfielen. Etwa 480 Menschen starben an AIDS (2014). Die Prävalenz war mit 0,1% eine der niedrigsten in Europa. Im Jahr 2016 wurden circa 20 von Mutter zu Kind übertragene HIV-Infektionen bei Kindern in Deutschland diagnostiziert. Lediglich drei dieser Kinder waren in Deutschland zur Welt gekommen. Nach Schätzungen wurden von den 72.100 HIV-positiven Personen in Deutschland etwa 470 durch eine Mutter-Kind-Transmission infiziert. Todesfälle durch AIDS bei Kindern sind keine dokumentiert (2014).^{9,10}

Im Jahr 2014 lebten in **Südafrika** 6,8 Millionen Menschen mit einer HIV-Infektion (Prävalenz = 16%). Die Prävalenz unter Erwachsenen (Alter 15 – 49 Jahre) lag bei 18,9% (6,5 Millionen) und war zuletzt steigend.

Während in Deutschland lediglich 18% der Infizierten weiblich waren, lag dieser Anteil in Südafrika (unter 15- bis 49-jährigen) bei 60% (3,9 Millionen). Die Prävalenz der HIV-Infektion bei Kindern (0-14 Jahre) in Südafrika lag bei 2,4 % (340.000). Es kam unter Einbeziehung aller Altersgruppen zu 140.000 AIDS-bedingten Todesfällen. Die Neuinfectionsrate war 2014 mit mehr als 340.000 pro Jahr weltweit die höchste.^{10,11}

Eine ART erhielten im Jahr 2014 45% der Personen mit einer HIV-Diagnose. Die Abdeckung infizierter Kinder mit einer ART lag 2014 bei 49% und war zuletzt stetig zunehmend.¹²

1.2. Das HI-Virus

1.2.1. Klassifikation und Aufbau des Virus

Das HI-Virus ist ein Retrovirus. Es gehört zur Gattung der Lentiviren. Namensgebend ist die Fähigkeit des Virus, viruseigene genetische Information in Form von Ribonukleinsäure (RNS) mit Hilfe eines Enzyms, der Reversen Transkriptase, in infizierten Zellen in Desoxyribonukleinsäure (DNS) umzuwandeln und in die zelleigene DNS zu integrieren. Bisher sind zwei verschiedene Typen des Virus bekannt, HIV-1 und HIV-2. Während HIV-1 weltweit vorkommt, konzentriert sich das Auftreten des sehr viel selteneren HIV-2 auf West Afrika.¹³

Wie in Abbildung 2 dargestellt, besitzt das HI-Virus eine Lipidhülle, welche zwei Glykoproteine enthält. Während das Oberflächen-Protein gp120 (Glykoprotein 120) die Interaktion der Virions mit den zellulären Rezeptoren der Wirtszelle für HIV bewerkstelligt, ist das Transmembranprotein gp41 (Glykoprotein 41) für die Fusion des Viruspartikels mit der Zellmembran verantwortlich.¹⁴

Weiterhin enthält das HI-Virus eine konische Kapsid-Struktur die aus dem Protein-p-24 besteht und zwei Kopien der viralen (+)-Strang-RNS enthält.

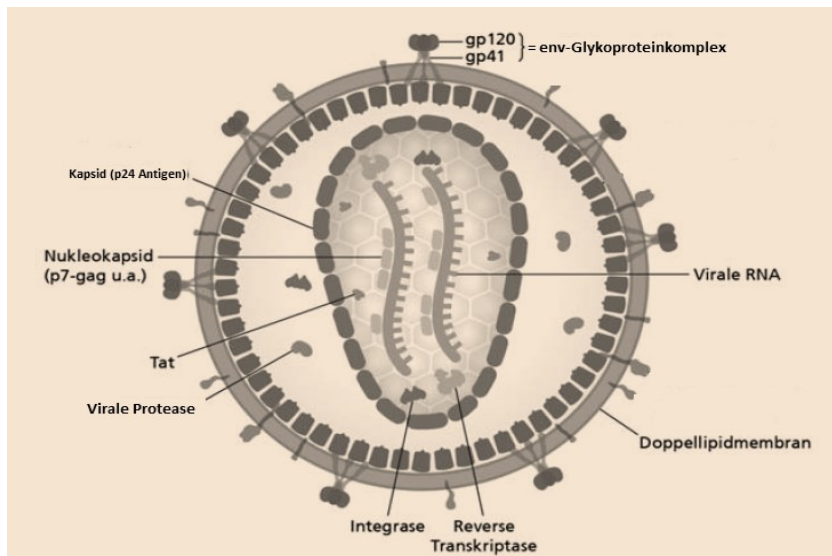


Abbildung 2: Aufbau eines HI-Virions. Modifiziert nach Hoffmann C., (2014) ¹

Im Inneren des Kapsids befinden sich die Enzyme Reverse Transkriptase (inklusive ihrer Integrase-Funktion) sowie die virale Protease (u.a. Ansatzpunkte für antiretrovirale Therapie).

1.2.2. Replikation des HI-Virus

Das HI-Virus nutzt das CD4-Molekül (cluster of differentiation 4) als primären Rezeptor auf der Zelloberfläche gewisser Zellen des Immunsystems, die diesen Rezeptor tragen. Das Andocken induziert eine Konformationsänderung des Hüllglykoprotein gp120, was eine Interaktion mit einem von zwei möglichen Ko-Rezeptoren auf der Zelloberfläche ermöglicht. Die beiden Ko-Rezeptoren CXCR4 und CCR5 stammen aus der Familie der Chemokin-Rezeptoren und kommen jeweils auf verschiedenen Zelltypen vor.

Anschließend kommt es unter einer gp-41-vermittelten Konformationsänderung zur Fusion mit der Zellmembran.¹⁵ Die HIV-RNS wird nun – gemeinsam mit den viruseigenen Enzymen – in der Zelle freigesetzt, von der viralen Reversen Transkriptase in DNS transkribiert und von der Integrase in die Wirts-DNS eingebaut. Das integrierte

Virusgenom kodiert für die zur Synthese der neuen Virion-Partikel benötigten Proteine, sowie für die virale RNA. Unter anderem durch den Einfluss der viralen Protease werden die RNA-Kopien nun in neue Virushüllen verpackt, die sich von der Zellmembran abschnüren. Die gereiften Virus-Kopien treten aus der Wirtszelle aus und können nun andere Zellen infizieren.¹⁶

1.3. Übertragungswege des HI-Virus

Hauptsächlich erfolgt die Übertragung von HIV über ungeschützten Geschlechtsverkehr (GV) mit einem infizierten Partner, den gemeinsamen Gebrauch von Nadeln beim i.v.-Drogenmissbrauch und vertikal von einer infizierten Mutter auf ihr Kind. Diese kann während der Schwangerschaft, unter der Geburt oder beim Stillen geschehen. Sehr selten geschehen Übertragungen über Nadelstichverletzungen im medizinischen Umfeld, offene Hautwunden oder Schleimhautkontakte, Transfusion von Blut bzw. Gabe von Blutprodukten und die Transplantation infizierter Organe.

Der weltweit häufigste Übertragungsweg ist die Übertragung über heterosexuellen GV. Es wird geschätzt, dass in weiten Teilen der Welt >90% aller Neuinfektion auf diesem Übertragungsweg geschehen.^{17,18}

Während in Deutschland 2014 der häufigste Transmissions-Modus mit 72% homosexueller GV zwischen Männern war (heterosexueller GV 18%, „needle-sharing“ 8%), stellten in Südafrika junge Frauen (Alter 15-24 Jahre) die größte Risikopopulation dar. Das Lebenszeitrisiko einer jungen Frau für eine HIV-Infektion durch heterosexuellen GV von über 30% in einigen Landesteilen ist circa vierfach höher als das der männlichen Altersgenossen und der Grund für die hohe Zahl HIV-exponierter Neugeborener. Unter den 241.500 durch maternale HIV-Infektion exponierten Neugeborenen kam es 2011 zu ca. 5.000 Neuinfektionen. Eine geringere Rolle spielten Transmissionen im MSM-Kollektiv und durch „needle-sharing“ (9,2% und 1,3% aller Neuinfektionen).^{9,19-23}

1.4. Verlauf der HIV-Infektion

Die akute Infektion sowie die akute Phase der Virus Replikation verlaufen häufig asymptomatisch oder in Form eines unspezifischen „grippalen“ oder Mononukleose-artigen Infekts.^{24,25}

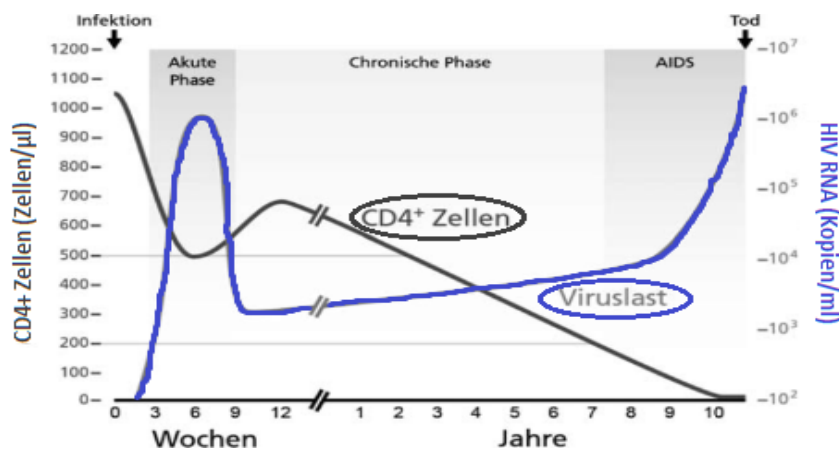


Abbildung 3: Der Verlauf der HIV-Infektion ohne antiretrovirale Therapie - Verlauf von CD4-Zellen und Viruslast. Modifiziert nach Hoffmann C. (2014).²⁶

In den ersten Wochen bis Monaten nach Infektion, der akuten Phase, kommt es zu einem raschen Anstieg der Viruslast. Dieser sistiert mit dem Erscheinen erster HIV-spezifischer Antikörper im Patientenserum. Die Viruslast fällt dann in der Regel auf weniger als 1% des Höchstwertes ab, um in der chronischen Phase der Erkrankung über Jahre langsam anzusteigen.

Im Krankheitsverlauf findet eine allmähliche Zerstörung der CD4-Zellen (insbesondere der T-Helferzellen) durch das Virus statt. Durch die fortschreitende Schädigung der zellulären Immunität kommt es später zu sogenannten AIDS-definierenden Erkrankungen. Bei Erwachsenen beträgt die Latenzzeit nach Infektion bis zum Auftreten AIDS-definierender Erkrankungen im Durchschnitt ca. 8 Jahre. Abbildung 3 stellt einen exemplarischen Verlauf einer HIV-Infektion dar.

Bei vertikal infizierten (meist) Kindern dauert es bis zum Auftreten von AIDS durchschnittlich nur ca. 2-3 Jahre. 25-30% der Kinder erkranken bereits im ersten Lebensjahr an AIDS-definierenden Erkrankungen. Sie haben im Verhältnis eine schlechte

Prognose. Ohne eine antiretrovirale Therapie sterben mehr als 90% aller HIV-Patienten an AIDS. ²⁷⁻²⁹

1.4.1. Klassifikation der HIV-Stadien bei Kindern

Die Stadieneinteilung der HIV-Infektion der WHO erfolgt anhand der klinischen Manifestation: ²⁴

Stadium 1: Zu diesem Stadium zählen asymptomatische Kinder, sowie Kinder mit generalisierter, persistierender Lymphadenopathie.

Stadium 2: Bei Kindern fallen in dieses Stadium u.a. Symptome wie eine unerklärte, persistierende Hepato-/Splenomegalie oder Parotisschwellung, sowie Infektionserkrankungen, wie der Herpes zoster oder ausgeprägter Befall der Haut mit Warzen.

Stadium 3: Es treten u.a. therapierefraktäre unerklärliche Zeichen einer Mangelernährung auf, sowie unerklärliche Blutbildveränderungen (Anämie, Leuko-/Thrombopenie) und persistierendes Fieber unklarer Genese. Des Weiteren erkranken Kinder in diesem Stadium an persistierenden oralen Candidosen, rezidivierenden bakteriellen Pneumonien und M. tuberculosis-Infektionen.

Stadium 4: In dieses AIDS-definierende Stadium fallen bei Kindern das Wasting-Syndrom oder eine schwere therapierefraktäre Malnutrition, Pneumocystis-/oder CMV-Pneumonien, sowie AIDS-definierende maligne Erkrankungen, wie das Kaposi-Sarkom, Burkitt-Lymphom oder ZNS-Lymphom.

Tabelle 1: Klassifikation des Schweregrads des HIV-assoziierten Immundefekts anhand der CD4-Zellzahl. Altersabhängiger Normbereich: 690 -1570 CD4-Zellen/mm³. Modifiziert nach Lewis J. (2011)³⁰

HIV-assoziiertes Immundefekt	Altersabhängige CD4-Werte bei einem Alter von > 5 Jahren (absolute Zahl/mm ³)
Keiner oder nicht signifikant	> 500
Mild	350-499
Fortgeschritten	200-349
Schwerwiegend	< 200

CD4-Werte werden bei Kindern unter einem Alter von fünf Jahren nicht als Kriterium zur Initiation einer cART herbeigezogen, sondern lediglich zu prognostischen Aussagen bestimmt. Alle Kinder dieser Altersgruppe werden bei einem Virusnachweis lebenslang antiretroviral behandelt.

1.5. Die Therapie der HIV-Erkrankung

1.5.1. Möglichkeiten und Limitationen der antiretroviralen Therapie

Ziel der antiretroviralen Therapie (ART) ist es, durch Hemmung der HIV-Replikation den Krankheitsprogress zu verhindern, Symptome und Folgeerkrankungen zu unterdrücken, eine Erholung des zellulären Immunsystems zu ermöglichen und Folgen der chronischen Entzündungsreaktion des Körpers auf das Virus einzudämmen.³¹ Seit der Zulassung des ersten antiretroviral wirksamen Medikaments AZT (Azidothymidin) in Deutschland im März 1987 hat sich die Prognose HIV-Infizierter deutlich verbessert. Die 1996 eingeführte Kombinationstherapie aus mindestens drei antiretroviralen Medikamenten, die „Highly Active Anti-Retroviral Therapy (HAART) oder „combined Anti-Retroviral Therapy“ (c-ART), die mit der Entwicklung einer neuen Substanzklasse, den Protease-Inhibitoren (PI) möglich wurde, konnte auch die Infektiosität deutlich senken. Seit den

Anfängen der pharmakologischen Therapie wurden 30 antiretroviral wirksame Präparate aus sechs Substanzklassen zur Anwendung zugelassen (Stand Juni 2014).^{28,32}

Das primäre Therapieziel ist die Senkung der HI-Viruslast (VL). Ihre Höhe ist der wichtigste Prädiktor für die Entwicklung von AIDS bzw. für AIDS-bedingte Mortalität. Auch besteht eine Korrelation zwischen der VL und der Zahl der CD4+-Zellen, welche den Zustand des zellulären Immunsystems widerspiegelt. Eine dauerhafte Reduktion der VL senkt die Morbidität und Mortalität.²⁹

Nach heutigem Wissenstand muss eine ART lebenslang eingenommen werden. Während von „funktionellen Heilungen“ („Functional Cure“), wie bei einem Berliner HIV-Patienten 2009, dessen Viruslast nach einer allogenen Stammzelltransplantation bis heute ohne eine ART unter der Nachweisgrenze geblieben ist, berichtet wurde, gilt eine vollständige Eradikation der HIV-Infektion, gleichbedeutend einer Elimination des latenten HIV-Reservoirs („Sterilizing Cure“), als nicht möglich.³³

1.5.2. Substanzklassen

Im Juni 2015 zählten zu den verfügbaren Substanzklassen Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI), Nicht-Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NNRTI), Protease-Inhibitoren (PI), Integrase-Inhibitoren (INI), Co-Rezeptor-Inhibitoren und Fusionsinhibitoren. Aus diesen Substanzklassen wird in der Regel eine Dreifach-Kombination gewählt, bestehend z.B. aus zwei NRTIs und einem PI oder NNRTI.³⁴

Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI)

Die Wirkung erfolgt am katalytischen Zentrum des viralen Enzyms Reverse-Transkriptase. Hier werden die auch „Nukleosidanaloga“ genannten Substanzen kompetitiv als falsche Substrate in die DNS-Kette eingebaut und bewirken hier einen Kettenbruch. Als „Pro-Drugs“ werden sie von der Zelle aufgenommen und durch intrazelluläre Phosphorylierung zu den aktiven Metaboliten umgewandelt.

Nicht-Nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NNRTI)

Im Gegensatz zu den NRTIs erfolgt die Wirkung nicht im katalytischen Zentrum. Sie binden allosterisch an einer Stelle des Enzyms, das nah an der Substratbindungsstelle liegt und blockieren diese durch eine Komplexbildung mit dem viralen Enzym. Bei NNRTIs ist eine intrazelluläre Aktivierung nicht erforderlich.

Protease Inhibitoren (PI)

Die Wirkung erfolgt durch Hemmung der für die Virusreplikation notwendigen proteolytischen Spaltung des viralen *gag-pol-Poly-Proteins*. So entstehen nicht infektiöse Viruspartikel. Alle PIs müssen „geboostert“ werden, um ausreichend hohe Serumspiegel zu erreichen. Hierzu kommen vor allem Ritonavir und Cobicistat zum Einsatz. Sie wirken über die inhibitorische Wirkung auf Untereinheiten des CYP-450-Systems in der Leber.

Integrase Inhibitoren (INI)

Ein weiteres Schlüsselenzym des viralen Replikationszyklus ist die Integrase. Dieses Enzym ist für den Einbau der retroviralen genetischen Information in die Wirts-DNS verantwortlich. Eine Inhibition dieses Enzyms hemmt die virale Vermehrung.

Entry-Inhibitoren (Fusions-/Co-Rezeptor-Inhibitoren)

Co-Rezeptor-Antagonisten blockieren den für das Andocken nötigen CCR5-Co-Rezeptor. Fusionsinhibitoren hemmen die über das gp-41-Protein vermittelte Fusion von Virushülle und Zellmembran.³⁵⁻³⁹

1.5.3. Die pädiatrische HIV-Therapie und medikamentöse Prophylaxe in der Republik Südafrika

Zugelassen zur Therapie bei Kindern vor Ende ihres 15. Lebensjahres sind Abacavir (ABC), Lamivudin (3TC), Efavirenz (EFV), Lopinavir in Kombination mit Ritonavir (LPV/r), der PI-Booster Ritonavir (RTV), Stavudin (d4T), Didanosin (ddI), Nevirapin (NVP), Azidothymidin (AZT) und in speziellen Fällen Tenofovir (TDF). Für Kinder unter 7kg

Körpergewicht ist ddi nicht empfohlen. EFV ist für Kinder, die jünger als 3 Jahre oder leichter als 10 kg sind, ebenfalls nicht empfohlen.

Die Erstlinien-Therapie bei Initiation für Neugeborene, Säuglinge und Kleinkinder (<3 Jahre) besteht in der Regel aus einer Kombination aus zwei NRTIs + einem PI (i.d.R. ABC+3TC+LPV/r). Kinder, die 3-15 Jahre alt sind (Körpergewicht >10kg), erhalten ebenfalls zwei NRTIs, sowie ein NNRTI zur Kombination (i.d.R. ABC+3TC+EVF).

Als Zweitlinien- oder Reservemedikament steht des Weiteren AZT zur Verfügung. Therapieversagen sollte jedoch Anlass zur Konsultation eines Spezialisten der pädiatrischen ART sein.

Das Medikament d4T wird aufgrund guter Verfügbarkeit noch weitläufig eingesetzt, sollte jedoch nach Möglichkeit aufgrund seines ungünstigen Nebenwirkungsspektrums auf ABC umgestellt werden.

RTV wird in fixer Kombination mit dem Protease-Inhibitoren LPV eingesetzt, da es das Enzym CYP3A4 hemmt, über welches die Protease-Inhibitoren abgebaut werden. Auf diesem Wege können durch den Booster RTV höhere Spiegel von LPV erreicht werden.⁴⁰

Die Kriterien zur Initiation einer ART stellen sich in den pädiatrischen Leitlinien wie folgt dar:⁴¹

- Alle mit HIV-Infektion diagnostizierten Kinder unter 5 Jahren sollten eine leitliniengerechte ART erhalten.
- Kinder über 5 Jahre sollten eine leitliniengerechte ART ab dem klinischen WHO Stadium 3 oder Stadien-unabhängig ab einer CD4-Zahl unter 500 Zellen/ μ l erhalten

Zur Prophylaxe der vertikalen Infektion von der Mutter auf ihr Neugeborenes sind für das Kind zwei Substanzen zugelassen, NVP und AZT:

- Neugeborene von Müttern mit bekannt positivem HIV-Status, die eine lebenslange ART einnehmen, erhalten 6 Wochen lang nach der Geburt täglich NVP.

- 12-wöchige Prophylaxe mit NVP oder duale Prophylaxe mit NVP + AZT, wenn eine HIV-Infektion der Mutter erst peripartal oder später in der Stillperiode bekannt wurde oder bei hoher peripartaler Viruslast (> 1.000 Kopien/ml).

Die durch die südafrikanischen Leitlinien empfohlenen Dosierungsmodalitäten bei Kindern sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Tabelle 2: Dosierung antiretroviraler Medikamente nach dem Department of Health, Republic of South Africa ⁴⁰

Abacavir (ABC)	2x tägl. 8mg/kg KG
Lamivudin (3TC)	2 x tägl. 4mg/kg KG
Efavirenz (EFV)	Ab KG > 10kg u. >3 Jahre 1 x täglich 200mg, > 14kgKG 1 x täglich 300mg, >25kgKG 1 x täglich 400mg,
Lopinavir/ritonavir (LPV/r)	2 x tägl. 300mg/7,5mg/m ² KOF
Stavudin (d4T)	2 x tägl. 1mg/kg KG
Nevirapin (NVP)	Therapeutisch: 2 x tägl. 160-200mg/m ² KOF Prophylaxe: s. Tabelle 4 (Anhang)
Zidovudin (AZT)	Therapeutisch: 2 x tägl. 180-240mg/m ² KOF Prophylaxe: s. Tabelle 5 (Anhang)

1.6. Therapeutisches Drug Monitoring (TDM)

1.6.1. Grundlagen des Therapeutischen Drug Monitorings

Die Bestimmung der Höhe der Serumspiegel von Medikamenten im Patientenblut wird als Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) bezeichnet. Ziel des TDM ist es, die Notwendigkeit einer Dosisanpassung zu erkennen und diese gegebenenfalls zu veranlassen.

Zu niedrige Konzentrationen antiretroviraler Medikamente im Serum der HIV-Patienten bergen die Gefahren einer unzureichenden viralen Suppression sowie der Resistenzentwicklung. Zu hohe Serumspiegel begünstigen unerwünschte oder zum Teil

gefährliche Nebenwirkungen, die mitunter zu unzureichender Adhärenz oder gar zum Abbruch der Therapie führen können.⁴²

Für den sinnvollen Einsatz von TDM sollten folgende Kriterien von der zu messenden Substanz erfüllt sein: Der Effekt des Medikaments sollte klinisch oder durch einfache alternative Laboruntersuchungen schwer zu bewerten sein. Die Serumkonzentration sollte mit der Wirksamkeit und/oder Toxizität korrelieren. Das Medikament sollte eine schmale therapeutische Breite haben. Die Serumspiegel-Variabilität sollte interindividuell größer sein als intraindividuell. Eine zuverlässige und genaue Messmethode sollte verfügbar sein. Eine Anpassung der Medikamenten-Dosis in Reaktion auf den Spiegel sollte möglich sein.⁴³

Wegen intrazellulärer Phosphorylierung der NRTIs zu den jeweils aktiven Metaboliten sind routinemäßige Serumspiegelmessungen bei diesen Substanzen (im Sinne eines TDM) nicht sinnvoll. Technisch sehr aufwändige intrazelluläre Spiegelmessungen wären nötig.⁴⁴ NNRTIs und PIs qualifizieren sich hingegen für ein TDM, da sie o.g. Kriterien weitestgehend entsprechen. Besonders, weil bei NNRTIs und PIs ein bekannter direkter Zusammenhang zwischen Serumspiegel und der Effektivität (und bedingt auch der Toxizität) der Therapie besteht, eignen sie sich zur Überwachung durch ein TDM.⁴⁵

Bei der Messung der NNRTIs und PIs liegt häufig eine große interindividuelle Variabilität vor. Neben der unzureichenden Therapieadhärenz liegen die Gründe vom therapeutischen Bereich abweichender Serumspiegel in Medikamenteninteraktionen, Begleitinfektionen, wie einer Hepatitis-B oder -C-Infektion oder einer Tuberkulose, gastrointestinalen Resorptionsstörungen, Leber- und Niereninsuffizienz, der Zusammensetzung und dem Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme sowie einer großen interindividuellen Variabilität bei der Aktivität und genetischen Polymorphismen von metabolisierenden Enzymen und bei Transportproteinen.⁴⁶

Insbesondere bei Kindern konnte gezeigt werden, dass eine TDM-gesteuerte Therapie zu einem besseren virologischen Ansprechen führen kann als bei einer Therapie mit fixen Dosierungen. Insgesamt jedoch existieren insbesondere zu sehr kleinen Kindern aus der klinischen Praxis sehr wenige pharmakologische Daten im Hinblick auf

antiretrovirale Substanzen. So stammen vorhanden pharmakokinetische Daten bei kleinen Kindern vor allem aus kontrollierten Zulassungsstudien mit klinisch stabilen Kindern.⁴⁷

Die *Deutsche AIDS Gesellschaft e.V.* hält in ihren Leitlinien zur HIV-Therapie von 2014 einen Einsatz von TDM in folgenden Situationen für sinnvoll:

- Multimedikation (Interaktionen)/Komplexe Booster-Therapien
- erheblich unter- oder übergewichtige Patienten
- Nebenwirkungen
- Therapieversagen (DD Resistenz)
- Fehlerhafte Medikamenteneinnahme/ungenügende Therapieadhärenz
- Intestinale Resorptionsstörungen und Leberfunktionsstörungen
- HAART bei Kindern
- Therapie in der Schwangerschaft
- „Once-daily-Regime“ (z. B. PI/r)
- Einsatz neuer Substanzen (Risiko neuer Interaktionen)

1.6.2. Die Rolle des Cytochrom-P-450-Systems in der antiretroviralen Therapie

Die Cytochrom-P-450 (CYP) sind Enzyme im endoplasmatischen Retikulum von Hepato- und Enterozyten, die durch Oxidation einen wesentlichen Beitrag zur Metabolisierung wasserunlöslicher Stoffe im Körper beitragen.⁴⁸ Die Aktivität der CYP-Enzyme ist sowohl durch unterschiedliche genetische Varianten, als auch von Induktion und Hemmung durch körpereigene (z.B. Entzündungsmediatoren) und –fremde Substanzen (z.B. Medikamente) determiniert. Die unterschiedliche Ausprägung der Enzymaktivität wiederum kann Effekte auf Serumspiegel diverser Medikamente haben. So ist auch die ART, im Speziellen die Medikamente aus den Gruppen der PIs und NNRTIs, dem CYP-Stoffwechsel unterworfen. Sie werden insbesondere über die CYP-Enzyme CYP3A4 und CYP2B6 metabolisiert. So nehmen Substanzen, die über die gleichen Enzyme

verstoffwechselt werden oder diese hemmen, maßgeblich Einfluss auf die Serumspiegel.^{46,49}

Zu den für die HIV-Therapie relevanten CYP-Interaktionen zählt z.B. die Einflussnahme von Rifampicin, einem Tuberkulostatikum. Rifampicin induziert das Enzym CYP3A4, welches neben vielen anderen Medikamenten auch PIs und NNRTIs metabolisiert. Diese Induktion führt häufig zu subtherapeutischen Spiegel in der genannten ARV-Gruppen.⁵⁰

PIs, insbesondere das nur mäßig antiviral wirksame Ritonavir, sind selbst Substrate und Inhibitoren des Enzyms CYP3A4, welches auch maßgeblich an ihrem Abbau beteiligt ist. So macht man sich die Potenz von Ritonavir als Inhibitor von CYP3A4 zu Nutze, indem man es effektiv als Booster anderer PIs einsetzt. Für einige PIs gibt es feste Dosiskombinationen mit Ritonavir (z.B. Lopinavir/Ritonavir = LPV/r). Des Weiteren werden PIs auch über die Enzyme CYP2D6, CYP2C9 und CYP2C19 abgebaut.⁵¹

NNRTIs wie NVP oder EFV fungieren als Induktoren u.a. des CYP3A4 Enzyms. So kann zum Beispiel die Kombination mit einem PI zu subtherapeutischen Spiegel in des PIs führen. Außer zum Beispiel bei Unverträglichkeiten der NRTIs wird diese Kombination so in der Regel vermieden. Eine längerfristige Therapie kann durch Enzyminduktion zu niedrigeren Serumspiegel führen insbesondere bei Kombination mit PIs.⁵²

Patienten mit Polymorphismen der Gene für Enzyme, die Medikamente verstoffwechseln, können veränderte Serumspiegel haben und angepasste Dosierungen benötigen.⁵³

1.7. Die Pharmakokinetik der Substanzen Lopinavir, Efavirenz und Nevirapin in der pädiatrischen HIV-Therapie

Im Folgenden sollen einige pharmakologische Eigenschaften und pharmakokinetische Kenngrößen von LPV, EFV und NVP beschrieben werden. Zunächst folgen einige allgemeine Erläuterungen:

Die Pharmakokinetik beschäftigt sich mit der Beschreibung der Prozesse eines Medikaments im menschlichen Körper nach seiner Einnahme von der Resorption über die Verteilung und Metabolisierung bis zur Ausscheidung.

Zu den im TDM der ART eingesetzten Kenngrößen gehören u.a. die Halbwertszeit (HWZ) $= t_{1/2}$, AUC („area under the curve“), einem Ausdruck der Bioverfügbarkeit eines Pharmakons, die Maximale Serumkonzentration im Dosisintervall $= c_{max}$, die u.a. der Einschätzung der Toxizität dient, der Talspiegel (Serumkonzentration am Ende des Dosierungsintervalls vor der nächsten Dosis) $= c_{trough}$, die Durchschnittskonzentration unter steady-state Bedingungen $= c_{ss}$, sowie die Zeit bis zum Erreichen der Maximalen Serumkonzentration $= t_{max}$.⁵⁴

Die Pharmakokinetik von Kindern unterscheidet sich in einigen Punkten von den Verhältnissen erwachsener Patienten. Prozesse sind in der Phase des Wachstums und der Entwicklung ständigen Veränderungen unterworfen. So unterscheidet sich die gastrointestinale Resorption von der Erwachsener. Der gastrale pH-Wert liegt bis zum Alter von 5 Jahren höher. Es bestehen Unterschiede in der Geschwindigkeit der Magendarmpassage, sowie der Gallenfunktion. Auch können die Empfehlungen zu bestimmten Essverhalten bei der Medikamenteneinnahme Schwierigkeiten für sehr junge Kinder bedeuten, da diese z.B. ein Fasten oder sehr fettige Malzeiten fordern. Auch die Distribution der Medikamente im Körper verändert sich mit dem Altern der Kinder durch eine Reduktion des Gesamtkörperwasseranteils von nahezu 80% auf 55-60% schon während des ersten Lebensjahres. Die Enzym-Aktivität des CYP-450-Systems in der Leber liegt bei Geburt nur bei 20-70% der eines Erwachsenen, übertrifft diese dann im Kleinkindalter, um sich am Ende der Pubertät an erwachsene Enzymaktivität anzugleichen. Ähnlich verhält es sich mit der Nierenfunktion.^{55,56}

1.7.1. Lopinavir

In einer Studie von *Chadwick et. al.* (2008), in der 21 Patienten im Alter zwischen 6 Wochen und 6 Monaten lag der c_{trough} bei 2.680 ng/ml (SD = 2.700 ng/ml). In einer Zulassungsstudie für Säuglinge und Kleinkinder betrug der c_{max} 8.200 ng/ml.^{57,58}

Die Halbwertszeit $t_{1/2}$ wird mit 5-6 Stunden angegeben.⁵⁸ Als ausreichenden Richtwert für therapienaive Patienten geben amerikanische Leitlinien einen c_{trough} von 1.000 ng/ml an. Bei therapieerfahrenen Patienten reichten c_{trough} -Werte über 4.000 mg/l aus für eine regelrechte virale Suppression.^{58,59} Während unerwünschte Nebenwirkungen wie Dyslipidämie, gastrointestinale Symptome wie Durchfälle und Hepatotoxizität mit der Einnahme von Lopinavir vergesellschaftet sind, zeigte sich in bisherigen Untersuchungen jedoch keine direkte Assoziation mit dem Überschreiten eines gewissen Grenzwertes.⁶⁰

Für diese Arbeit wurden c_{max} und c_{trough} entsprechend der Altersverteilung des untersuchten Kollektivs mit 8.200 ng/ml und 1.000 ng/ml bzw. 4.000 ng/ml für therapieerfahrene Patienten definiert.

1.7.2. Efavirenz

Der NNRTI Efavirenz wird in der Therapie bei Kindern ab 3 Jahren und 10 kg Körpergewicht eingesetzt in der Regel in Kombination mit zwei NRTIs. Die Halbwertszeit $t_{1/2}$ beträgt 40-55 h. Unerwünschten Nebenwirkungen sind u. a. psychiatrische Symptome wie Alpträume und affektive Veränderungen, neurologische Symptome wie Schwindel und Kopfschmerzen, Durchfall und abdominelle Schmerzen sowie erhöhte Transaminasen (bis hin zum Leberversagen), sowie Hautausschläge.⁶¹

Der therapeutische Bereich wird von 1.000 – 4.000 ng/ml angegeben. Es konnte gezeigt werden, dass bei Spiegeln größer als 1.000 ng/ml konstant die Rate virologischen Versagens niedriger lag, als bei Spiegeln unter diesem Wert. Das Auftreten von Nebenwirkungen war bei hohen Spiegeln (> 4.000 ng/ml) dreimal häufiger als im therapeutischen Bereich und darunter.⁶²

1.7.3. Nevirapin

Der NNRTI Nevirapin wird in Südafrika u.a. für die Prophylaxe der vertikalen Transmission des Virus von der Mutter auf das Kind (PMTCT) bei Neugeborenen

eingesetzt. Neugeborene mit normalem Geburtsgewicht erhielten in dieser Untersuchung ausschließlich die prophylaktische Dosis (beginnend mit 1x tägl. 15 mg), welche gewichtsadaptiert gesteigert wurde.^{63,64} Die Leitlinie der WHO empfiehlt einen Ziel- $c_{trough} > 100$ ng/ml, was dem 10fachen des IC50 in vitro entspricht und auch als Ziel-Talspiegel in anderen Studien für die Prophylaxe von Neugeborenen herangezogen wurde.^{65,66} Dieser Zielwert liegt viel niedriger als der für die Therapie angestrebte c_{trough} 3.000 (bzw. 3.500)-5.000 ng/ml.

Bezüglich der Toxizität ist kein exakter Wert bekannt, ab dem Nebenwirkungen häufiger auftreten. In einer Studie wurden Transaminasen-Anstiege ab einem Serum-Spiegel von > 6.000 ng/ml vermehrt beobachtet.⁶⁷ Zu den beobachteten Nebenwirkung zählen des Weiteren Hautveränderungen, Neutropenie und Lebertoxizität.⁶⁶ Tmax für NVP liegt bei 4 Stunden, $t_{1/2}$ bei 25-30 Stunden. Die HWZ wird bei Neugeborenen allerdings höher eingeschätzt, da der Metabolismus in der Leber noch unreif ist.⁶⁸

2. Fragestellung

Therapeutisches Drug Monitoring ist in die Versorgungsstrategie HIV-Infizierter in den Industriestaaten der westlichen Welt implementiert. In einem der am stärksten von der HIV-Epidemie betroffenen Länder, Südafrika, spielt es in der klinischen Routine bisher allerdings nur eine geringe Rolle. Die Epidemiologie, die Patientenkollektive und die Bedingungen für eine HIV-Therapie in Südafrika unterscheiden sich zum Teil erheblich von denen in Deutschland, weshalb auch Unterschiede bei der Pharmakokinetik und der Adhärenz denkbar wären.

Die Gesamtstudie „The role of therapeutic drug monitoring (TDM) on antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS in Southern Africa“ im Rahmen des Graduiertenkollegs 1522 untersucht deshalb die Rolle des Therapeutischen Drug Monitorings bei Patienten im südlichen Afrika. Diese Arbeit beschäftigt sich mit einem speziellen Patientenkollektiv innerhalb dieser Gesamtstudie.

Bei circa 240.000 HIV-exponierten Neugeborenen und nahezu 5.000 Neuinfektionen bei Kindern mit HIV alleine in Südafrika im Jahr 2011,²⁰ wird heute auch in der Pädiatrie häufig die Indikation zum Einsatz antiretroviral wirksamer Substanzen gestellt. Unter der momentanen Annahme, dass eine c-ART bei Infektion lebenslang eingenommen werden muss, ist bei Kindern häufig mit einer Jahrzehnte dauernden Einnahme der Medikamente zu rechnen. Besonders in diesen Fällen sind die Aspekte Resistenzentwicklung bzw. Langzeit-Toxizität bei ARVs entscheidend.

Die hohe Inzidenz vertikaler Expositionen (ca. 30 % aller Schwangeren in Südafrika) macht eine suffiziente Expositions-Prophylaxe der Neugeborenen wichtig. Präventionsstrategien beinhalten unter anderem eine prophylaktische Einnahme antiretroviraler Substanzen der Neugeborenen für mindestens 6 Wochen. Die weit verbreitete Armut in Südafrika zwingt viele Mütter trotz der Gefahr der Übertragung des Virus über die Muttermilch zum Stillen, da sie sich eine reine Formula-Ernährung, wie in westlichen Industriestaaten empfohlen, nicht leisten können. Besonders in diesen Fällen erfolgt eine längerfristige Prophylaxe mit ARVs über viele Monate und man muss sich

den Fragen von Resistenzentwicklung und Toxizität durch inadäquate Serumspiegel zur Prophylaxe eingesetzter Substanzen stellen.

Die physiologischen Veränderungen heranwachsender Patienten führen zu einer schwerer vorhersehbaren Pharmakokinetik der antiretroviralen Substanzen. Auch dies veranlasst die Frage nach Serumkonzentrationen in den verschiedenen Facetten der pädiatrischen Therapie in Südafrika.

Das TDM eröffnet neben den in der klinischen Praxis etablierten Kontrollparametern - Viruslast und CD4-Zahl - die Möglichkeit, weitere prädiktive Parameter für einen Therapieerfolg oder therapieassoziierte Probleme zu messen. So konnte in Studien mit Kindern unter c-ART, bei denen Dosisanpassung infolge pharmakokinetischer Bestimmungen erfolgten, gezeigt werden, dass deren virologisches Ansprechen dem von Kindern mit starren Dosierungs-Regimen überlegen war.^{47,69,70}

Wenn auch die Rolle eines generellen TDMs bei der antiretroviralen Therapie bisher unklar ist, ist sein Nutzen bei der Therapiekontrolle spezieller Patientenpopulationen durchaus bekannt.⁷¹⁻⁷⁴ Wenige verlässliche Daten und Empfehlungen über den Einsatz von Serumspiegelmessungen existieren hingegen für die pädiatrische HIV-Therapie.

Obwohl z.B. der Protease Inhibitor Lopinavir als First-Line-Option der kombinierten antiretroviralen Therapie von verschiedenen internationalen Leitlinien empfohlen wird, weiß man nur sehr wenig über die Pharmakokinetik von Lopinavir bei schwer erkrankten Kindern in der täglichen klinischen Praxis.⁷⁵ Ähnliches gilt für die Pharmakokinetik des sehr häufig als Expositionsprophylaxe eingesetzten NVP.

Insbesondere für Säuglinge und Kleinkinder wurden pharmakokinetische Daten vor allem in kontrollierten Zulassungsstudien mit klinisch stabilen Patienten generiert. Diese suggerierten, dass kleine Patienten unter einem Alter von zwei Jahren ein erhöhtes Risiko für eine inadäquat niedrige PI-Exposition haben und dass bei ihnen bei der Therapie mit Protease Inhibitoren eine höhere intra- und interindividuelle Variabilität bei den Serumkonzentrationen vorlag.^{57,76-78}

Bei den Patienten dieser prospektiven Untersuchung handelte es sich ausschließlich um Säuglinge und Neugeborene auf einer Intensivstation. Es wurde neben der Erhebung biometrischer und klinischer Parameter eine Querschnittserhebung der Serumkonzentrationen im Rahmen eines Therapeutischen Drug Monitorings durchgeführt. Im Wesentlichen galt es dabei, zu untersuchen, welche Serumspiegel von LPV und NVP sich bei diesem exklusiven Patientengut schwerstkranker Neugeborener und Säuglinge in der klinischen Realität abseits von kontrollierten Zulassungsstudien bei klinisch stabilen Kindern einstellten. Hierbei sollten Risikofaktoren für eine inadäquate Exposition gegenüber der jeweils gemessenen Substanz identifiziert werden.

Des Weiteren bot sich die Gelegenheit, die LPV-Serumspiegel intensivmedizinisch betreuter Kinder, bei denen eine totale Adhärenz angenommen werden konnte, mit denen in der gleichen Klinik ambulant angebundener Kinder zu vergleichen, bei denen die Medikation vor allem durch Erziehungsberechtigte verabreicht wurde. Hierbei sollte das Potential von TDM beim Adhärenz-Monitoring untersucht werden. Zusammenfassend ergaben sich folgende Fragestellungen:

- Wie stellt sich die Medikamentenexposition kritisch kranker Säuglinge und Kleinkinder gegenüber den gemessenen antiretroviralen Substanzen in der klinischen Praxis dar?
- Wie groß ist der Anteil an Patienten mit einer inadäquaten Exposition?
- Welche Risikofaktoren für eine inadäquate Medikamentenexposition lassen sich bei dieser Patientenpopulation identifizieren?
- Wie groß sind intraindividuelle Schwankungen der Serumkonzentrationen bei Patienten mit Mehrfachmessungen? Welche Risikofaktoren gibt es für große intraindividuelle Serumspiegel-Schwankungen?
- Welche Rolle kann ein TDM bei der Versorgung von mit HIV infizierten Säuglingen und Kleinkindern spielen?
- Welche Unterschiede zeigen sich bei einem Vergleich der Serum-Spiegel intensivmedizinisch betreuter Kinder mit denen ambulant angebundener Kinder? Welche Rolle des TDM im Hinblick auf die Adhärenz lässt sich aus einem möglichen Unterschied ableiten?

3. Patienten, Material und Methodik

Die prospektive Untersuchung wurde im Rahmen des Graduiertenkollegs *IRTG 1522* (International Research Training Group) als Teil des übergeordneten Projekts mit dem Titel „The impact of therapeutic drug monitoring (TDM) on antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS“ durchgeführt.

Von den im Studienprotokoll gelisteten Patientengruppen wurden in dieser Studie ausschließlich Patienten auf einer pädiatrischen Intensivstation untersucht. Die Rekrutierung fand im Zeitraum von Dezember 2012 bis Februar 2013 auf der *Pediatric Intensive Care Unit (PICU)* des *Tygerberg Hospital*, dem Universitätsklinikum der *Universtiy of Stellenbosch*, in Kapstadt, Südafrika, statt.

Vor Beginn der Untersuchung wurde ein Votum (Nr. N09/05/151). des örtlichen Ethik Komitees, des *Tygerberg Hospital Health Research Ethic Comitees*, eingeholt. Der Verfasser dieser Arbeit war als Teilnehmer der *IRTG 1522* für die Rekrutierung und Aufklärung der Sorgeberechtigten, Erhebung studienrelevanter Parameter, Entnahme und Weiterverarbeitung der Blutproben im Rahmen des TDM sowie für die Administration und Organisation von Daten, Probenmaterial und Versand in das TDM-Labor der Medizinischen Klinik II des Universitätsklinikum Würzburg verantwortlich.

3.1.1. Erhebung der Daten

Zwischen Dezember 2012 und Februar 2013 erklärten die Erziehungsberechtigten von 16 Kindern, die in diesem Zeitraum auf der PICU des Tygerberg Hospitals in Kapstadt behandelt wurden, ihr Einverständnis für die Teilnahme ihres Kindes an der Untersuchung. Es wurden im Rahmen von Routineblutentnahmen 23 Blutproben (à circa 2ml) entnommen, um ein TDM (s.u.) durchzuführen. Noch vor Entnahme der Blutproben wurden 2 Patienten aus der Studie ausgeschlossen, da ihr kritischer Gesundheitszustand eine Blutentnahme nicht erlaubte. Besagte Patienten verstarben jeweils kurz nach Einholung des Einverständnisses durch die Erziehungsberechtigten. Neben den

Blutproben wurden u.a. durch körperliche Untersuchung und Durchsicht der Krankenakten folgende Parameter erhoben:

- Alter
- Geschlecht
- ethnische Zugehörigkeit
- Gewicht
- Körperlänge
- Body-Mass-Index (BMI)
- Körperoberfläche
- Ernährungszustand
- Zeitpunkt der HIV-Diagnose
- WHO-Stadium
- Begleiterkrankungen
- Begleitmedikationen
- Laborparameter: CD4-Zellzahl, Viruslast, Serum-Kreatinin, AST, ALT, Serum-Albumin, Hämoglobin, Leuko-/Thrombozytenzahl
- Zeitpunkt, Art und Menge der Nahrungsaufnahme

TDM-spezifisch wurden zusätzlich folgende Parameter erhoben:

- Antiretrovirales Therapieschema
- Dosis der ARVs
- Dauer der Therapie
- genauer Zeitpunkt und Art der Einnahme
- genauer Zeitpunkt der Probenentnahme

Teilweise war eine Dokumentation der CD4-Zahlen bzw. der Viruslast aufgrund fehlender Bestimmungen durch die Klinik nicht möglich.

Die ARVs wurden auf der pädiatrischen Intensivstation, auf welcher diese Untersuchung stattfand, ausschließlich durch qualifiziertes Pflegepersonal nach einem Medikamentenplan verabreicht. Der Zeitpunkt der Applikation wurde durch das

Pflegepersonal dokumentiert. Adhärenz-Probleme waren im Setting dieser Studie nahezu ausgeschlossen.

Zusätzlich wurden Serumspiegel und klinische Parameter aus dem Originaldatensatz der Arbeit von *von Bibra et al. (2014), IRTG 1522* herangezogen, um einen Vergleich zwischen Messungen in einem ambulanten und einem intensivmedizinischen Setting anzustellen.⁷⁹

3.1.2. Einschlusskriterien

Einschlusskriterien zur Teilnahme an der Studie waren eine bestehende HIV-Infektion bzw. eine vertikale Exposition des Patienten durch eine HIV-positive Mutter sowie die Einnahme folgender antiretroviraler Substanzen zur Therapie bzw. Expositionsprophylaxe: Nevirapin, Lopinavir, Efavirenz. Des Weiteren wurden nur Patienten auf der pädiatrischen Intensivstation des Tygerberg Hospitals in Kapstadt in die Studie aufgenommen. Der *steady state* der Medikamentenspiegel im Serum der Patienten musste zum Zeitpunkt der Probenentnahme erreicht sein. Dies ist unter regelmäßiger Einnahme nach 5 Halbwertszeiten $t_{1/2}$ der jeweiligen Substanz nach erster Einnahme der Fall. Probenentnahmen zu Studienzwecken durften aus ethischen Gründen ausschließlich zum Zeitpunkt von Routineblutentnahmen stattfinden.

3.1.3. Ausschlusskriterien

Zu den Ausschlusskriterien zählten ein zu kritischer Gesundheitszustand des Patienten, der die zusätzliche Entnahme von 2ml Blut nicht erlaubte, sowie ein nicht erreichter *steady state* zum Zeitpunkt der geplanten Blutentnahme. Eine fehlende Einverständniserklärung der Eltern war ebenso ein Ausschlusskriterium. Aufklärungsformulare lagen in den in der Westkap Region am häufigsten gesprochenen Sprachen Englisch, Afrikaans und isiXhosa vor. In einigen Fällen wurde der Verfasser der Arbeit von einer Übersetzerin oder einem Übersetzer bei der Aufklärung unterstützt.

3.2. Methoden

3.2.1. Verarbeitung der Blutproben im Pharmakologischen Institut der Universität Stellenbosch

Die Blutentnahme erfolgte mit Hilfe von Gel-Serumröhrchen. Nach Dokumentation des genauen Entnahmezeitpunkts erfolgte der unmittelbare Transport in das Labor des Pharmakologischen Institutes der Universität Stellenbosch. Die Proben wurden dort mit 4000 Umdrehungen/min 10 min lang zentrifugiert (Gerät der Firma Beckman®) und das Serum wurde anschließend unter Verwendung einer Eppendorf-Pipette® abpipettiert und in einem Wasserbad bei 56°C für 60 min inaktiviert. In Kryo-Röhrchen wurden die inaktivierten Serumproben dann bei -80°C gelagert, bis sie schließlich auf Trockeneis an das TDM-Labor der Medizinischen Klinik II der Universitätsklinik Würzburg versandt wurden.

Dort erfolgte die Messung der Serumspiegel der Substanzen LPV, EFV und NVP durch die Mitarbeiter des Labors mit Hilfe der „High Performance Liquid Chromatography“ (HPLC) bzw. der Gaschromatographie (GC).

3.2.2. Methodik zur Quantifizierung von Lopinavir im Serum

Lopinavir wurde mit der HPLC gemessen. Zur Vorbereitung der Messung durch die HPLC wurden die LPV/r enthaltenden Proben zunächst bei Raumtemperatur aufgetaut und anschließend mit dem Vortexmischer gründlich durchmischt. Zur weiteren Vorbereitung wurde das Prinzip der „dry extraction“ angewandt. Hierzu wurde jeder Probe 25µl eines für die LPV/r speziellen Internen Standards (ISTD), 500 µl Na-Carbonatpuffer pH 9,4 und 500µl Patienten bzw. Eich-Serum hinzugegeben.

Anschließend wurde mit Diethylether extrahiert. Hierbei wurden zunächst 3ml Diethylether hinzugefügt, um eine Phasenauftrennung in eine wässrige und eine organische Phase zu erreichen. Die organische Phase wurde mit einer Pipette abgehoben und zusätzlich bei 37°C im N₂ – Strom verdampft. Anschließend wurde der

trockene, sich an der Wand der Probengläschen befindliche Extrakt in 220µl 20 mmol KH₂PO₄:MeOH:CH₃CN (1:0,5:0,5 pH 4,9 v/v) gelöst. Alle Proben wurden mit n-Hexan gewaschen und zentrifugiert. Das n-Hexan wurde danach dekantiert und verworfen. Der Rückstand wurde in Probenvials überführt. Es wurden automatisiert 20 µl des Rückstands jeder Probe in das HPLC-System injiziert.

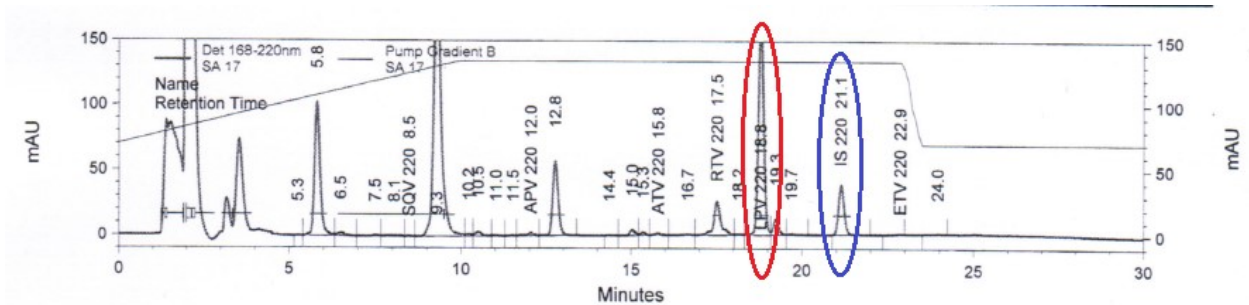


Abbildung 4: Chromatogramm eines HPLC-Laufs zur Quantifizierung einer Lopinavir-Serumkonzentration; Wellenlänge 220 nm;; mAU = milli absorption units; LPV= Lopinavir (rote Markierung); gemessene LPV-Konzentration: 6.330 ng/ml); IS = Interner Standard (blaue Markierung)

Das HPLC-System bestand aus dem Beckmann Gold System (32 Karat), dem Pumpenmodul 126, dem Autosampler 508 und dem Dioden Array - Detektor 168. Die chromatographische Auftrennung erfolgte mit Hilfe einer Kieselgelsäule. Gemessen wurde bei einer Wellenlänge von 220 nm. Als mobile Phase wurde ein Laufmittelgemisch aus zwei Laufmitteln verwendet. Als Gradient für die Auftrennung dienten variable Konzentrationsverhältnisse der beiden Laufmittel. Der Bereich von 250 – 6.000 ng LPV/ml Serum wurde geeicht. Das *lower limit of quantification* (LLQ) dieser Methode liegt bei 125 ng/ml, das *upper limit of quantification* (ULQ) bei 20.000 ng/ml.⁸⁰

3.2.3. Methodik zur Quantifizierung von Nevirapin im Serum

NVP wurde im Serum mit Hilfe der Gaschromatographie quantifiziert. Um die Serumproben in einem Gaschromatographen messen zu können, wurden sie zunächst bei Raumtemperatur aufgetaut und mit einem Vortexmischer gleichmäßig durchmischt. Zur weiteren Vorbereitung wurde das Prinzip der „dry extraction“ angewandt. Hierzu wurden 500 µl Na-Carbonat Puffer mit pH 9,4 zu 250 µl Patientenserum und 25 µl

Interner Standard (ISTD) hinzugegeben. Als ISTD wurde 1%ige Scandicain-Lösung genutzt. Anschließend wurde mit Diethylether extrahiert. Hierbei wurden zunächst 3ml Diethylether hinzugefügt, um eine Phasenauftrennung in eine wässrige und eine organische Phase zu erreichen.

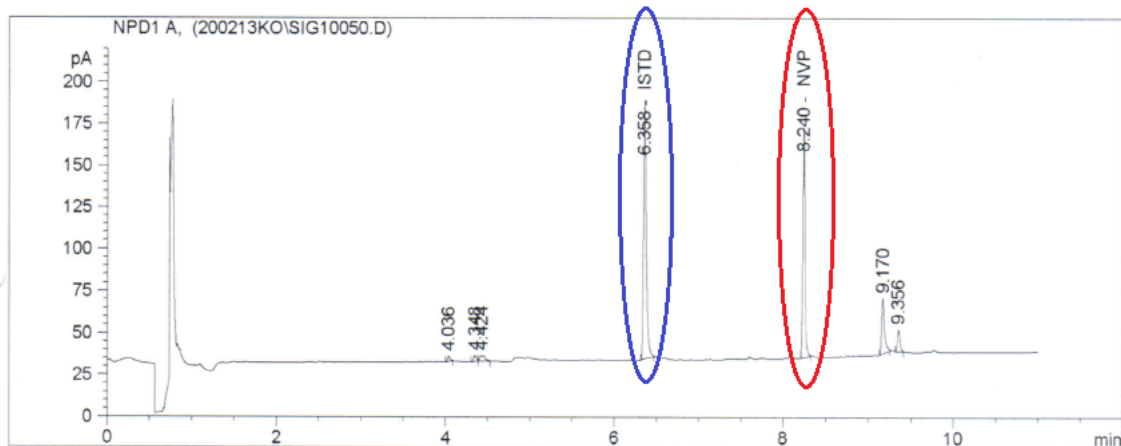


Abbildung 5: Beispiel-Chromatogramm eines Gaschromatographie-Laufs zur Bestimmung einer Nevirapin-Serumkonzentration; ISTD = interner Standard (blaue Markierung); NVP = Nevirapin (rote Markierung; gemessene NVP-Konzentration: 2.131 ng/ml) ; pA= pico Ampere

Die organische Phase wurde mit einer Pipette abgehoben und zusätzlich bei 40°C im N₂ – Strom verdampft. Die Eichkonzentrationen wurden aus einer NVP-Stammlösung bestehend aus 5 mg NVP ad 100 ml Dimethylsulfoxid (1:1 v/v) hergestellt. Das lower limit of quantitation (LLQ) lag bei 125 ng/ml, das upper limit of quantitation (ULQ) bei 20.000 ng/ml. Das trockene, sich an der Wand der Probengläschen befindliche Extrakt wurde in 300 µl Lösungsmittel (DMSO/MeOH (1:1 v/v)) gelöst und in Probenvials überführt. Aus diesen wurden automatisch je 1 ml in den Gaschromatographen injiziert.

Für die Gaschromatographie wurde ein Gaschromatograph von Agilent Technologies 6890N verwendet, der einen Autoinjektor der Serie 7683 und Nitrogen-Phosphor-Detektor (NPD) besitzt. Die Chromatographie wurde mit einer RTX-5 Amine Säule durchgeführt, die 1µm dick zu 95 % mit Dimethyl- und zu 5 % mit Diphenyl-Polysiloxane beschichtet ist. Als Trägergas für die Säule wurde Helium verwendet. Ein Luftgemisch (80 % N, 20 % O₂) und Wasserstoff (H₂) wurden als Brenngas für den Detektor verwendet.⁸¹

3.2.4. Methodik zur Quantifizierung von Efavirenz im Serum

Efavirenzspiegel wurden ebenfalls durch HPLC gemessen. Zur Vorbereitung der Messung durch die HPLC wurden die EFV enthaltenden Proben zunächst bei Raumtemperatur aufgetaut und anschließend mit dem Vortexmischer gründlich durchmischt. Zur weiteren Vorbereitung wurde das Prinzip der „dry extraction“ angewandt.

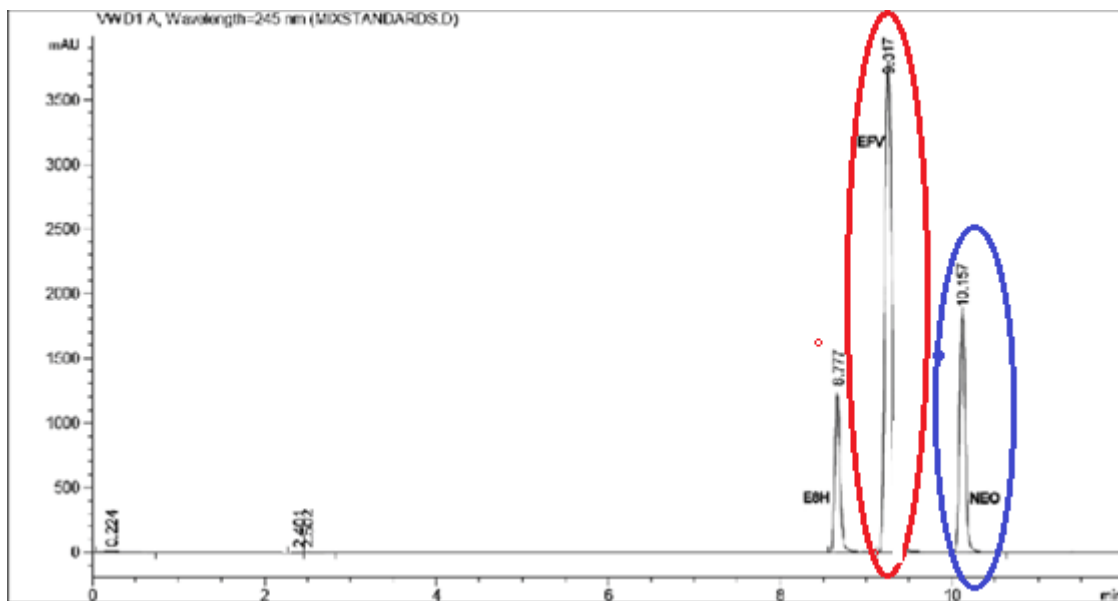


Abbildung 6: Chromatogramm eines HPLC-Laufs zur Quantifizierung eines Efavirenz-Serumspiegels und des EFV-Metaboliten E8H; Wellenlänge = 245nm; mAU = milli absorption units; EFV= Efavirenz (rote Markierung; gemessene EFV-Konzentration 1.515 ng/ml); NEO= Neostigmin (= interner Standard; blaue Markierung); E8H= 8-Hydroxy-Efavirenz

Es wurden jeder Probe 25µl interner Standard, 500 µl Sörensen-Phosphatpuffer pH 7,0 und 200 µl Patientenserum bzw. Eichlösung zugemischt. Anschließend wurde mit Diethylether extrahiert. Hierbei wurden zunächst 3ml Diethylether hinzugefügt, um eine Phasenauftrennung in eine wässrige und eine organische Phase zu erreichen. Die organische Phase wurde mit einer Pipette abgehoben und zusätzlich bei 37°C im N₂ – Strom verdampft. Anschließend wurde der trockene, sich an der Wand der Probengläschen befindliche Extrakt in 300 µl Lösungsmittelgemisch gelöst und zentrifugiert. Der gesamte gelöste Rückstand wurde in Probenvials überführt. Dann wurden automatisiert 100 µl in das HPLC-System injiziert.

Das HPLC Beckmann Gold System besteht aus dem Pumpenmodul 125, dem Autosampler 508 und dem Dioden Array - Detektor 168. Die chromatographische Auftrennung erfolgte mit Hilfe einer Kieselgelsäule. Es wurde bei den Wellenlängen von 245 und 255 nm gemessen. Als mobile Phase wurde ein Gemisch aus zwei Laufmitteln verwendet. Die Eichkonzentrationen wurden aus einer Stammlösung aus 10mg Efavirenz und 10 mg Tipranavir in 100ml MeOH: 1/15 KH₂PO₄ (1:1; v/v) und einer daraus hergestellten Verdünnungslösung hergestellt. Als Gradient für die Auftrennung dienten variable Konzentrationsverhältnisse der beiden Laufmittel. Mit diesen Lösungen wurde der Bereich von 250 - 10.000 ng EFV/ml Serum kalibriert. Das LLQ dieser Methode liegt bei 125 ng EFV/ml Serum, das ULQ bei 15.000 ng EFV/ml Serum.⁸²

3.3. Statistische Methoden

Folgende Werte wurden zur statistischen Auswertung verwendet: Stichprobengröße, Median, Mittelwert, Standardabweichung, Minimum, Maximum, 1. – und 3. Quartil. Da von den Patienten teils unterschiedliche Anzahlen an Proben vorlagen, wurde für diese Fälle bei einigen Berechnungen der Mittelwert der gemessenen Serumspiegel herangezogen.

Um welche Grundgesamtheit es sich bei der jeweiligen Berechnung handelt, wird bei der Darstellung jeweils erläutert. Die Darstellung der Daten erfolgte mittels Balken-, Torten- oder Streudiagrammen. Bei der Verwendung von Boxplots, durch die die Lage und Streuung der Daten abgelesen werden kann, stellt der Querstrich in der Box den Median dar. Die Box stellt den Bereich zwischen 1. – und 3.Quartil dar (also 50% der Messungen). Die Whisker decken maximal die 1,5-fache Länge der Box ab, können aber auch innerhalb dieses Bereiches bei der höchsten bzw. niedrigsten Messung enden. Extreme Messwerte – außerhalb der 1,5-fachen Länge der Box vom Median – sind als Ausreißer in der Darstellung markiert (mit dem jeweiligen Messwert).

Aufgrund der numerisch kleinen Grundgesamtheit wurde nicht von einer Normalverteilung der Daten ausgegangen. Zur Untersuchung der Korrelation zwischen

zwei numerischen Variablen wurde die Spearman-Korrelation für nicht-parametrische Daten verwendet. Zur Untersuchung des Unterschieds einer numerischen Variablen zwischen zwei Gruppen wurde der nicht-parametrische Mann-Whitney-U-Test angewandt. Zur Untersuchung des Unterschieds einer relativen Variable zwischen zwei Gruppen wurde der Binomialverteilungstest angewandt. Bei den Untersuchungen wurde ein Signifikanzniveau von 5 % angesetzt. Eine Ablehnung der Nullhypothese erfolgte bei einem p-Wert, der kleiner als 0,05 war. In diesen Fällen wurde ein Unterschied als signifikant nachgewiesen. Bei einem p-Wert größer als 0,05 und kleiner als 0,1 wurde ein marginal signifikanter Unterschied nachgewiesen. Die Nullhypothese wurde bei p-Werten größer als 0,05 beibehalten. Zur Berechnung der Körperoberfläche, welche bei der Beurteilung der pädiatrischen ARV-Dosierung entscheidend ist, wurde die Formel nach *Mosteller* verwendet. Die statistische Auswertung und die Erstellung der Graphen erfolgte mithilfe der Software SPSS™ von IBM®.

4. Ergebnisse

4.1. Patientenkollektiv

Nach Erfüllen der Einschlusskriterien und Einholen der Einverständniserklärung wurden Blutproben, klinische sowie biometrische Daten von 14 Patienten gesammelt. Die Rekrutierung gestaltete sich teilweise sehr schwierig. So konnten von drei potentiellen Studienpatienten die Erziehungsberechtigten nicht mehr ausfindig gemacht werden. Bei den Eltern zweier weiterer Kinder war keine adäquate Aufklärung möglich, da kein Übersetzer erreichbar war. Zwei moribunde Kinder starben jeweils kurz nach der Einholung des Einverständnisses der Eltern.

Es wurden von jedem Patienten zwischen einer und vier Blutproben gesammelt, was zu einer Gesamtzahl von 24 Proben führte. Die unterschiedlichen Probenzahlen pro Studienpatient werden in den folgenden Darstellungen berücksichtigt.

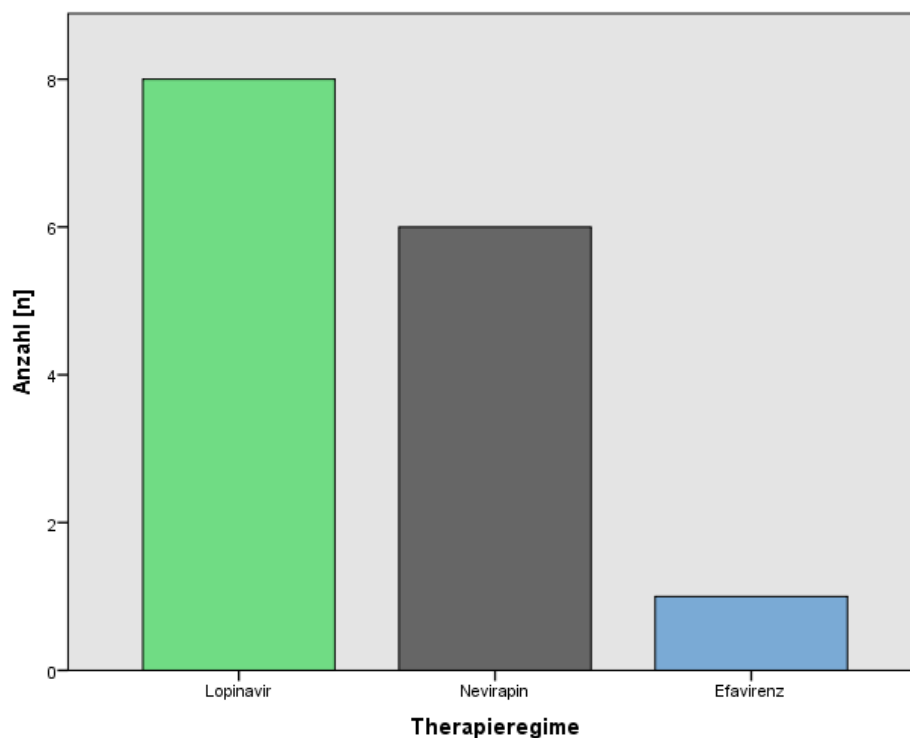


Abbildung 7: Zahlenmäßige Verteilung des untersuchten Patientenkollektivs auf die in dieser Untersuchung eingesetzten Therapie-Regime

Es wurden bei 8 Patienten die Serumspiegel von LPV untersucht und bei 6 Patienten die Serumspiegel von NVP. Nur ein Patient des untersuchten Patientenkollektivs erhielt EFV. Dieser wird im Rahmen einer Fallstudie beschrieben. Abbildung 7 zeigt die Verteilung der Patienten auf die eingesetzten Therapie-Regime. Bei einer Patientin wurden sowohl Spiegel des NVP, welches sie im Rahmen der Chemoprophylaxe für die Mutter-zu-Kind-Übertragung erhielt, als auch Spiegel des LPV gemessen. Bei der Patientin wurde im Verlauf eine HIV-Infektion festgestellt und die Behandlung (HAART) mit LPV/r, Abacavir und Lamivudin initiiert. Nach Erreichen des *steady states* wurden dann auch Messungen der LPV-Spiegel durchgeführt. Eine Patientin, die an einer disseminierten *M. Tuberculosis*-Infektion litt, erhielt aufgrund ihrer Therapie mit dem CYP-450-Enzym-Induktor Rifampicin (140mg tägl.) eine zusätzliche Dosis des PI-Boosters Ritonavir (120 mg).

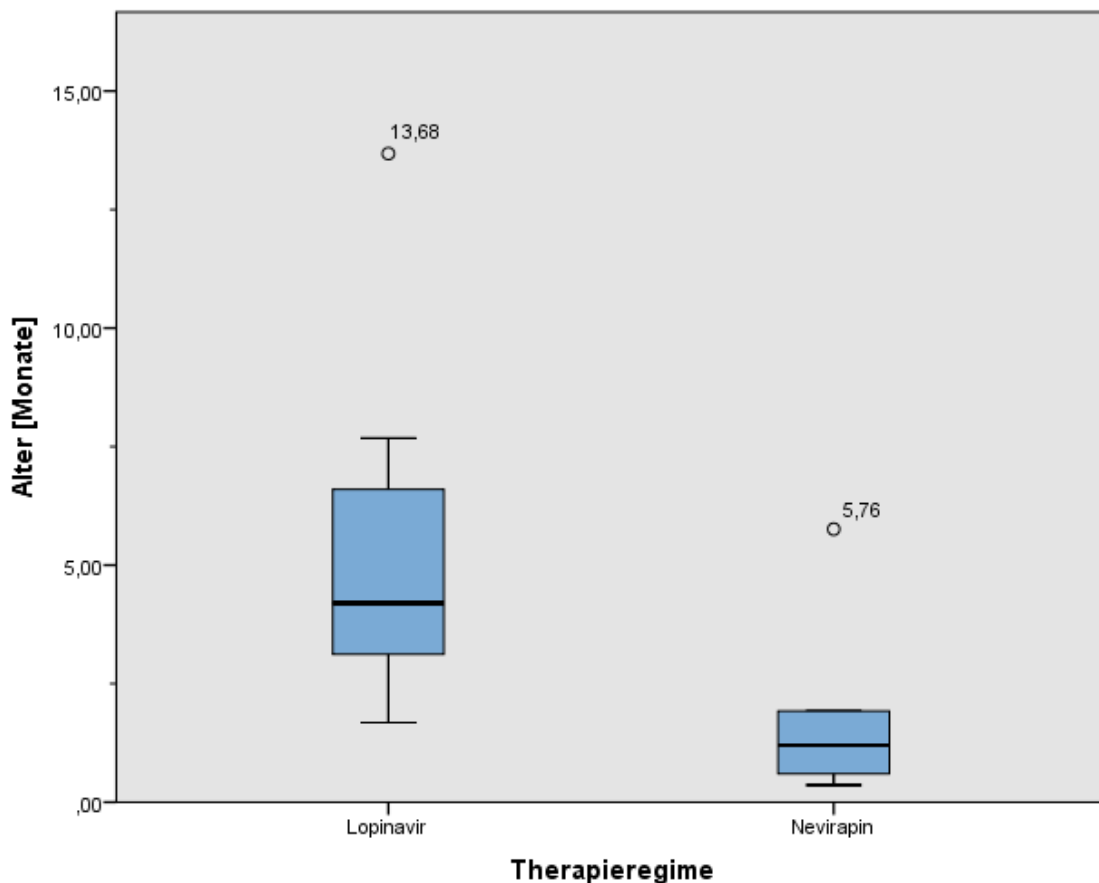


Abbildung 8: Altersverteilung und Therapieregime des untersuchten Patientenkollektivs. Ein Patient ist sowohl in der LPV- als auch in der NVP-Gruppe abgebildet

Bei einer der 24 Proben war die Messung des LPV-Spiegels aufgrund optischer Überlagerungen nicht erfolgreich. Somit wurden 23 Drug-Monitoring-Analysen, die von 14 Patienten stammten, durchgeführt.

Das Durchschnittsalter aller Patienten des Kollektivs betrug am Tag der Blutentnahme 13,3 Monate mit einer Spanne von 0,4 Monaten (11 Tage) bis 134,3 Monaten (11,2 Jahre). Von den 14 Patienten waren 28,6% (4) männlich und 71,4% (10) weiblich.

Wie in Abbildung 8 dargestellt, betrug bei den 8 Patienten, deren Therapieregime LPV enthielt (LPV-Gruppe), das mediane Alter 4,2 Monaten (Durchschnittsalter: 5,4 Monate) mit einer Spanne von 1,7 bis 13,7 Monate.

Bei den 6 Patienten, deren Therapieregime NVP enthielt (NVP-Gruppe), lag das mediane Alter bei 1,2 Monaten (Durchschnittsalter Alter 1,8 Monate) mit einer Spanne von 0,4 Monaten bis 5,8 Monate.

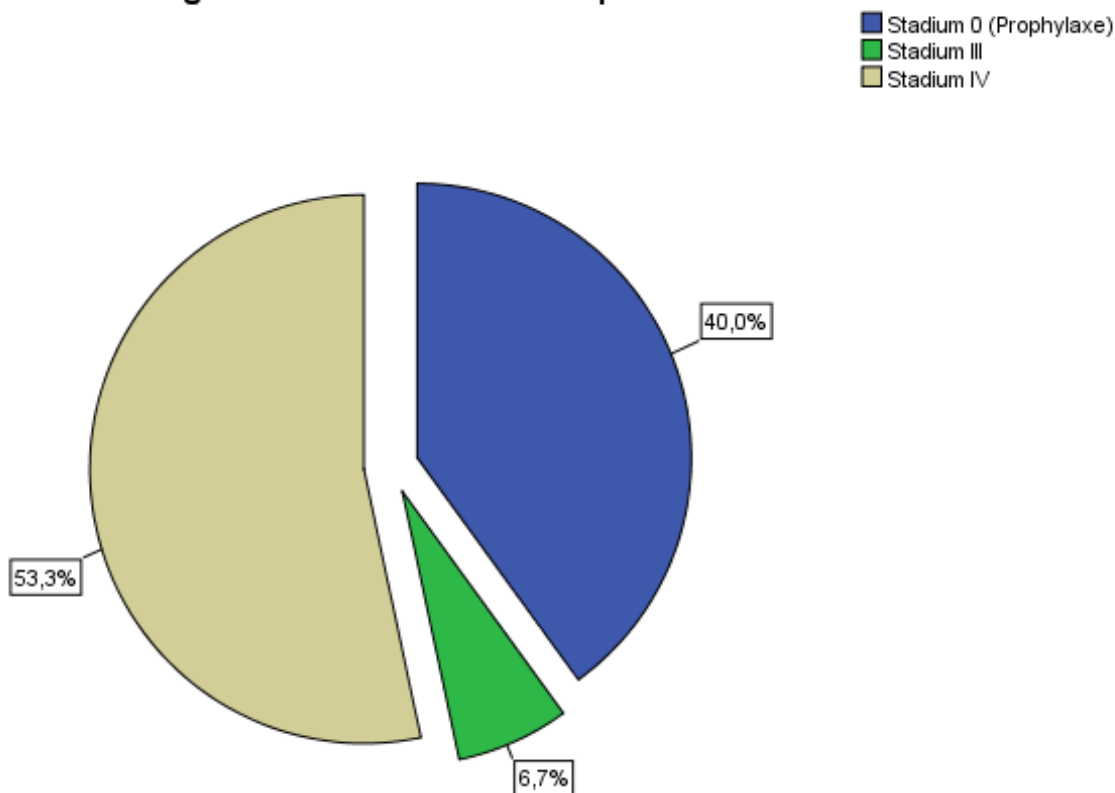
Der Patient, dessen Therapieregime EFV enthielt, war zum Zeitpunkt der Blutentnahme 134,3 Monate (11,2 Jahre) alt.

Dokumentierte Komorbiditäten waren Pneumonie (inklusive Pneumocystis jirovecii- und Cytomegalie-Virus-Pneumonie) (n= 12), Gastroenteritis (n= 7), Sepsis (n= 3), akute Herzinsuffizienz (n= 2), pulmonale Hämorrhagie (n= 2), bakterielle Meningitis (n= 1), Lungentuberkulose (n= 1) und bakterielle Konjunktivitis (n= 1).

Die Verteilung der WHO-Stadien der HIV-Erkrankung der Studienteilnehmer auf der pädiatrischen Intensivstation stellte sich wie folgt dar und ist in Abbildung 9 illustriert:

6 der 14 Patienten (40%) hatten zum Zeitpunkt der Blutentnahme jeweils keine bekannte HIV-Infektion und erhielten antiretrovirale Substanzen lediglich zur Prophylaxe. Diese Patienten wurden in dieser Studie einem „Stadium 0“ zugeordnet. Ein Patient (6,7%) befand sich im Stadium III seiner Erkrankung, 8 der 14 Patienten (53,3%) befanden sich im Stadium IV (AIDS).

Verteilung der WHO-Stadien auf der pädiatrischen Intensivstation



Patienten der WHO-Stadien I und II waren in dieser Studie nicht vertreten

Abbildung 9: Die Verteilung der HIV-WHO-Stadien des untersuchten Patientenkollektivs. Ein Patient ist doppelt aufgeführt (sowohl St. 0, als auch St. IV) (s. Erklärung unter 4.1. "Patientenkollektiv".)

Eine Patientin ist in dieser Statistik doppelt abgebildet (Fallnummern K05 und K06), da sich diese zunächst durch die Einnahme der antiretroviralen Prophylaxe und nach HIV-Diagnose durch die Einnahme einer HAART für diese Studie qualifizierte (s.o.).

Alle Patienten mit dem „Krankheitsstadium 0 (Prophylaxe)“ erhielten den NNRTI Nevirapin. Alle Patienten mit dem WHO Stadium IV erhielten ein antiretrovirales Therapieregime, welches den PI Lopinavir/r enthielt. Der einzelne Patient mit dem WHO-Stadium III erhielt ein Therapieregime mit dem NNRTI Efavirenz.

Tabelle 3 zeigt Art und Häufigkeit der beim untersuchten Patientenkollektiv auf der pädiatrischen Intensivstation eingesetzten Substanzkombinationen auf.

Tabelle 3: Eingesetzte Substanzen bzw. Substanzkombinationen in der c-ART des untersuchten Patientenkollektivs. Die in dieser Untersuchung gemessene Substanz ist jeweils fettgedruckt.

Substanzen-/Kombinationen eingesetzt (<u>gemessen</u>)	Anzahl
<u>NVP</u> (Prophylaxe)	6
<u>LPV</u> /r/ABC/3TC	7
<u>LPV</u> /r/ABC/3TC/RTV	1
<u>EFV</u> /ABC/3TC	1

4.2. Nevirapin-Serumspiegel

Es wurden bei 7 Proben von 6 Patienten die Nevirapin-Spiegel bestimmt. Lagen von einem Patienten mehrere Proben vor, wurde aus den Ergebnissen der Messungen das arithmetische Mittel gebildet. Im Median lagen die Serumspiegel bei 3.864 ng/ml (1.Quartil: 1.977 ng/ml; 3.Quartil: 6.506 ng/ml; MW: 4.684 ng/ml \pm SD 3.602 ng/ml).

Der höchste Wert (Maximum) für einen NVP-Serumspiegel lag bei 12.072 ng/ml, der niedrigste gemessene Wert (Minimum) lag bei 1.514 ng/ml.

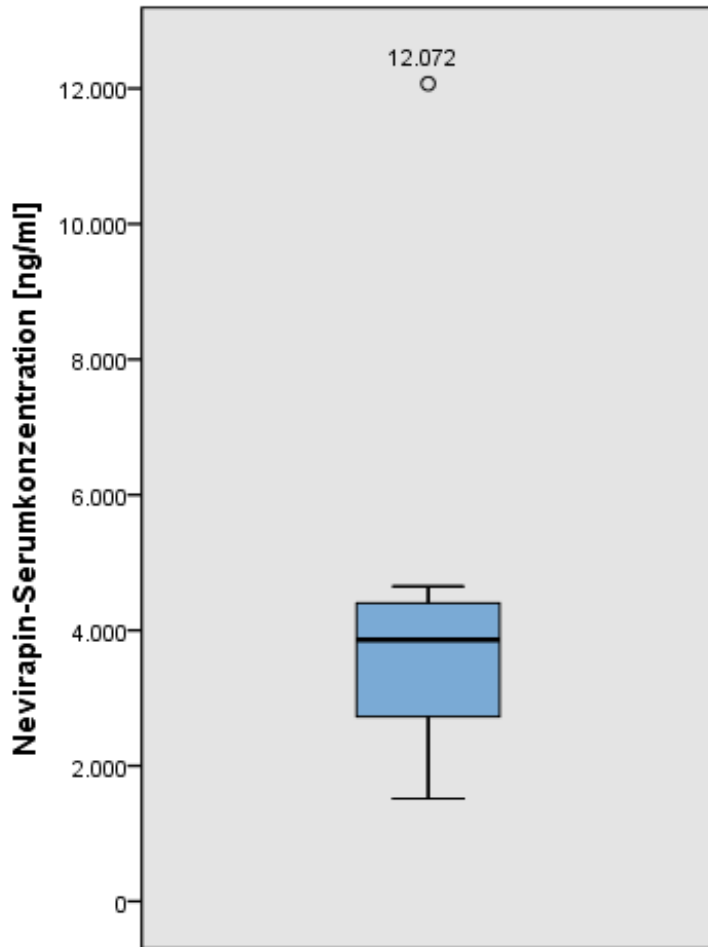


Abbildung 10: Höhe der NVP-Serumkonzentrationen im untersuchten Patientenkollektiv, welches NVP als Prophylaxe erhielt

Wie in Abbildung 10 zu sehen lagen bei allen Patienten mit einer Nevirapin-Prophylaxe die Serumspiegel höher als der für die Prophylaxe empfohlene $c_{trough} > 100$ ng/ml. 6 von 7 Patienten (83,3%) lagen mit ihren Serumspiegeln in dem Bereich 100 ng/ml $< c < 6.000$ ng/ml, wobei 6.000 ng/ml aufgrund von Studienergebnissen von *De Requena et al.* (2005) als Obergrenze für den therapeutischen Bereich gewählt wurde. Diese stellten fest, dass ab dieser Serumkonzentration vermehrt Zeichen einer Hepatotoxizität (erhöhte Transaminasen im Serum) bei den Patienten auftraten. Bei einem Patienten lag der Serumspiegel deutlich über dieser Grenze.

4.2.1. Nevirapin-Serumspiegel (Einzelproben)

Bei der Untersuchung der Serumspiegel der einzelnen Proben (die Grundgesamtheit ist hierbei die Zahl der Proben) lagen die Serumspiegel im Median bei 3.862 ng/ml (1.Quartil: 2.131 ng/ml; 3.Quartil: 4.651 ng/ml; MW: 4.529 ng/ml \pm SD 3.507 ng/ml). Der niedrigste gemessene Spiegel (Minimum) lag bei 1.514 ng/ml, der höchste gemessene Spiegel (Maximum) bei 12.072 ng/ml. Alle Proben waren über dem empfohlenen Mindest-Talspiegel für die prophylaktische Anwendung von NVP $c_{trough} \geq 100$ ng/ml. Der Spiegel einer Probe lag mit 12.072 ng/ml über der für in dieser Untersuchung gewählten Untergrenze des toxischen Bereichs von 6.000 ng/ml

4.2.2. Nevirapin-Serumspiegel und das Zeitintervall zwischen Medikamenteneinnahme und Blutentnahme

Es lagen zu allen 7 NVP-Proben exakte Einnahmezeitpunkte und somit ein genaues Zeitintervall zwischen Einnahme und Blutentnahme vor. Das mediane Intervall zwischen Einnahme von NVP und Probeentnahme lag bei 750 Minuten (MW: 843 Minuten \pm SD 556 Minuten). Die Spanne lag zwischen 120 Minuten (Minimum) und 1482 Minuten

(Maximum). Abbildung 11 zeigt die gemessenen NVP-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom Einnahmeintervall.

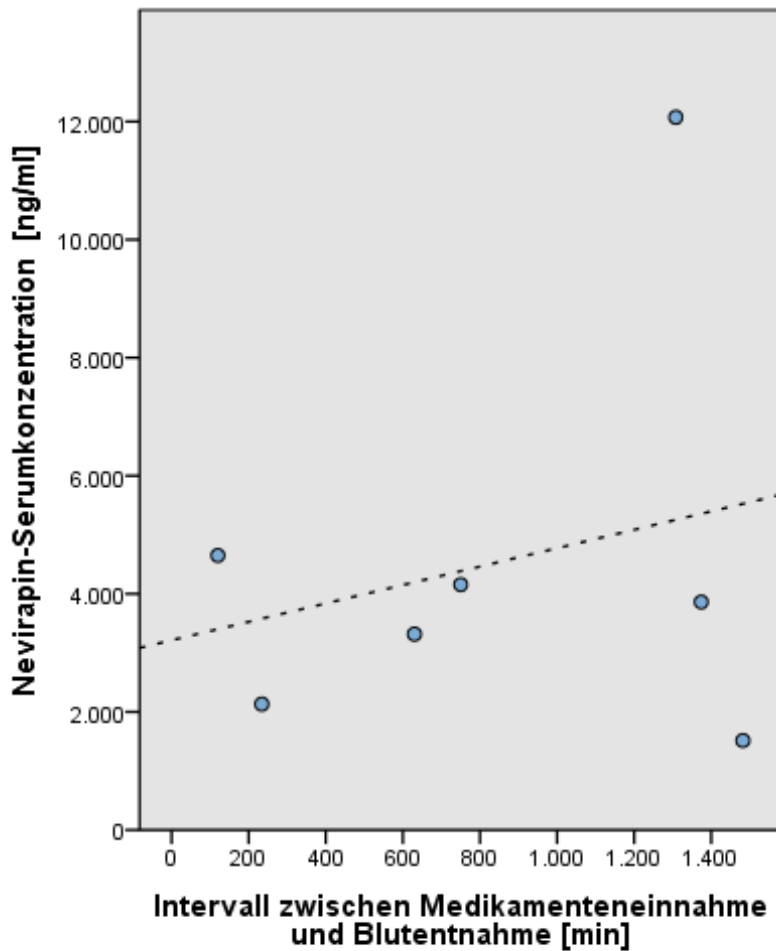


Abbildung 11: NVP-Serumkonzentration in Abhängigkeit vom Intervall zwischen Medikamenteneinnahme und Blutentnahme in Minuten

Zwischen dem Zeitintervall von NVP-Einnahme zur Blutentnahme und dem NVP-Spiegel zeigte sich im Korrelationstest nach Spearman keine signifikante Korrelation ($\rho = -0,250$; $p = 0,589$).

4.2.3. Nevirapin-Serumspiegel und die Dauer der antiretroviralen Prophylaxe

Im Median lag die Dauer seit Beginn der antiretroviralen Prophylaxe mit NVP bei den 6 Patienten bei 20,5 d (Tagen) (1.Q.: 10,9 d; 3.Q.: 86,3 d; MW: 48,3 d) mit einer Spanne

von 4,7 d (Minimum) bis 174 d (Maximum). Im Korrelationstest nach Spearman zeigte sich keine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Dauer der antiretroviralen Prophylaxe mit NVP in Tagen und der Höhe der NVP-Serumspiegel ($\rho = -0,486$; $p = 0,329$).

Im Mann-Whitney-U-Test, in welchem die Verteilung der Serumspiegel zwischen den Prophylaxe-erfahreneren (Prophylaxedauer $> 20,5$ d) und weniger erfahrenen (Prophylaxedauer $< 20,5$ d) Patienten verglichen wurde, zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,400$).

4.2.4. Nevirapin-Serumspiegel und Alter

Das mediane Alter in der NVP-Gruppe lag bei 1,20 Monaten (Minimum: 0,36 Monate Maximum: 5,76 Monate). Zwischen dem Alter der Patienten in Monaten und der Höhe der NVP-Serumkonzentrationen zeigte sich im Test nach Spearman eine signifikante negative Korrelation ($\rho = -0,829$; $p = 0,042$).

Im zugehörigen Mann-Whitney-U-Test zeigte sich ein marginal signifikanter Unterschied bei der Verteilung der NVP-Serumspiegel zwischen den jüngeren ($< 1,2$ Monate) und älteren ($> 1,2$ Monate) Patienten. Als „cut-off“-Wert für diese Kategorisierung in älter und jünger wurde das mediane Alter gewählt (1,2 Monate). In der Gruppe der Jüngeren waren die Serumspiegel marginal signifikant höher ($p = 0,100$).

Auch bei Betrachtung der Höhe der NVP-Serumspiegel jeder einzelnen Probe und dem zum Entnahmezeitpunkt bestehenden Alter zeigte sich eine signifikante negative

Korrelation im Test nach Spearman zwischen der Höhe der NVP-Serumspiegel in ng/ml und dem Alter in Monaten ($\rho = -0,883$; $p = 0,008$). Dies ist in Abbildung 12 dargestellt.

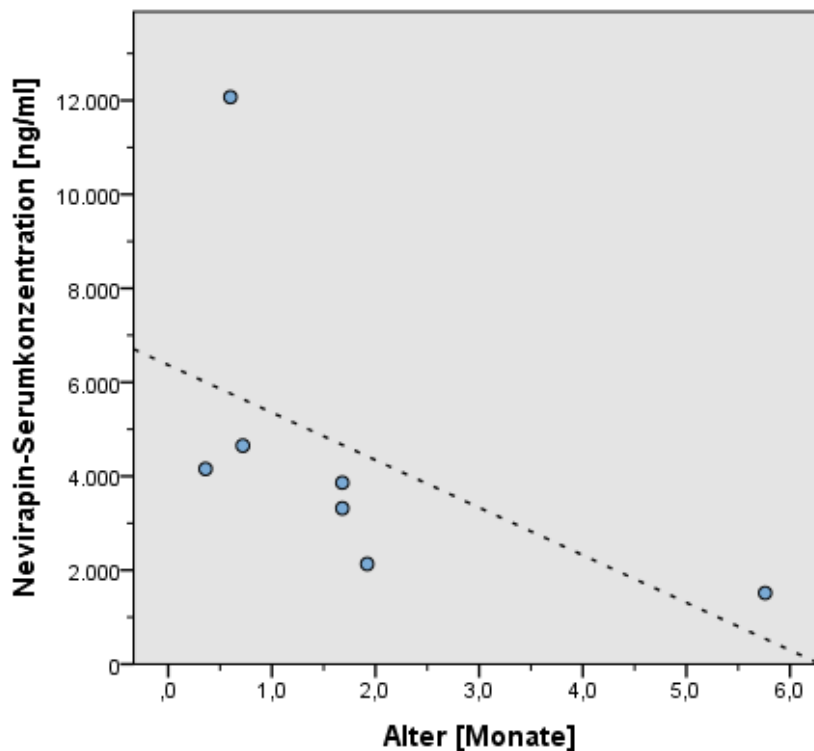


Abbildung 12: Verteilung der NVP-Serumkonzentrationen im untersuchten Patientenkollektiv in Abhängigkeit vom Alter

Im zugehörigen Mann-Whitney-U-Test zeigte sich ein marginal signifikanter Unterschied bei der Verteilung der NVP-Serumspiegel zwischen den jüngeren (<1,81 Monate) und den älteren (>1,81 Monate) Patienten. Als „cut-off“-Wert für diese Kategorisierung wurde in diesem Fall das mittlere Alter (1,81 Monate) gewählt. In der Gruppe der Jüngeren lagen die Serumspiegel marginal signifikant höher ($p = 0,095$).

4.2.5. Nevirapin-Serumspiegel und Körpergewicht

Das mediane Körpergewicht der Patienten in der NVP-Gruppe lag bei 3,60 kg (1.Q: 2,56 kg; 3.Q: 4,75 kg; MW: 3,85 kg \pm SD 1,70 kg) der mediane BMI lag bei 11,30 kg/m² (MW: 12,22 kg/m² \pm 2,28 kg/m²). Im Korrelations-Test nach Spearman zeigte sich eine statistisch signifikante negative Korrelation zwischen NVP-Serumspiegel der Patienten und dem Körpergewicht ($\rho = -,928$; $p = 0,008$).

Im dazugehörigen Mann-Whitney-U-Test zeigte sich ein statistisch marginal signifikanter Unterschied zwischen der Höhe der NVP-Serumkonzentrationen der leichteren Patienten (Körpergewicht < 3,6 kg) und den Spiegeln der schwereren Patienten (Körpergewicht > 3,6 kg) ($p=0,095$). Als „cut-off“-Wert für die Kategorisierung wurde das mediane Körpergewicht (3,6 kg) im untersuchten Patientenkollektiv gewählt. Abbildung 13 zeigt die unterschiedlichen Ergebnisse bei den NVP-Serumkonzentrationen in den beiden Gewichtsgruppen.

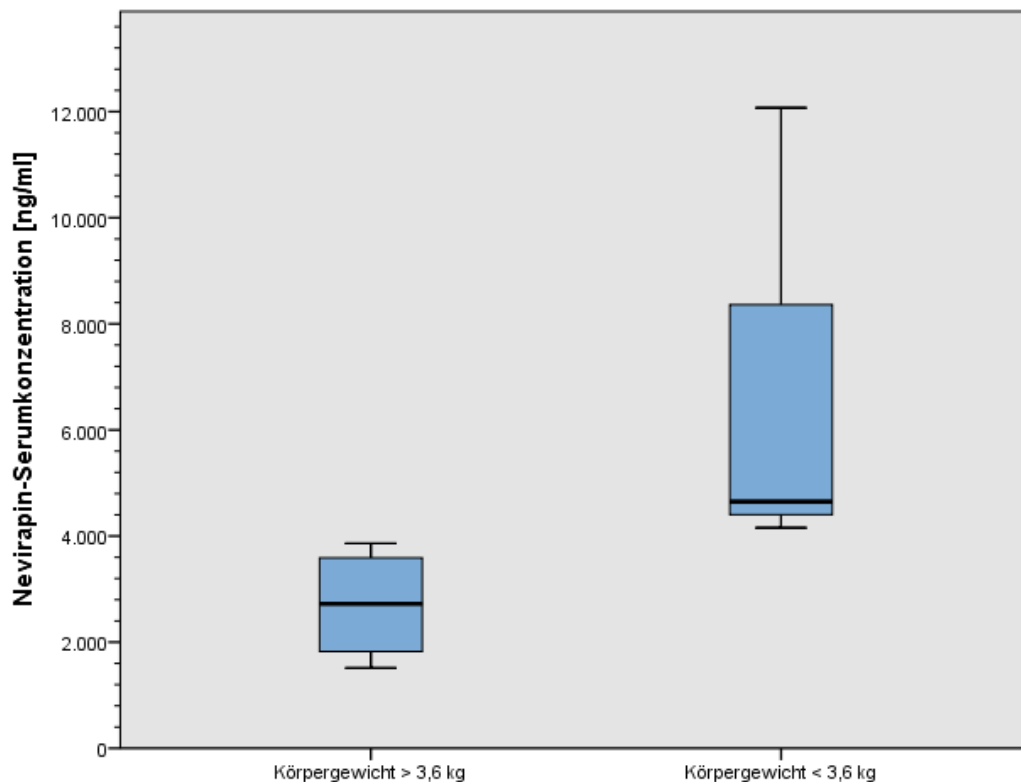


Abbildung 13: Höhe der NVP-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom Körpergewicht. Kategorisierung anhand des medianen Körpergewichts (3,6 kg) in leichtere und schwerere Patienten

Auch bei Betrachtung jeder einzelnen NVP-Probe und dem zum Abnahmezeitpunkt bestehenden Körpergewicht des jeweiligen Patienten zeigte sich im Korrelations-Test nach Spearman eine statistisch signifikante negative Korrelation zwischen NVP-Serumspiegeln der Patienten und dem Körpergewicht ($\rho = -0,921$; $p = 0,007$). Ein niedrigeres Körpergewicht korrelierte also mit höheren NVP-Serumspiegeln. Im dazugehörigen Mann-Whitney-U-Test zeigte sich ein statistisch marginal signifikanter Unterschied zwischen der Höhe der NVP-Serumspiegeln der leichteren Patienten

(Körpergewicht < 3,6 kg) und den Spiegeln der schwereren Patienten (Körpergewicht > 3,6 kg) ($p=0,061$). Als „cut-off“-Wert für die Kategorisierung wurde auch für diese Berechnung das mediane Körpergewicht (3,6 kg) der Patienten des NVP-Kollektivs herangezogen.

4.2.6. Nevirapin-Serumspiegel und Geschlecht

In der NVP-Gruppe waren 4 Patienten weiblich und 2 männlich. Der mediane NVP-Serumspiegel der weiblichen Patienten lag bei 3.864 ng/ml (Minimum: 1.514 ng/ml; Maximum: 12.072 ng/ml). Der mediane NVP-Serumspiegel der männlichen Patienten lag bei 3.391 ng/ml (Minimum: 2.131 ng/ml; Maximum 4651 ng/ml).

Im Mann-Whitney-U-Test zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied in der Verteilung der NVP-Serumspiegeln zwischen den männlichen und weiblichen Patienten ($p=1,00$).

4.2.7. Nevirapin-Serumspiegel und Ethnizität

In der NVP-Gruppe waren 5 Patienten von schwarzafrikanischer ethnischer Herkunft. Ein Patient war „Coloured“. Der mediane Serumspiegel der schwarzafrikanischen Patienten lag bei 4.156 ng/ml (Minimum: 1.514 ng/ml; Maximum 12.072 ng/ml). Der NVP-Serumspiegel des einen Patienten, der zu den „Coloureds“ gezählt wurde, lag bei 3.572 ng/ml.

4.2.8. Nevirapin-Serumspiegel, Alter und Dosierung

Die Dosisfindung für die NVP-Prophylaxe erfolgte in dieser Untersuchung gemäß den Südafrikanischen Leitlinien nach Gewichts- bzw. Alterskategorien. (S. Tabelle 6, Anhang)⁸³

So erhält beispielsweise ein Kind mit einem Alter zwischen sechs Wochen und sechs Monaten eine Dosis von 20 mg/d unabhängig von seinem Gewicht. Ein Kind mit einem

Alter zwischen sechs Monaten und neun Monaten 30 mg/d. Die Dosis bezogen auf das Gewicht der Patienten reichte von 2,86 – 6,82 mg/kgKG und lag im Median bei 4,22 mg/kgKG. Es zeigte sich eine signifikante negative Korrelation zwischen dem Alter der Patienten in Monaten und der Dosis bezogen auf das Gewicht ($\rho = -0,928$; $p = 0,008$).

4.3. Lopinavir-Serumspiegel

Es wurden bei 15 Proben von 8 Patienten die Serumkonzentrationen von LPV bestimmt. Lagen von einem Patienten mehrere Proben vor, so wurde aus den für ihn gemessenen Serumspiegeln das arithmetische Mittel gebildet.

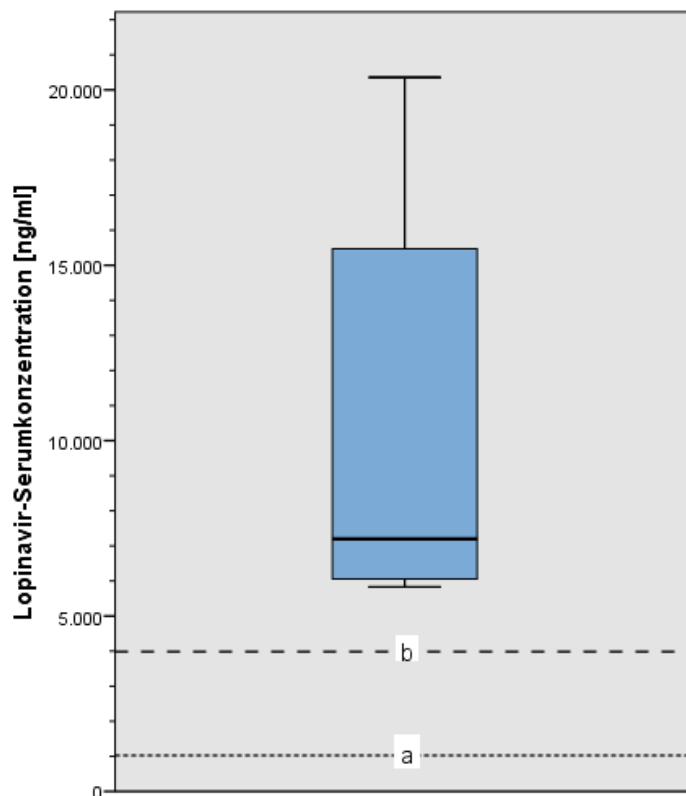


Abbildung 14: Verteilung der Serumkonzentrationen im untersuchten Patientenkollektiv. Lagen mehrere Serumkonzentrationen von einem Patienten vor, wurde der Mittelwert gebildet. Linie "a": Empfohlener Mindest-Talspiegel Ctrough (=1.000 ng/ml) für therapienaive Patienten. Linie "b": Empfohlener Mindest-Talspiegel Ctrough (=4.000 ng/ml) für therapieerfahrene Patienten.

Die Patienten erhielten im Mittel eine Dosis von $319 \text{ mg/m}^2 \pm \text{SD } 35 \text{ mg/m}^2$ Körperoberfläche (Median: 309 mg/m^2 ; Minimum: 281 mg/m^2 ; Maximum 400 mg/m^2),

was geringfügig über der empfohlenen Dosis von 300 mg/m²Körperoberfläche lag. Wie in Abbildung 14 zu sehen, lag der mediane Serumspiegel dieser 8 Patienten bei 7.199 ng/ml (1.Quartil: 5.993 ng/ml; 3.Quartil: 17.110 ng/ml; MW: 10.455 ng/ml ± SD 5.992 ng/ml). Der höchste Wert (Maximum) lag bei 20.356 ng/ml (ohne Bildung eines Mittelwerts für die verschiedenen Spiegel des betroffenen Patienten: 28.878 ng/ml). Der niedrigste Wert (Minimum) lag bei 5.829 ng/ml (ohne MW-Bildung für die verschiedenen Spiegel des Betroffenen: 1.932 ng/ml).

Kein Patient lag mit seinen Serumspiegeln somit unter dem für eine ausreichende virale Suppression und Verhinderung von Resistenzbildung empfohlenem Spiegel $c_{trough} > 1.000$ ng/ml für therapienaive Patienten und auch nicht unter dem für therapieerfahrene Patienten empfohlenem Spiegel $c_{trough} > 4.000$ ng/ml.

4.3.1. Lopinavir-Serumspiegel (Einzelproben)

Bei Betrachtung der LPV-Konzentrationen der Einzelproben (ohne Bildung des arithmetischen Mittels bei Vorhandensein mehrerer Proben von einem Patienten) lag der mediane Serumspiegel bei 9.449 ng/ml (1.Quartil: 6.189 ng/ml; 3.Quartil 15.093 ng/ml; MW: 11.552 ± SD 7.760 ng/ml). Die niedrigste gemessene Konzentration (Minimum) war 1.932 ng/ml, die höchste gemessene Konzentration (Maximum) betrug 28.778 ng/ml.

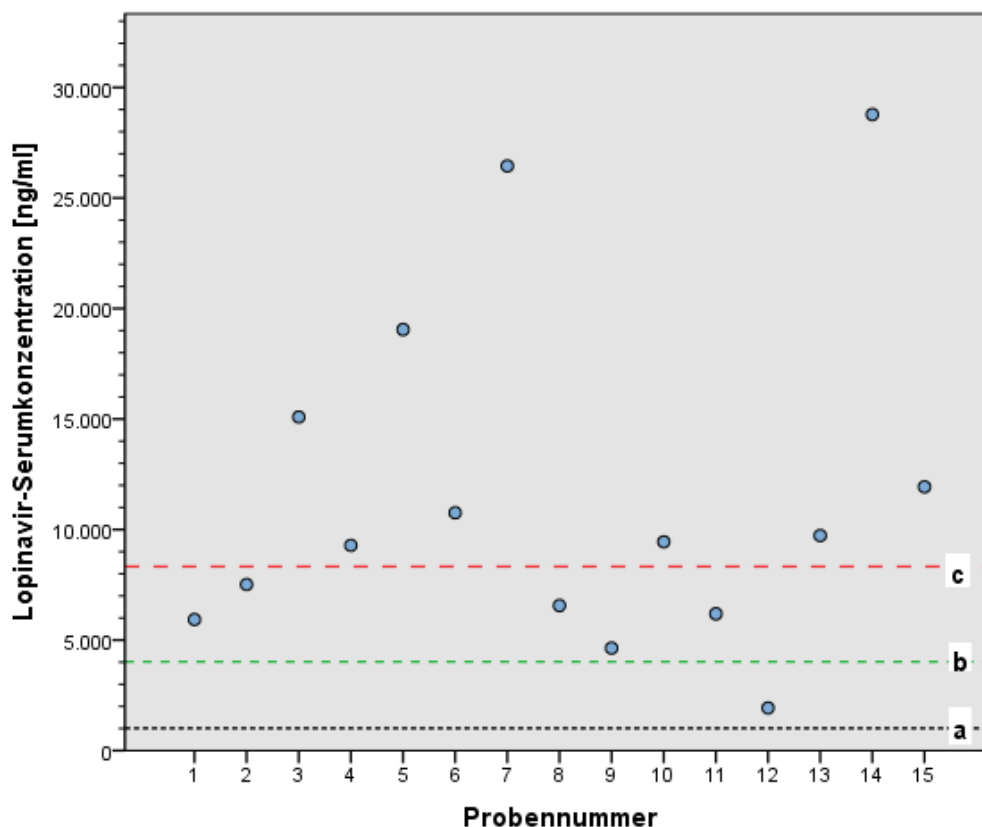


Abbildung 15: Verteilung der Serumkonzentrationen im untersuchten Patientenkollektiv auf der pädiatrischen Intensivstation. Linie "a": Empfohlener Mindest-Talspiegel (=1.000 ng/ml) für therapienaive Patienten; Linie "b": Empfohlener Mindest-Talspiegel (= 4.000 ng/ml)

Bei dieser Betrachtung lagen ebenfalls 100% der Spiegel (n=15) über dem für therapienaive empfohlenem Spiegel $c_{trough} > 1.000$ ng/ml (s. Abbildung 15). Über dem für therapieerfahrene empfohlenem Spiegel $c_{trough} > 4.000$ ng/ml lagen 93,33 % (n=14).

60% der gemessenen LPV-Serum-Konzentrationen lagen über dem in einer Zulassungsstudie bei Kindern dieser Altersgruppe ermittelten c_{max} (8.200 ng/ml).

4.3.2. Lopinavir-Serumkonzentration und Zeitintervall zwischen der Einnahme der Medikamente und der Blutentnahme

Es lagen zu allen 15 LPV-Proben exakte Einnahmezeitpunkte und somit ein genaues Zeitintervall zwischen Einnahme und Blutentnahme vor. Das mediane Intervall zwischen Einnahme von LPV und Probeentnahme lag bei 396 Minuten (MW: 458 Minuten \pm SD

349 Minuten). Die Spanne lag zwischen 90 Minuten (Minimum) und 1.566 Minuten (Maximum). Zwischen dem Zeitintervall von LPV-Einnahme zur Blutentnahme und dem LPV-Spiegel bestand keine signifikante Korrelation ($\rho = -0,086$; $p = 0,761$). Dies ist in Abbildung 16 dargestellt.

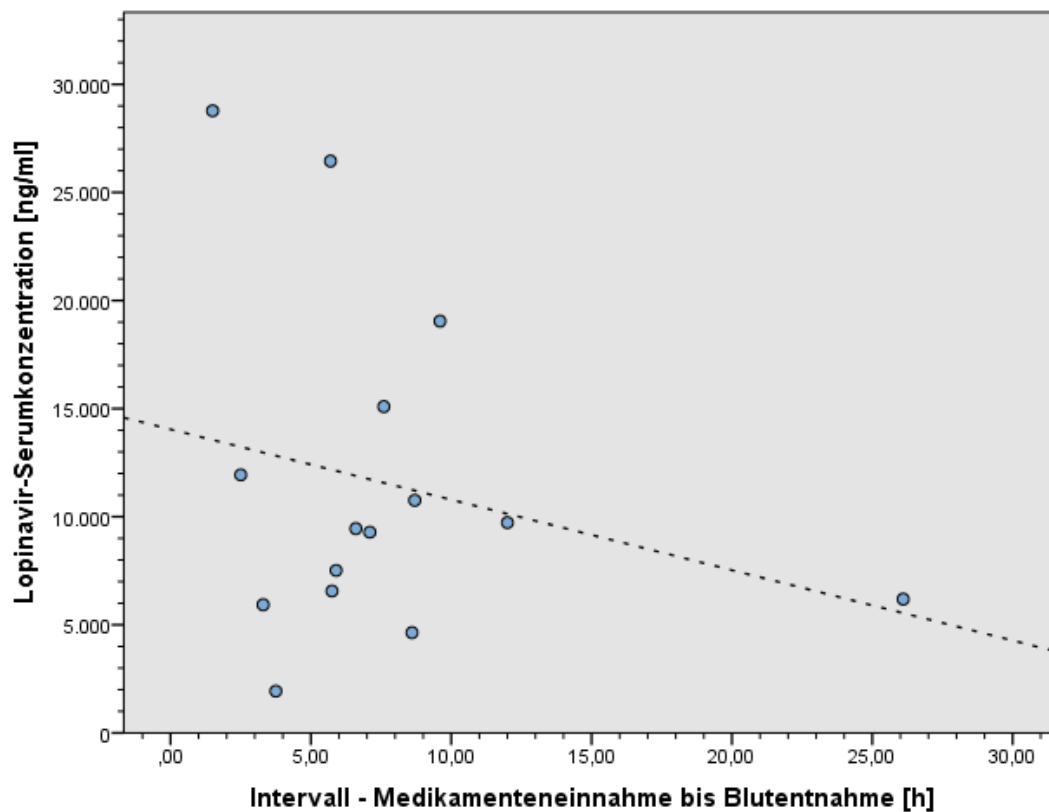


Abbildung 16: Höhe der Lopinavir-Serumkonzentrationen im untersuchten Patientenkollektiv auf der pädiatrischen Intensivstation dargestellt in Abhängigkeit vom Zeitintervall zwischen Medikamenteneinnahme und Blutentnahme in Stunden [h]

4.3.3. Lopinavir-Serumspiegel und Dauer der antiretroviralen Therapie

Die mediane Dauer der antiretroviralen Therapie (Zeit seit ART-Initiation in Tagen) zum Zeitpunkt der Blutentnahme betrug in der LPV-Gruppe 28 Tage (d) (1.Q.: 8,5 d; 3.Q.: 50,8 d; MW: 43,8 d) mit einer Spanne von 3,7 d (Minimum) bis 173,5 d (Maximum). Lagen mehrere Proben von einem Patienten vor, wurde die mittlere ART-Dauer in Tagen herangezogen.

Im Korrelations-Test nach Spearman konnte keine signifikante Korrelation zwischen der Dauer der ART und dem LPV-Serumspiegel gefunden werden ($\rho = -0,310$; $p = 0,456$).

Im Mann-Whitney-U-Test, in welchem die Verteilung der Serumspiegel zwischen den therapieerfahreneren (Therapiedauer > 28 d) und weniger therapieerfahrenen (Therapiedauer < 28 d) Patienten verglichen wurde, zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,486$).

Bei Betrachtung der einzelnen LPV-Konzentrationen wurde die zum jeweiligen Entnahmezeitpunkt vorliegende Therapiedauer in Tagen herangezogen. Sie betrug bei Betrachtung der 15 LPV-Proben als Einzel im Median 10,0 d (1.Q.: 3,0 d/3.Q.: 42,0 d; MW: 34,6 d) mit einer Spanne von 1,3 d (Minimum) bis 174 d (Maximum).

Im Korrelationstest nach Spearman zeigt sich zwischen den LPV-Spiegeln der einzelnen Proben und der jeweiligen Therapiedauer keine signifikante Korrelation ($\rho = -0,207$; $p = 0,458$).

Im Mann-Whitney-U-Test, in welchem die Verteilung der Serumspiegel der Einzelproben zwischen denen mit im Mittel längerer Medikamentenexposition (Therapiedauer > 10 d) und weniger therapieerfahrenen (Therapiedauer < 10 d) Patienten verglichen wurde zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,902$).

4.3.4. Lopinavir-Serumspiegel und Körpergewicht

Das mediane Körpergewicht der Patienten in der LPV-Gruppe lag bei 4,25 kg (1.Q: 4,12; 3.Q:7,00 kg; MW: 5,11 kg \pm SD 1,67 kg) der mediane BMI lag bei 11,31 kg/m² (MW: 12,47 kg/m² \pm 2,27 kg/m²). Im Korrelations-Test nach Spearman zeigte sich eine statistisch signifikante negative Korrelation zwischen LPV-Serumspiegel der Patienten und dem Körpergewicht ($\rho = -,903$; $p = 0,002$).

Bei Betrachtung der LPV-Serumspiegel der einzelnen Proben in Abhängigkeit vom zum Blutentnahmezeitpunkt bestehenden Körpergewicht (s. Abbildung 17) zeigte sich eine

signifikante negative Korrelation zwischen Körpergewicht und Serumspiegel von LPV ($\rho = -0,709$; $p = 0,003$).

Hatte ein Kind des untersuchten Kollektivs bei einer Messung eine LPV-Serumkonzentration, die größer war als C_{max} (= 8.200 ng/ml), so lag in 93,3 % der Fälle ein in dieser Population unterdurchschnittliches Körpergewicht vor (MW: 5,1 kg).

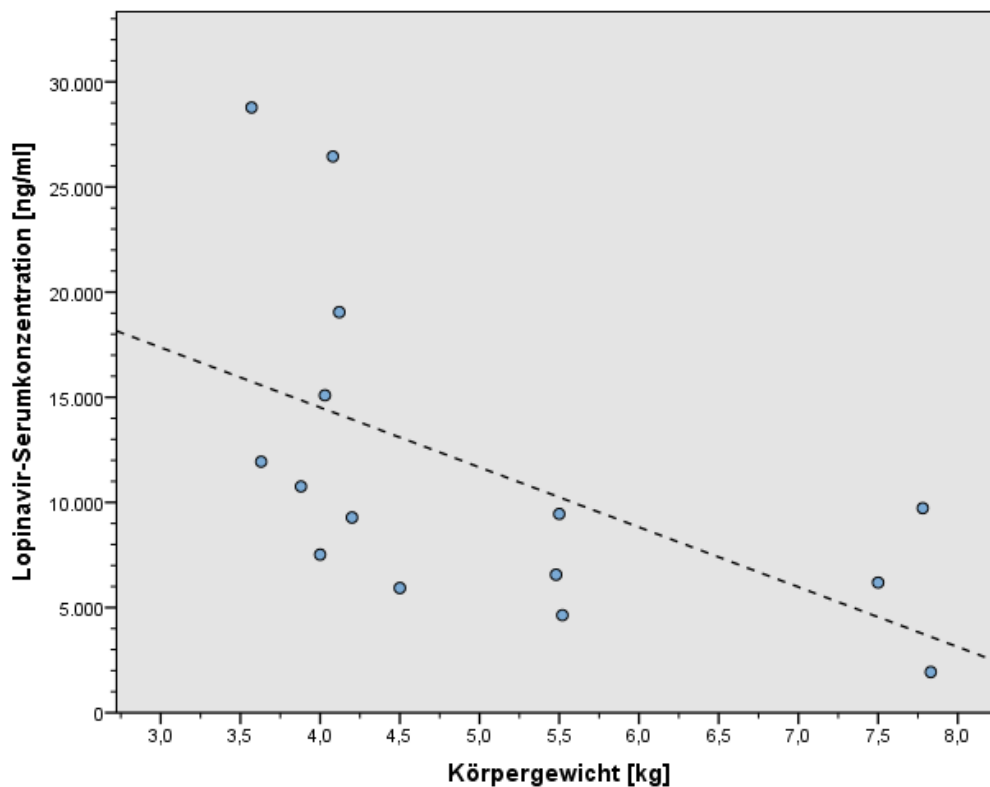


Abbildung 17: Lopinavir-Serumkonzentrationen der Proben des untersuchten Kollektivs auf der pädiatrischen Intensivstation dargestellt in Abhängigkeit vom Körpergewicht zum Zeitpunkt der Probenentnahme

Nach WHO-Definition (*Multicenter Growth Reference Study*) waren 71,4 % der Patienten der LPV-Gruppe untergewichtig. Diese Kategorisierung erfolgte bereinigt anhand von geschlechtsspezifischen BMI-Perzentilen-Kurven der WHO.⁸⁴

Zwischen untergewichtigen und normalgewichtigen Patienten konnte im durchgeführten Mann-Whitney-U-Test kein signifikanter Unterschied bei der Höhe der LPV-Serumspiegel festgestellt werden ($p = 0,281$).

4.3.5. Lopinavir-Serumspiegel und Alter

Das mediane Alter in der LPV-Gruppe lag bei 4,20 Monaten (Minimum: 1,68 Monate Maximum: 13,68 Monate). Zwischen dem Alter der Patienten in Monaten und den LPV-Serumspiegeln zeigte sich im Test nach Spearman eine marginal signifikante negative Korrelation ($\rho = -0,833$; $p=0,098$) (s. Abbildung 18). Im zugehörigen Mann-Whitney-U-Test zeigte sich ein marginal signifikanter Unterschied bei der Verteilung der LPV-Serumspiegel zwischen den jüngeren (<4,2 Monate) und älteren (> 4,2 Monate) Patienten. In der Gruppe der Jüngeren waren die Serumspiegel grenzwertig signifikant höher ($p = 0,057$). Der mittlere Serumspiegel bei den Älteren lag bei $6.365 \text{ ng/ml} \pm \text{SD } 782 \text{ ng/ml}$ (Minimum 5.829 ng/ml ; Maximum: 7516 ng/ml), der mittlere Serumspiegel der Jüngeren bei $14.544 \text{ ng/ml} \pm \text{SD } 6.211 \text{ ng/ml}$ (Minimum: 6.882 ng/ml ; Maximum: 20.356 ng/ml).

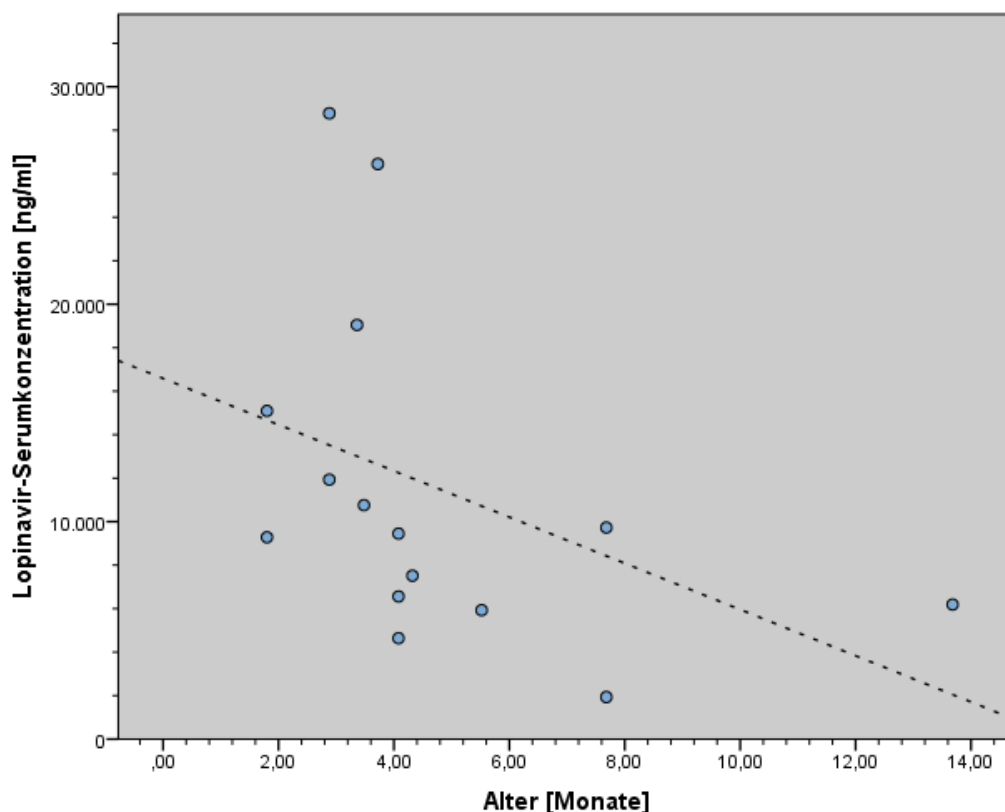


Abbildung 18: Höhe der LPV-Serumkonzentration des untersuchten Patientenkollektivs auf der pädiatrischen Intensivstation dargestellt in Abhängigkeit vom Alter in Monaten zum Entnahmezeitpunkt.

Betrachtet man den LPV-Serumspiegel jeder einzelnen Probe und das zum Abnahmezeitpunkt bestehende Alter des Probanden (z.T. mehrere Proben pro Proband), so zeigte sich im Test nach Spearman eine signifikante negative Korrelation zwischen Alter des Probanden und LPV-Serumspiegel ($\rho = - 0,667$; $p = 0,007$).

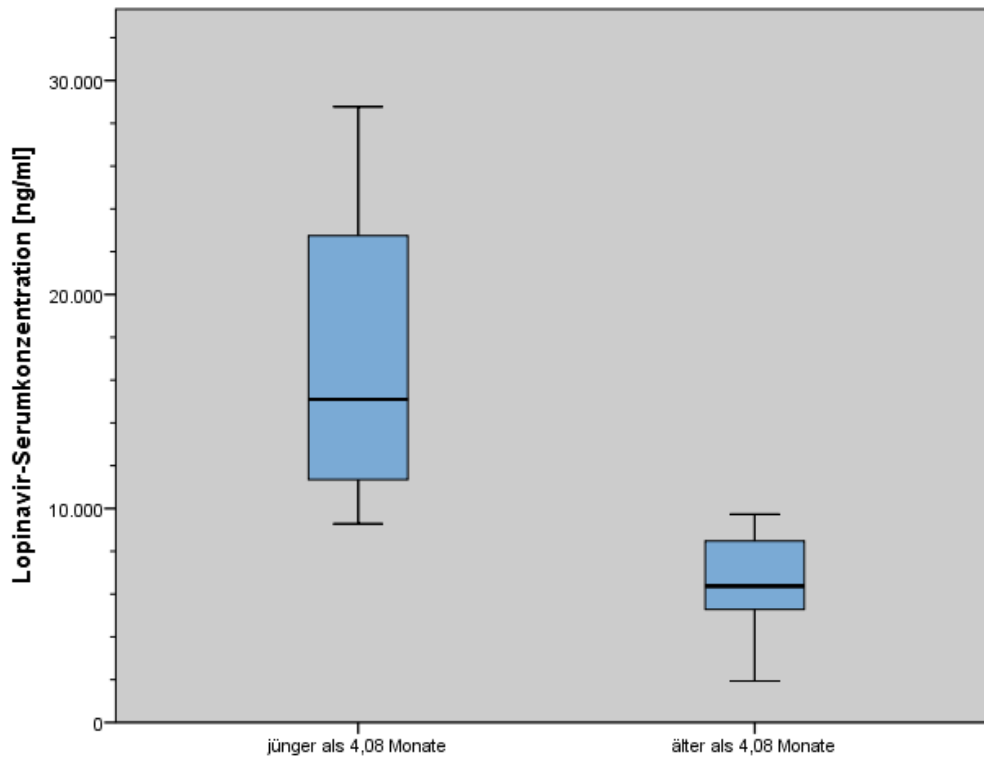


Abbildung 19: LPV-Serumkonzentrationen des untersuchten Patientenkollektivs auf der pädiatrischen Intensivstation verteilt nach Alterskategorie.

Im zugehörigen Mann-Whitney-U-Test zeigte sich ein signifikanter Unterschied bei der Verteilung der LPV-Serumspiegel zwischen den jüngeren (<4,08 Monate) und älteren (> 4,08 Monate) Patienten. Wie in Abbildung 19 dargestellt lagen in der Gruppe der Jüngeren die Serumspiegel signifikant höher ($p = 0,001$). Der mittlere Serumspiegel bei den Älteren betrug $6.375 \text{ ng/ml} \pm \text{SD } 2.532 \text{ ng/ml}$ (Minimum 1.932 ng/ml ; Maximum: 9.726 ng/ml). Der mittlere Serumspiegel der Jüngeren betrug bei $17.334 \text{ ng/ml} \pm \text{SD } 7.737 \text{ ng/ml}$ (Minimum: 9.282 ng/ml ; Maximum: 28.778 ng/ml).

Alle Kinder mit Serumspiegeln über C_{max} ($=8.200 \text{ ng/ml}$) waren jünger als der Durchschnitt dieser Population (MW: 4,1 Monate).

4.3.6. Lopinavir-Serumspiegel und Ethnizität

In der Westkap Region lebten im Jahr 2012 ca. 5,8 Millionen Menschen. Die am häufigsten zu Grunde liegenden Ethnizitäten waren die Coloureds (49%), gefolgt von Personen schwarzafrikanischer Abstammung (Xhosa, Zulu, Bantu, Tswana, Beli, u.a.) (33%), Personen kaukasischer Abstammung (17 %) und Personen indischer und asiatischer Abstammung (< 1%).⁸⁵ Auf der pädiatrischen Intensivstation stammten 53,3% (n=8) der LPV-Proben von Kindern schwarzafrikanischer Abstammung und 46,7% (n=7) von Kindern, die den „Coloureds“ zugeordnet wurden. Die Serumkonzentrationen die sich in den beiden ethnischen Gruppen eingestellt haben, werden im Folgenden verglichen. Abbildung 20 illustriert diesen Vergleich.

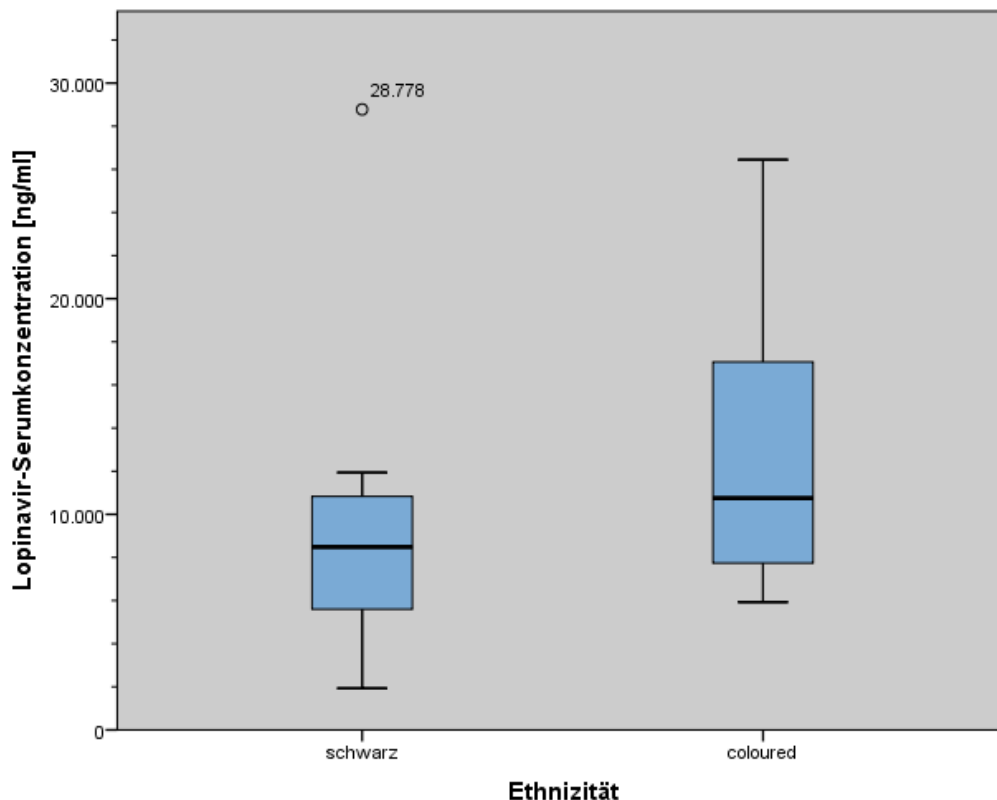


Abbildung 20: Lopinavir-Serumkonzentrationen des untersuchten Patientenkollektivs auf der pädiatrischen Intensivstation in Abhängigkeit von der ethnischen Zugehörigkeit.

Der mittlere Serumspiegel in der Gruppe der schwarzafrikanischen Patienten betrug 10.067 ng/ml \pm SD 8.181 ng/ml (Minimum 1.932 ng/ml; Maximum: 28.778 ng/ml). Der

mittlere Serumspiegel in der Gruppe der Coloureds betrug 13.249 ng/ml \pm SD 7.490 ng/ml (Minimum: 5.927 ng/ml; Maximum: 26.449 ng/ml).

Im durchgeführten Mann-Whitney-U-Test zeigte sich kein signifikanter Unterschied bei der Verteilung der LPV-Serumkonzentrationen in den beiden Ethnizitätsgruppen ($p=0,461$).

4.3.7. Lopinavir-Serumspiegel und Geschlecht

Von den 15 gemessenen LPV-Proben stammten 11 von weiblichen Patienten und 4 von männlichen Patienten. Der Wertebereich der Mädchen reichte von 4.637 ng/ml bis 26.449 ng/ml, der mediane Wert betrug 9.282 ng/ml. Der Wertebereich der Knaben reichte von 1.932 ng/ml bis 28.778 ng/ml, der mediane Wert betrug 10.830 ng/ml.

Im durchgeführten Mann-Whitney-U-Test zeigte sich kein signifikanter Unterschied bei der Verteilung der LPV-Serumspiegel zwischen den Geschlechtern ($p=0,661$).

4.3.8. Lopinavir-Serumspiegel auf einer pädiatrischen Intensivstation im Vergleich mit Lopinavir-Serumspiegeln ambulanter Patienten

Im Folgenden wird ein Vergleich zwischen der Verteilung der LPV-Serumspiegel in dieser Untersuchung im Setting einer pädiatrischen Intensivstation (Intensiv-Gruppe) und den LPV-Serumspiegeln eines pädiatrischen ambulanten Settings beschrieben. Tabelle 4 zeigt die Patientendemographie der verglichenen Gruppen.

4.3.8.1. Patienten und Serumspiegel im ambulanten Setting

Die gemessenen Serumspiegel der ambulanten Patienten (Ambulanz-Gruppe) stammen aus einer Publikation von *von Bibra, et al. (2014)*.⁷⁹ Diese Untersuchung wurde als Teil des übergeordneten Projekts „The impact of therapeutic drug monitoring (TDM) on antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS“ ebenfalls am Tygerberg Hospital in Kapstadt, Südafrika durchgeführt. Es wurden die LPV-Serumspiegel von 29 Patienten gemessen, die entweder ambulant oder normalstationär aufgrund ihrer HIV-Infektion

Tabelle 4: Patientendemographie des in dieser Arbeit untersuchten Patientenkollektivs intensivmedizinisch betreuter Patienten und des Patientenkollektivs ambulant betreuter Kinder aus der Arbeit von von Bibra et al. (2014)⁷⁹

		Intensivpatienten (n=15)	Ambulante Patienten (n=22)	
Alter [Jahre]	Mittelwert	0.39	2.79	p < 0,001
	SD±	0.25	1.87	
	Spanne	0.15 – 1.14	0.65 – 7-11	
Weiblich [%]		73.3	59.1	
Körpergewicht [kg]	Mittelwert	5.0	12.6	p < 0,001
	SD±	1.5	4.5	
	Spanne	3.6 – 7.8	6.4 – 26.7	
Dosis [mg/m ² Körperoberfläche]	Mittelwert	328.6	298.4	p = 0,036
	SD±	38.6	34.7	
	Spanne	280.7 – 399.7	217.9 – 355.0	
WHO-Stadium [n]	4	15	12	p = 0,047
	3	0	10	
	2	0	0	
	1	0	0	
LPV-Serumspiegel [ng/ml]	Mittelwert	11.552	6.756	p = 0,090
	SD±	7.759	6.003	
	Spanne	1.932 – 28.778	0 – 21.246	
	Subtherapeutisch (%)	0	28	p = 0,008
CD4+-Count [n/μl]	Mittelwert	399	1373	p = 0,002
	SD±	189	649	
	Spanne	191 – 1077	358 – 2643	
Gründe für Aufnahme auf Intensivstation [n] (mehrere pro Patient möglich)	Pneumonie	8	n/a *	(*) Routinebesuch
	Gastroenteritis	4	n/a *	
	Sepsis	2	n/a *	
	Meningitis	2	n/a *	
	Andere	4	n/a *	

und/oder Komorbiditäten behandelt wurden. 22 dieser Patienten wurden als sogenannte „Outpatients“ ambulant behandelt. Das mediane Alter in der Ambulanz-Gruppe war 1,83 Jahre (21,96 Monate). In dieser Untersuchung lagen die Zeitintervalle zwischen Einnahme und Blutentnahme bei 0,83 – 8,83 Stunden. Die ARVs wurden im Regelfall von den Erziehungsberechtigten oder anderen betrauten Personen (Lehrern, Kindergärtnerinnen) appliziert.

Die Probenverarbeitung geschah mit den gleichen Geräten wie in der Intensiv-Gruppe. Die Messmethoden zur Serumspiegelbestimmung in den beiden Gruppen unterschieden sich nicht. Die Patienten der Intensiv-Gruppe und der Ambulanz-Gruppe wurden nach Empfehlungen der Südafrikanischen Leitlinien behandelt.

Da es bisher für LPV keinen klar definierten therapeutischen Bereich gibt, wurde in der Ambulanz-Gruppe der in der Literatur beschriebene $c_{min} \geq 5.500$ ng/ml als unterer „Cut-off-Wert“ für einen ausreichenden Serumspiegel von LPV herangezogen.⁸⁶

4.3.8.2. Vergleich der Lopinavir-Serumspiegel in den Gruppen der intensivmedizinischen und ambulanten Patienten

22 LPV-Serumspiegelmessungen wurden bei Patienten, die sich der Ambulanz-Gruppe zuordnen ließen, (aus der Studie von *von Bibra, et al. (2014)*)⁷⁹ durchgeführt. Der mediane LPV-Serumspiegel lag bei 7.261 ng/ml (MW: 6.756 ng/ml \pm SD 6.003 ng/ml), das Minimum lag unter dem LLQ (= 125 ng/ml), das Maximum bei 21.246 ng/ml. In der Intensivgruppe lag der mediane LPV-Serumspiegel bei 9.449 ng/ml (MW: 11.551 ng/ml \pm SD 7760 ng/ml), das Minimum lag bei 1.932 ng/ml, das Maximum bei 28.778 ng/ml.

Im Mann-Whitney-U-Test konnte kein signifikanter Unterschied bei der Verteilung der LPV-Serumspiegel in den beiden Gruppen festgestellt werden ($p=0,105$).

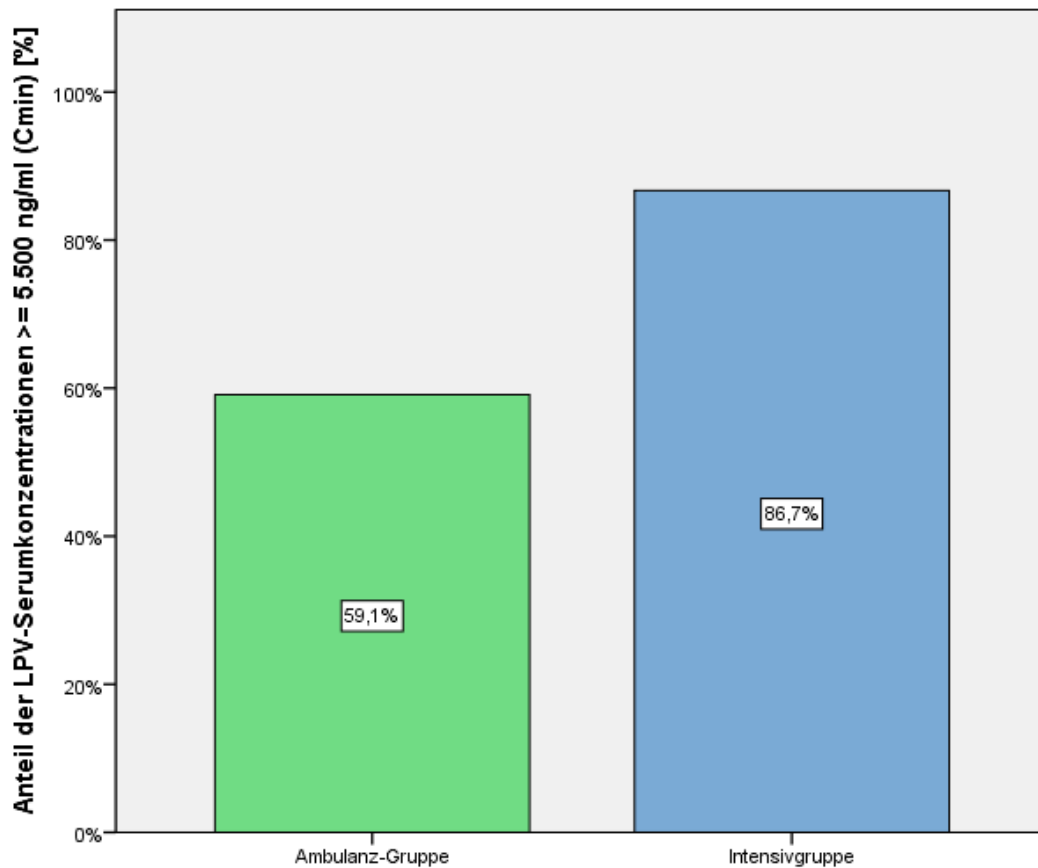


Abbildung 21: Prozentualer Anteil der LPV-Serumkonzentrationen $> C_{min}$ ($= 5.500$ ng/ml) in der Ambulanz- und der Intensivgruppe.

Vergleicht man die Anteile der LPV-Serumspiegel in den beiden Gruppen, welche kleiner $c_{min} = 5.500$ ng/ml waren ($c_{min} = 5.500$ ng/ml entspricht dem unteren „cut-off“-Wert für adäquate Serumkonzentrationen aus der Arbeit von *von Bibra, et al. (2014)*)⁷⁹, zeigen sich signifikante Unterschiede (s. Abbildung 21): In der Gruppe der Intensivpatienten waren 13 der 15 gemessenen Spiegel (86,7%) größer als 5.500 ng/ml und nur 2 (13,3 %) kleiner als 5.500 ng/ml. In der Gruppe der Ambulanz-Patienten waren 13 von 22 (59,1%) gemessenen LPV-Serumspiegeln größer als 5.500 ng/ml und 9 (40,9%) gemessene Spiegel kleiner c_{min} . Dieser Unterschied erwies sich im Test auf Binomialverteilung als

signifikant ($p=0,023$). In der Ambulanz-Gruppe wiesen 6 Serumproben einen Spiegel $<$ LLQ auf, 3 Serumproben einen Serumspiegel $<$ $C_{min} = 5.500$ ng/ml aber $>$ LLQ.

Keiner der LPV-Serumspiegel in der Intensiv-Gruppe war subtherapeutisch ($<$ 1.000 ng/ml). In der Ambulanzgruppe waren es 27,7 % ($n=6$) der gemessenen LPV-Serumproben, die eine subtherapeutische LPV-Konzentration aufwiesen. Dieser Anteil erwies sich im Binomialverteilungstest als signifikant höher ($p=0,008$).

4.3.9. Intraindividuelle Schwankungen

Bei 5 von 8 Patienten lagen zwei oder drei Messungen der LPV-Serumspiegel vor. Von ihnen stammten 11 der 15 Serumproben. Die mediane intraindividuelle Schwankung

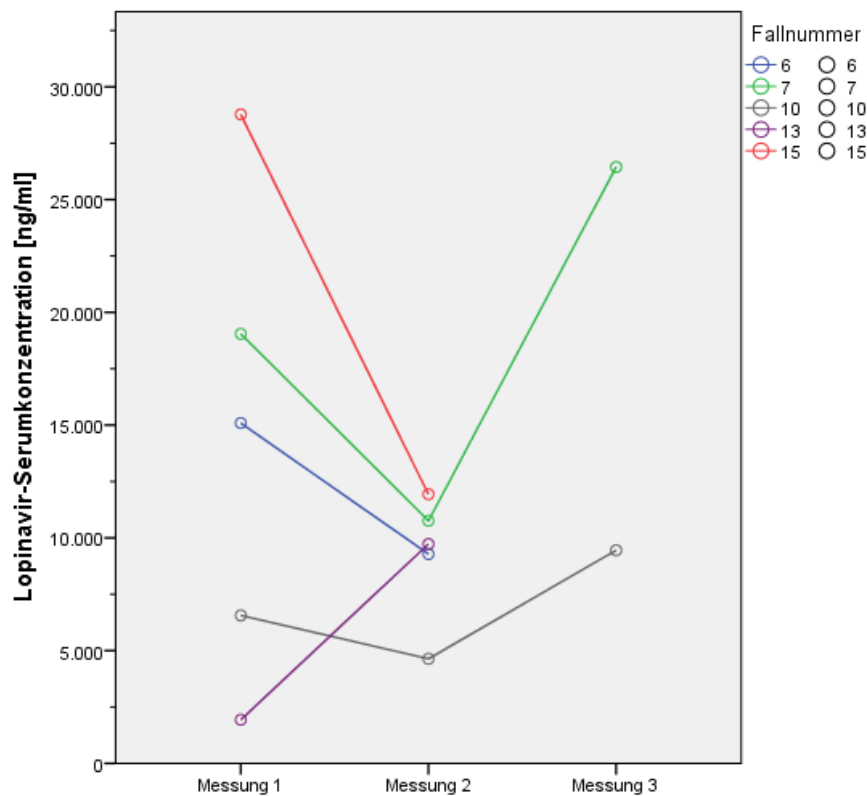


Abbildung 22: Intraindividuelle Schwankungen bei den Patienten im Kollektiv der intensivmedizinisch betreuten Patienten. Die Serumspiegel jedes Patienten sind im Verlauf der Messungen abgebildet. Pro Patient gab es jeweils zwischen 2 und 3 Messungen.

zwischen den einzelnen Messungen der jeweiligen Patienten lag bei 7.598 ng/ml (1.Q.: 5.062 ng/ml 3.Q.: 13.082 ng/ml; MW: 8.492 ng/ml \pm 5.187 ng/ml). Die Spanne der

intraindividuellen Schwankungen reichte von 1.924 ng/ml (Minimum) bis 16.844 ng/ml (Maximum). Abbildung 22 zeigt den Verlauf der LPV-Serumkonzentrationen bei Patienten, für die mehrere Messungen durchgeführt wurden.

Das Alter dieser Patienten lag im Mittel bei 3,96 Monaten. Nach dem mittleren Alter erfolgte die Einteilung in ältere und jüngere Patienten (s. Abbildung 23), um zu prüfen, ob ein Zusammenhang zwischen dem Alter und dem Ausmaß der intraindividuellen Schwankung des LPV-Serumspiegels vorlag. Bei den 5 LPV-Serumproben der Patienten, die zum Entnahmezeitpunkt älter als 3,96 Monate waren, lag die mittlere intraindividuelle Schwankung bei $5.042 \text{ ng/ml} \pm \text{SD } 2.719 \text{ ng/ml}$ (Median: 4.812 ng/ml), bei den 7 LPV-Serumproben der jüngeren Patienten ($< 3,96$ Monate) lag diese im Mittel bei $10.956 \text{ ng/ml} \pm \text{SD } 5.235 \text{ ng/ml}$ (Median 8.290 ng/ml).

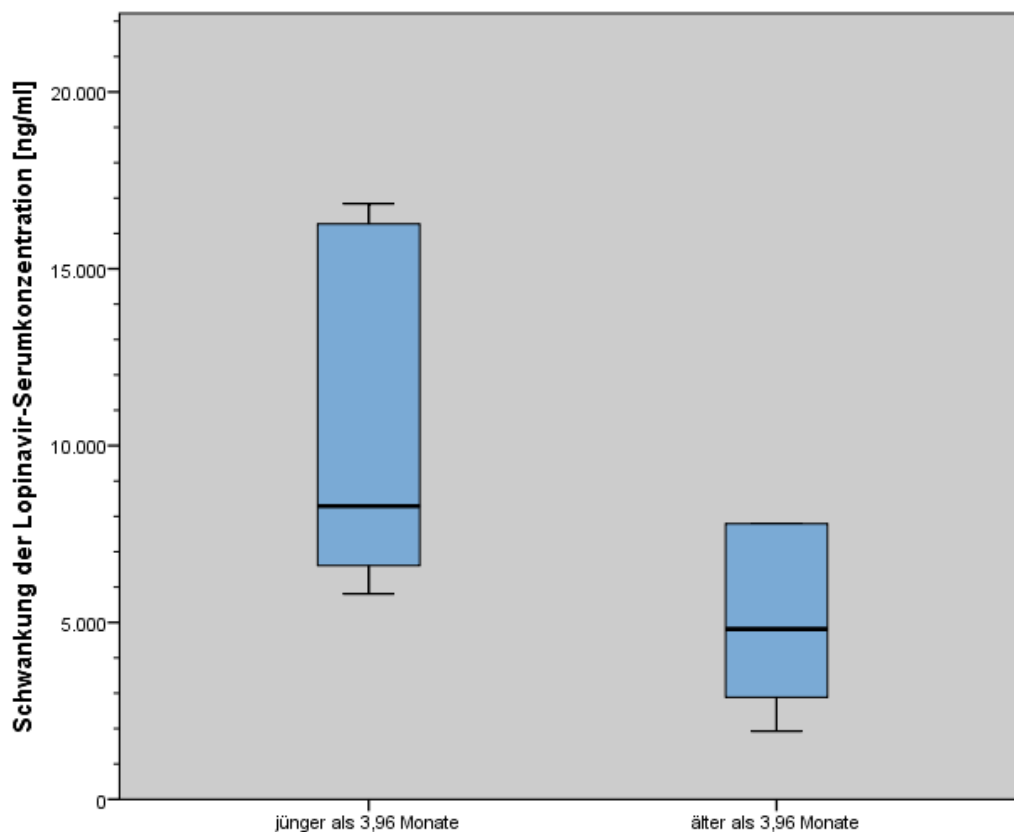


Abbildung 23: Intraindividuelle Schwankungen der LPV-Serumkonzentration in Abhängigkeit vom Alter. Aufteilung der Patienten anhand des mittleren Alters (3,96 Monate) in jüngere und ältere Patienten.

Im Mann-Whitney-U-Test, in welchem das Ausmaß der intraindividuellen Schwankungen in ng/ml zwischen den beiden Gruppen der (älteren- und jüngeren) Patienten gemessen wurde, zeigte sich ein marginal signifikanter Unterschied ($p=0,073$).

Das mittlere Körpergewicht, das die Patienten zum Zeitpunkt der Blutentnahme hatten, betrug 4,91 kg. Nach diesem Wert wurden die Patienten in leichtere (Körpergewicht < 4,91 kg) und schwerere (Körpergewicht > 4,91 kg) kategorisiert (s. Abbildung 24). Bei den Proben ($n=5$) der Patienten mit höherem Körpergewicht lag die Schwankung des LPV-Serumspiegels im Median bei 4.812 ng/ml (1.Q.: 2.406 ng/ml; 3.Q.: 7.794 ng/ml; MW 5.042 ng/ml \pm SD 2.719 ng/ml) bei einem Minimum von 1.924 ng/ml und einem Maximum von 7.794 ng/ml.

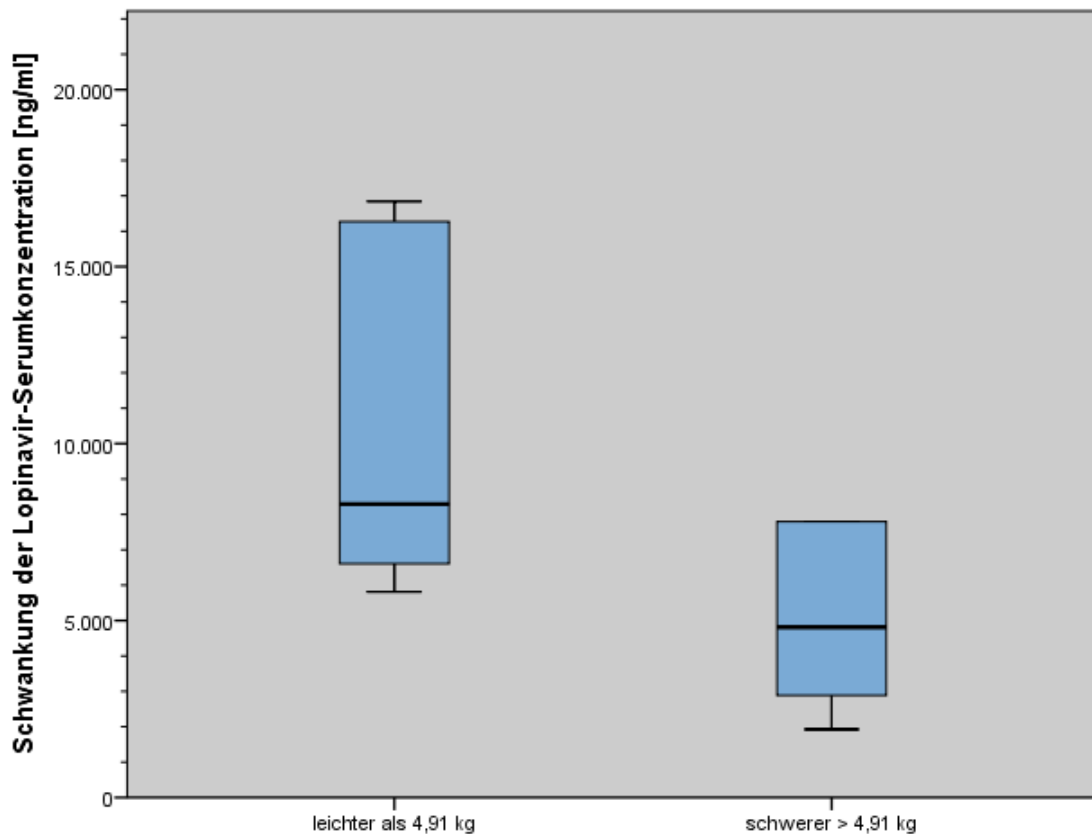


Abbildung 24: Intraindividuelle Schwankungen der LPV-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom Körpergewicht. Aufteilung der Patienten anhand des mittleren Körpergewichts (4,91 kg) in leichtere und schwere Patienten.

Bei den Proben (n=7) der Patienten mit niedrigerem Körpergewicht lag die Schwankung des LPV-Serumspiegels im Median bei 8.290 ng/ml (1.Q.: 5.811 ng/ml; 3.Q.: 16.844 ng/ml; MW 10.956 ng/ml \pm SD 5.235 ng/ml) bei einem Minimum von 5.811 ng/ml und einem Maximum von 16.844 ng/ml.

Im Korrelationstest nach Spearman zeigte sich eine marginal signifikante negative Korrelation zwischen Körpergewicht des Patienten zum Abnahmezeitpunkt der jeweiligen Probe und der Höhe der intraindividuellen Schwankung des LPV-Serumspiegels ($\rho = -0,560$, $p = 0,058$).

Im Mann-Whitney-U-Test, in welchem das Ausmaß der intraindividuellen Schwankungen in ng/ml zwischen den beiden Gruppen der (schwereren und leichteren) Patienten gemessen wurde, zeigt sich ein marginal signifikanter Unterschied ($p = 0,073$).

4.4.10. Intraindividuelle Schwankung und Nahrungsaufnahme - Fallbericht

Die niedrigste gemessene Lopinavir-Serumkonzentration des untersuchten Kollektivs betrug 1.932 ng/ml und stammte von Patient K06, von dem auch eine zweite Serumprobe mit dem deutlich höheren Spiegel 9.762 ng/ml vorlag. Es erfolgte eine Untersuchung des zeitlichen Bezugs der Medikamenten-Applikation zur Nahrungsaufnahme (s. Tabelle 5). Der Patient war zum Zeitpunkt der Medikamentenapplikation vor der Messung Nr. 1 nüchtern. Zum Zeitpunkt der Medikamentenapplikation vor Messung Nr. 2 hatte Patient K06 Säuglingsnahrung erhalten.

Tabelle 5: Lopinavir-Serumkonzentration und Nahrungszufuhr des Patienten mit der Fallnummer K06

Messung	Nr. 1	Nr. 2
Nahrungszufuhr während der LPV-Einnahme	Patient <u>nüchtern</u>	<u>300ml Säuglingsnahrung (Melegi®)</u> binnen 3h nach LPV-Einnahme
LPV-Serumspiegel [ng/ml]	1.932	9.726
Intervall zwischen Medikamenteneinnahme und Blutentnahme [h]	3,75	12,00

4.4. Fallbericht eines elfjährigen Jungen unter einem Efavirenz-Therapieregime

Ein einzelner Patient stand während des Zeitraums dieser Studie unter einem antiretroviralen Therapieregime mit EFV. Des Weiteren waren die NRTIs Lamivudin und Abacavir als „back-bone“ in der Substanzkombination seiner cART enthalten. Der Junge befand sich 4 Tage auf der pädiatrischen Intensivstation zur postoperativen Betreuung nach einer Thorax-chirurgischen Operation. Diese erfolgte zur Entfernung von Bronchiektasien. Der Patient hatte an Vor- und Begleiterkrankungen eine ausgeheilte pulmonale Tuberkulose sowie eine ausgeheilte Lobär-Pneumonie, hervorgerufen durch *H. influenzae* und *Str. pneumoniae*. Seine antiretrovirale Therapie war 11 Monate vor dieser Datenerhebung (01/2012) mit oben genannter Substanzkombination initiiert worden. Seine Komedikation ist in Tabelle 6 ersichtlich.

Zum Zeitpunkt dieser Datenerhebung war der Patient 11 Jahre und 2 Monate alt. Sein Körpergewicht zum Zeitpunkt der Blutentnahme betrug 29,5 kg, sein BMI 13,8 kg/m², womit er nach den geschlechtsspezifischen Perzentilen der WHO ⁸⁴ untergewichtig war. Die EFV-Dosis betrug 400 mg tägl. und entsprach damit der empfohlenen Dosierung für Patienten mit einem Körpergewicht >25,0 kg und < 40,0kg ⁸⁷. Das zeitliche Intervall zwischen oraler Medikamenteneinnahme und Blutentnahme betrug 13,2 h.

Tabelle 6: Komedikation mit Dosierungen des im Fallbericht unter 4.5. beschriebenen Patienten

<u>Komedikation</u>	<u>Dosierung</u>
Cefuroxim	900 mg tägl.
Paracetamol	2g tägl.
Morphin	Bedarfsmedikation
Tilidin	Bedarfsmedikation

Der gemessene EFV-Serumspiegel des Patienten betrug 1.515 ng/ml und lag damit im empfohlenen Zielbereich zwischen 1.000 und 4.000 ng/ml. Unter EFV-Therapie bekannte Nebenwirkungen, wie psychiatrischen Symptomen (Alpträume, affektive

Veränderung), neurologischen Symptomen (Schwindel und Kopfschmerzen) oder hepatischen und gastrointestinalen Beschwerden (Durchfall, Abdominalschmerzen) wurden nicht dokumentiert. Laborchemische Zeichen für eine Hepatotoxizität bestanden nicht (s. Tabelle 7).

Tabelle 7: Leberassoziierte Laborparametern des im Fallbericht beschriebenen Patienten am ersten postoperativen Tag

<u>Gemessener Laborparameter</u>	<u>Wert</u>	<u>Normbereich</u>
AST	21 U/l	< 53 U/l
ALT	23 U/l	< 36 U/l
Quick	99 %	70-100%
Albumin	35 g/l	35-54 g/l

5. Diskussion

Therapeutisches Drug Monitoring wird eingesetzt, um die Serumspiegel von Medikamenten mit der Zielsetzung einer eventuellen Dosisanpassung zu messen. In den Therapieleitlinien zur HIV-Therapie westlicher Industrienationen, wie zum Beispiel denen der *Deutschen AIDS Gesellschaft e.V.* (2014) wird TDM in zahlreichen Situationen als integraler Bestandteil des Therapie-Monitorings - neben regelmäßigem Messen der CD4-Zellzahl sowie der HI-Viruslast – empfohlen, so zum Beispiel im Falle einer pädiatrischen HAART.³¹

In der Republik Südafrika, in der diese Untersuchung durchgeführt wurde, spielt TDM bis heute keine Rolle in der klinischen Routine der pädiatrischen HIV-Therapie, obwohl in Studien gezeigt wurde, dass eine TDM-gesteuerte Therapie einer Therapie mit fixen Dosierungen im Hinblick auf virologisches Ansprechen überlegen ist.⁶⁹

Insgesamt ist der Stellenwert eines TDM in der pädiatrischen HIV-Therapie noch immer unklar. Nur wenige pharmakokinetische Daten, die aus alltäglicher klinischer Praxis stammen, existieren jenseits kontrollierter Zulassungsstudien bei klinisch stabilen Kindern.^{57,71,72,76}

In Südafrika könnten solche Daten unter anderem aufgrund des hohen Aufkommens HIV-infizierter Kinder eine hohe Relevanz haben. Bei einer maternalen HIV-Prävalenz von 30,2% in staatlichen Vorsorgeneinrichtungen gibt jährlich circa 240.000 HIV-exponierte Neugeborenen mit der Indikation zur Expositionsprophylaxe, welche erfreulicherweise größtenteils durch das sehr effektive „Prevention-of-Mother-to-Child-Transmission“-Programm (PMTCT) erreicht werden. Ein beträchtlicher Anteil von ihnen erhält eine Prophylaxe mit dem NNRTI Nevirapin (NVP) über mehrere Monate.

Somit gibt es einen sehr weit verbreiteten Einsatz dieser Substanzen, der bei nicht adäquaten Serumspiegeln Risiken mit sich bringt, die auf Grund der hohen Zahl der Betroffenen weitreichende Auswirkungen haben kann. Subtherapeutische Serumkonzentrationen können Resistenzen gegen NVP begünstigen, die wegen des

häufigen NVP-Einsatzes weit verbreitet wären. Zu hohe Konzentrationen können zu Toxizität führen, mit deren Folgen in großer Zahl umgegangen werden müsste.

Die Zahl der Neuinfektionen von Kindern mit HIV, welche im Jahr 2011 bei circa 5.000 lag, ist weltweit die höchste. So kommt es bei zum aktuellen Zeitpunkt lebenslanger Therapie-Indikation bei einer HIV-Infektion auch in der Pädiatrie zu einem umfangreichen Einsatz antiretroviraler Substanzen, wie zum Beispiel dem für ein TDM-geeigneten LPV.²⁰

Neben der Tatsache, dass sämtliche verfügbaren antiretroviralen Pharmaka primär für den Einsatz bei Erwachsenen in Europa und den USA entwickelt und getestet wurden, ist auch noch wenig bekannt über die Besonderheiten der HIV-Therapie in der Pädiatrie in speziellen medizinischen Situationen, wie zum Beispiel bei kritisch kranken, sehr kleinen Kindern in der komplexen multimodalen Behandlung eines intensivmedizinischen Settings.

So stammen pharmakokinetische Daten in der Pädiatrie überwiegend aus kontrollierten Zulassungsstudien mit klinisch stabilen Kindern. Beim vorliegenden Kollektiv handelt es sich ausschließlich um sehr junge, schwerstkranke z.T. klinisch höchst instabile Säuglinge, bei denen das Management eines Therapieversagens oder von Medikamenten-Toxizität große Schwierigkeiten bereiten können. Folglich ist es unter anderem Gegenstand dieser Arbeit in einer lokalen Querschnittserhebung neben epidemiologischen Besonderheiten des Patientenkollektivs besonders die Höhe der sich eingestellten Serumkonzentrationen zu beschreiben. Des Weiteren sollten mögliche intrinsische und extrinsische Einflussfaktoren auf die Serumspiegel von NVP und LPV (Alter, Gewicht, Therapiedauer, Ethnizität, Geschlecht etc.) untersucht werden, um Risikofaktoren für eine inadäquate Medikamentenexposition der kleinen Patienten zu identifizieren.

Von Dezember 2012 bis Februar 2013 wurden Serumkonzentrationen der Substanzen LPV, NVP und EFV von 15 Patienten auf der pädiatrischen Intensivstation des *Tygerberg Hospitals* in Kapstadt gemessen.

5.1. Die Höhe der Serumkonzentrationen im Verhältnis zu angestrebten therapeutischen Bereichen

Ein sinnvoller Einsatz des Therapeutischen Drug Monitorings hat die Voraussetzung, dass für die jeweils untersuchten Substanzen ein umschriebener Serumspiegel-Bereich existiert, in welchem möglichst geringe Nebenwirkungen bei ausreichender Effektivität der Therapie auftreten. Bei vielen in der HIV-Therapie eingesetzten Substanzen gibt es bisher noch Kontroversen über die anzustrebenden Bereiche.^{59,67}

5.1.1. Anzustrebender therapeutischer Bereich und Höhe der Serumkonzentrationen von Nevirapin

Bei den Patienten dieser Untersuchung erfolgte der Einsatz des NNRTI Nevirapin ausschließlich zur Prophylaxe der vertikalen Transmission von der Mutter auf das Kind. Die Leitlinie der WHO zur NVP-Prophylaxe bei vertikal HIV-exponierten Neugeborenen empfiehlt einen Ziel- $c_{trough} > 100$ ng/ml. Dieser Wert wurde auch in anderen Studien über die Effektivität der NVP-Prophylaxe bei Neugeborenen als Ziel- c_{trough} herangezogen und als ausreichend effektiv bewertet.^{65,66}

Für therapeutische Zwecke wird ein Ziel- $c_{trough} > 3.000-3.500$ ng/ml gefordert.⁶⁸ Für die Obergrenze des therapeutischen Bereichs für NVP herrscht kein Konsensus. In einer Studie von *De Requena et al. (2005)* wurde ein vermehrtes Auftreten von Toxizität bei Serumspiegeln > 6.000 ng/ml beobachtet (Transaminasen-Erhöhung),⁸⁸ was in anderen Studien allerdings nicht bestätigt werden konnte.⁸⁹

In dieser Untersuchung wurden die NVP-Serumkonzentrationen von 7 Proben (6 Patienten) gemessen. Der niedrigste gemessene Spiegel lag bei 1.514 ng/ml und somit > 15 fach über dem für die Prophylaxe empfohlenen $c_{trough} > 100$ ng/ml. Alle gemessenen Serumspiegel lagen über diesem Wert. Sechs Proben (83%) waren mit ihren Serumkonzentrationen in dem Bereich zwischen 100 ng/ml und 6.000 ng/ml, dessen Obergrenze der von *Requena et al. (2005)* entspricht, ab welcher vermehrt Zeichen von

Hepatotoxizität auftraten.⁸⁸ Eine NVP-Serumkonzentration lag mit einem Wert von 12.072 ng/ml bei lediglich prophylaktischer Dosierung deutlich über dieser Grenze.

Insgesamt lagen für NVP auf der pädiatrischen Intensivstation für prophylaktische Zwecke also suffiziente Serumspiegel vor. Keiner der Spiegel war subtherapeutisch, was auf eine ausreichende Dosierung hinweist. Ein Patient wies einen Serumspiegel auf, der als sehr hoch einzustufen ist.

Bei kontroverser Studienlage zur Obergrenze eines therapeutischen Bereichs im Sinne des von de Requena et al. ermittelten Spiegels (6.000 ng/ml), ab welchem vermehrt Toxizität auftritt, empfehlen sich weitere Studien mit dem Ziel der Definition solcher Bereiche.

Diese Untersuchung unterstreicht, dass selbst bei prophylaktischer Dosierung von NVP hohe Serumkonzentrationen (Maximum 12.072 ng/ml) auftreten können. Dies hat Relevanz, betrachtet man die große Zahl der HIV-exponierten Neugeborenen in Südafrika und den folglich weit verbreiteten Einsatz von NVP als teils über mehrere Monate eingenommenes Prophylaktikum, welches in der von den südafrikanischen Leitlinien empfohlenen – nur prophylaktischen - Dosierung in dieser Untersuchung bereits zu möglicherweise toxischen Nevirapin-Konzentrationen führte.^{88,90}

5.1.2. Anzustrebender therapeutischer Bereich und Höhe der Lopinavir-Serumkonzentrationen

US-amerikanische Leitlinien empfehlen als Richtwert zur Sicherstellung einer suffizienten viralen Suppression bei therapienaiven Patienten einen LPV- $C_{trough} > 1.000$ ng/ml im Serum. Als Richtwert für therapieerfahrene Patienten empfehlen sich C_{trough} -Werte > 4.000 ng/ml für eine ausreichende Suppression. Es wird davon ausgegangen, dass sich bei antiretroviral vorbehandelten Patienten häufiger resistente Viren selektionieren, sodass höhere LPV-Spiegel für eine ausreichende virale Suppression nötig werden. Bekannte Nebenwirkungen von LPV sind Dyslipidämie, Diarrhö, abdominale Schmerzen, Hepatotoxizität und allgemeines Schwächegefühl. Eine direkte

Assoziation mit erhöhten LPV-Spiegeln konnte bislang nicht gezeigt werden. Als c_{max} wurde vom Hersteller 10.000 ± 3.300 ng/ml angegeben. Bei Säuglingen wie im untersuchten Patientenkollektiv betrug c_{max} nach Herstellerangaben 8.200 ng/ml.⁵⁸⁻⁶⁰

In dieser Untersuchung wurden die LPV-Konzentrationen von 15 Serumproben (8 Patienten) gemessen. Der niedrigste Messwert lag bei 1.932 ng/ml, womit 100% der gemessenen Serumspiegel über dem für therapienaive Patienten empfohlenen $c_{trough} > 1.000$ ng/ml lagen. 93,33 % (14) der Proben lagen mit ihrem Spiegel über dem für therapieerfahrene empfohlenen Spiegel $c_{trough} > 4.000$ ng/ml. Da der Patient, von dem die eine Serumprobe mit einem Messwert von < 4.000 ng/ml stammte, nicht mit antiretroviralen Medikamenten vorbehandelt worden war, ist davon auszugehen, dass auch dieser Serumspiegel von 1.932 ng/ml für eine suffiziente virale Suppression sorgte. Der Serumspiegel einer zweiten Serumprobe desselben Patienten lag bei 9.726 ng/ml.

Als Erklärung für die Differenz zwischen den beiden Serumspiegeln könnte potenziell die unterschiedliche Nahrungsaufnahme vor der Medikamenteneinnahme in Frage kommen. Aufgrund einer invasiven Untersuchung war der Patient zum Zeitpunkt der Einnahme von LPV/r vor der ersten Serumspiegelmessung, sowie auch > 3 h nach der Dosisapplikation nüchtern. Gleichzeitig zur Applikation der LPV-Dosis vor der zweiten Serumspiegelmessung erhielt der Patient ca. 150 ml (Melegi®), einer chemisch angesäuerten, auf Kuhmilch basierenden Säuglingsnahrung.⁹¹ Eine weitere Gabe von 150 ml Melegi® erfolgte ca. 3h später. Der zweite gemessene Serumspiegel lag mit 9.726 ng/ml deutlich höher. In einer Studie mit erwachsenen Patienten konnte gezeigt werden, dass die orale Bioverfügbarkeit von LPV deutlich steigt, wenn das Medikament gemeinsam mit einer fetthaltigen Nahrung aufgenommen wird. So lag in dieser Studie die Lopinavir-Exposition bei Einnahme mit einer fetthaltigen Mahlzeit um 43% höher als die Lopinavir-Exposition bei nüchternen Patienten.⁷⁶

Insgesamt lagen auf der pädiatrischen Intensivstation LPV-Serumkonzentrationen vor, die höher waren als die empfohlene Untergrenze. Keiner der Spiegel war subtherapeutisch, was auf eine ausreichend hohe Dosierung beim untersuchten Kollektiv hinweist.

Mit Spiegeln bis maximal 28.778 ng/ml traten jedoch auch extrem hohe Serumkonzentrationen von LPV auf. 60% der Spiegel (9 von 15) lagen höher als $c_{max} = 8.200$ ng/ml. Es lag in dieser Population somit ein hohes Risiko für das Erreichen von LPV-Serum-Konzentrationen vor, die größer waren als $c_{max} = 8.200$ ng/ml, wie vom Hersteller für diese Altersgruppe angegeben.

Während eine Obergrenze des therapeutischen Bereiches bisher nicht definiert werden konnte, sind toxische Effekte durch die Substanz LPV wie Leberschäden, Dyslipidämie und gastrointestinale Nebenwirkungen doch bekannt. In anderen pädiatrischen Studien, wie unter 5.2.2. näher diskutiert, wurden bei Kindern unter zwei Jahren deutlich niedrigere LPV-Serumspiegel und ein erhöhtes Risiko für subtherapeutische Konzentrationen beobachtet.

Das Vorliegen solch widersprüchlicher Ergebnisse unterstreicht die Schwierigkeiten bei der richtigen Dosisfindung in dieser Altersgruppe mit einer teils erheblich variablen Pharmakokinetik als bei erwachsenen Patienten. Dies trifft insbesondere auch auf die komplexen Bedingungen einer intensivmedizinischen Behandlung zu. Eine potentielle LPV-assoziierte Toxizität kann in einem solchen Setting unter Umständen nur schwierig von Symptomen der zugrundeliegenden schweren Erkrankung oder von unerwünschten Nebenwirkungen der oft zahlreichen anderen intensivtherapeutisch eingesetzten Pharmaka differenziert werden.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen den potentiellen Vorteil auf, den TDM als Werkzeug zur Therapieoptimierung in einer sehr fragilen Patientenpopulation mit schwer vorhersehbarer individueller Pharmakokinetik und unter komplexen klinischen Bedingungen bringen kann.

5.2. Mögliche Einflussfaktoren auf die Höhe der Serumspiegel

5.2.1. Mögliche Einflussfaktoren auf die Höhe der NVP-Serumspiegel

5.2.1.1. Zeitintervall zwischen Medikamenteneinnahme und Blutentnahme

Die HWZ von Nevirapin beträgt 25-30 h.⁶⁸ C_{max} wird nach circa 4 h erreicht und der Serumspiegel reduzierte sich um ca. 6 % pro Stunde in einer Studie mit 179 Patienten, in der eine signifikante negative Korrelation zwischen der Größe des Einnahmeintervalls und der Höhe der NVP-Serum-Konzentration bestand.⁹² In einer weiteren Arbeit bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den NVP-Spiegeln, die vor dem medianen Zeitintervall zwischen NVP-Einnahme und Blutentnahme (190 min) gemessen wurden und denen, die nach dieser Zeitgrenze bestimmt wurden. Die Serumkonzentrationen der früheren Messungen waren signifikant höher.⁹³

In der vorliegenden Untersuchung lag das mediane Einnahmeintervall bei 750 Minuten, die Spanne bei 120 Minuten bis 1482 Minuten. Es konnte keine signifikante negative Korrelation zwischen der Länge des Einnahmeintervalls und der Höhe des NVP-Serumspiegels gezeigt werden ($p=0,589$). Auch zeigte sich kein signifikanter Unterschied bei den NVP-Serumspiegeln, die vor dem medianen Einnahmeintervall dieser Arbeit gemessen wurde (750 min) und denen die später gemessen wurden ($p=1,00$). Überraschend war, dass dem höchsten gemessenen NVP-Serumspiegel dieser Untersuchung (12.072 ng/ml) mit einer Zeit von > 1200 Minuten sogar eines der größten Einnahmeintervalle zugeordnet werden konnte. Eine geringe Probandenzahl könnte Grund für eine nicht nachweisbare Korrelation zwischen der Höhe der Einnahmeintervalle und der Höhe der NVP-Konzentrationen im Serum in dieser Arbeit sein.

Die Tatsache, dass die höchste NVP-Konzentration dieser Erhebung (12.072 ng/ml) nach einem sehr großen Einnahmeintervall (1.308 min) gemessen wurde, lässt jedoch darauf zurückschließen, dass bei dieser – sogar nur prophylaktischen Dosierung von NVP – potentiell noch höhere Spiegel erreicht werden könnten. In einer Studie von de Requena

et al. hatten bereits Patienten mit NVP-Spiegeln > 6.000 ng/ml ein höheres Risiko für eine hepatotoxische NVP-Wirkung.⁸⁸

5.2.1.2. Dauer der antiretroviralen Prophylaxe

Es ist bekannt, dass NNRTIs über die Induktion von bestimmten Enzymen des CYP450-System ihren eigenen Abbau vor allem im endoplasmatischen Retikulum der Hepatozyten steigern können und dass bei fehlender Dosisanpassung potentiell subtherapeutische Spiegel erreicht werden können.^{65,68,94} Deshalb wurde in dieser Untersuchung geprüft, ob es eine Korrelation zwischen der Dauer der antiretroviralen Prophylaxe und der Höhe der NVP-Serumspiegel gibt. Zu erwarten wären niedrigere NVP-Serumspiegel bei einer länger andauernden NVP-Prophylaxe.

Die Spanne der Dauer der Prophylaxe mit NVP lag zwischen 5 und 174 Tagen und lag im Median bei 20,5 Tagen. Eine Korrelation zwischen der Höhe der NVP-Serumspiegel und der Dauer der antiretroviralen Prophylaxe in Tagen konnte in der Population dieser Untersuchung nicht gezeigt werden ($p=0,329$).

5.2.1.3. Gewicht und Alter und die Dosierung nach Gewichtskategorien

Biologische Entwicklungsprozesse während des Heranwachsens spielen bei der Pharmakokinetik vieler Substanzen eine wichtige Rolle. Viele Prozesse des Metabolismus sind besonders in der Phase des kindlichen Wachstums ständig Veränderungen unterworfen. So sind gastraler pH-Wert und die Geschwindigkeit der Nahrungsmittelpassage bei der Verdauung erhöht, Gallenfunktion wiederum erniedrigt. Die Verteilung der Medikamente verändert sich mit der Zeit, da sich das Gesamtkörperwasser schon im ersten Lebensjahr absolut um 20-25 % reduziert und der Körperfettanteil in ähnlicher Weise steigt. Auch die Enzymaktivität des CYP-Systems steigert sicher erst etwa bis zum Ende des ersten Lebensjahres über das Niveau eines Erwachsenen.⁴⁷

Im Speziellen über die Substanz NVP ist bekannt, dass sich ihre Elimination im Laufe des ersten Lebensjahres deutlich beschleunigt.⁶⁵ Ein höheres Körpergewicht war in einer Arbeit aus dem Jahr 2002 mit einer höheren Clearance für NVP verbunden.⁹⁵ Aufgrund der Zunahme der Clearance besonders im ersten Lebensjahr, wären niedrigere NVP-

Spiegel mit zunehmendem Alter bei den Kindern der vorliegenden Untersuchung, die im Mittel 55 Tage alt waren, zu erwarten.

Tatsächlich zeigte sich allerdings zwischen dem Alter der Patienten und der Höhe der NVP-Serumspiegel eine signifikante negative Korrelation ($p=0,042$).

Auffällig war in dieser Untersuchung jedoch ebenfalls der Zusammenhang zwischen der Dosierung bezogen auf das Körpergewicht (mg/kgKG) und dem Alter. Die Dosierung bei den Patienten des untersuchten Kollektivs erfolgte korrekt gemäß der südafrikanischen nationalen Therapieempfehlungen.⁹⁶ Diese empfehlen die Dosierung nach Gewichtskategorien bis zur vollendeten 6. Lebenswoche und danach nach Alterskategorien. So erhält nach den Leitlinien beispielsweise ein sechs Wochen alter Säugling die gleiche Dosierung wie ein sechs Monate alter Säugling (20 mg/d).

Bei der Population dieser Untersuchung lag bezogen auf das Körpergewicht eine große Spannbreite bei der Dosierung vor. Die Säuglinge erhielten zwischen 2,86 mg/kgKG und 6,82 mg/kgKG. Eine negative Korrelation zwischen dem Alter der Probanden in Monaten und der Dosierung bezogen auf das Körpergewicht erwies sich als signifikant ($p=0,008$).

Auch dies könnte Einfluss auf die vorliegende signifikante Korrelation zwischen dem Alter der Patienten und der Höhe der NVP-Serumspiegel in der zugrundeliegenden Untersuchung gehabt haben. Die Ergebnisse dieser Untersuchung deuten darauf hin, dass die Dosierungen zwar ausreichend für eine retrovirale Suppression im Sinne einer Prophylaxe sind, aber mit steigendem Alter bezogen auf das Körpergewicht abnehmen. Gerade bei sehr jungen bzw. sehr leichten Patienten (z.B. bei Frühgeborenen oder Neugeborenen mit einem für ihr Alter zu geringem Körpergewicht („small for gestational age“ = SGA) führte die leitliniengerechte Dosierung nach Alterskategorien zu teils sehr hohen NVP-Serumspiegeln trotz der nur prophylaktischen, einmal täglichen Applikation.

Ein Einsatz von TDM zur Vermeidung sehr hoher, potentiell toxischer Serumspiegel könnte also bei Kindern mit sehr niedrigem Körpergewicht, z.B. Frühgeborenen oder SGA-Neugeborenen hilfreich sein. Auch ist zu vermerken, dass die empfohlenen Dosierungsmodalitäten wie bei diesem - für die klinische Praxis repräsentativem - Kollektiv angewandt zu einer großen Spannbreite der Dosierung pro Kilogramm

Körpergewicht führten. Die Medikamentenexposition unter den Säuglingen war folglich sehr unterschiedlich.

5.2.1.4. Geschlecht

In Studien, die die NVP-Serumspiegel erwachsener Frauen und Männer verglichen, konnten höhere NVP-Serumspiegel bei Frauen festgestellt werden. Ein höherer Körperfettanteil, ein niedrigeres Körpergewicht sowie eine unterschiedliche Enzymausstattung in der Leber, die in einer Arbeit gezeigt wurde, die sich mit der Quantifikation der Biotransformation von NVP bei Männern und Frauen befasste, bieten eine Erklärung für die höheren Serumspiegel bei Frauen.⁹⁷⁻¹⁰⁰

In der zugrundeliegenden Untersuchung zeigte sich kein signifikanter Unterschied bei der Höhe der NVP-Serumspiegel zwischen den beiden Geschlechtern ($p=1,00$). Da die o.g. intersexuellen Unterschiede sich erst mit Beginn der Pubertät entwickeln, widerspricht das Ergebnis dieser Untersuchung den oben genannten Studien nicht. Das mediane Alter des untersuchten Patientenkollektivs lag lediglich bei 1,2 Monaten, der älteste Patient war 5,8 Monate alt.

5.2.1.5. Ethnizität

In einer Studie von *Stöhr et al. (2008)* ($n=518$), welche Einflussfaktoren auf Serumkonzentrationen der Substanzen Nevirapin und Efavirenz untersuchte, konnte eine schwarzafrikanische Abstammung als signifikanter Prädiktor für höhere NVP-Serumkonzentrationen identifiziert werden.⁹²

Aufgrund der geringen Probandenzahl ($n=6$) und der ungleichen Verteilung zwischen den beiden in dieser Studie vorkommenden Ethnien (5 schwarzafrikanisch; 1 „coloured“) wurden keine statistischen Unterschiede zwischen die beiden Ethnien im Hinblick auf die Höhe der NVP-Konzentrationen im Serum durchgeführt.

Eine detailliertere Diskussion der demographischen Situation in der Westkap-Region, in welcher diese Untersuchung stattfand, befindet sich unter 5.2.2.6..

5.2.2. Mögliche Einflussfaktoren auf die Höhe der LPV-Serumspiegel

5.2.2.1. Zeitintervall zwischen Medikamenteneinnahme und Blutentnahme

Über die pharmakokinetischen Eigenschaften von Lopinavir ist bekannt, dass es eine HWZ von 5-6 h hat. Die Zeit bis zum Erreichen des maximalen Wirkspiegels t_{max} beträgt in etwa 4 h.⁵⁸ Mit einer negativen Korrelation zwischen der Höhe des Zeitintervalls (Einnahme bis Blutentnahme) und der Höhe des LPV-Serumspiegels wäre also zu rechnen.

In dieser Untersuchung konnte keine signifikante negative Korrelation zwischen der Länge des Einnahmeintervalls und der Höhe der gemessenen LPV-Serumspiegel ($\rho = -0,086$; $p = 0,761$) festgestellt werden.

Erklärung für dieses widersprüchliche Ergebnis könnte die ungleiche Verteilung der Höhe der Einnahmeintervalle bieten. So wurde ein Großteil der LPV-Serumproben (67%) zwischen 0 und 8 h nach Medikamentenapplikation abgenommen und nur 5 Messungen nach mehr als 8h. Diese ungleiche Verteilung könnte eine Ursache dafür sein, dass keine negative Korrelation gezeigt werden konnte.

5.2.2.2. Dauer der antiretroviralen Therapie

Es ist bekannt, dass LPV als Enzym-Induktor (wie in Kapitel 1.6. beschrieben) seinen eigenen Metabolismus durch Beeinflussung des CYP450-Systems steigern kann.⁷⁶ Deshalb wurde in dieser Arbeit untersucht, ob zwischen der Dauer der antiretroviralen Therapie und der Höhe der Serumspiegel eine Korrelation bestand.

Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen den beiden Parametern festgestellt werden ($\rho = -0,310$; $p = 0,456$). Da in der vorliegenden Untersuchung die Kinder mit längerer Therapiedauer keine signifikant niedrigeren Spiegel aufwiesen, ist von einer adäquaten Einstellung der Dosierung auch während der Anpassungs-, Wachstums- und Reifungsprozesse der sehr jungen Patienten dieses Kollektivs auszugehen. Insgesamt ist jedoch zu bemerken, dass die Therapiedauer, die bei Patienten dieser Untersuchung im Median bei 28 Tagen lag, im Vergleich zu erwachsenen Patienten als relativ kurz einzuordnen ist, bei denen aufgrund der wesentlich längeren Exposition gegenüber LPV

(teils über Jahrzehnte) langfristige Veränderungen, zum Beispiel durch eine Enzyminduktion, wesentlich besser zu beobachten sind.

5.2.2.3. Alter

Viele Prozesse des Metabolismus sind besonders in der Phase des kindlichen Wachstums ständig Veränderungen unterworfen. Wie unter 1.7. detaillierter beschrieben unterscheiden sich die Interaktion von Lopinavir mit dem Gastrointestinal-Trakt, die Verteilungsvolumina des Pharmakons und der CYP-Metabolismus bei Kindern und Erwachsenen.

In der vorliegenden Untersuchung waren die Patienten, die LPV erhielten, zwischen 1,68 und 13,68 Monaten alt (Median: 4,20 Monate). Insbesondere im ersten Lebensjahr, in dem sich die meisten der Patienten befanden, finden erhebliche Veränderungen der o.g. Faktoren statt. Vor allem das Gewicht nimmt rapide zu, verdoppelt sich etwa bis zum 6. Lebensmonat, verdreifacht sich etwa bis zum ersten Lebensjahr.⁸⁴ Deshalb ist auch von einem starken Zusammenhang beim Einfluss von Alter und Körpergewicht bei dieser zugrundeliegenden Untersuchung auf die Höhe der Serumkonzentrationen auszugehen (s. 5.2.2.4.).

Studien bei Kindern im Alter zwischen 6 Monaten und 12 Jahren deuten darauf hin, dass das Alter bei Dosisanpassung an die Körperoberfläche keinen signifikanten Einfluss auf die Höhe der Serumspiegel hatte.¹⁰¹

In anderen pädiatrischen Studien – jedoch mit einem niedrigerem Dosisregime für LPV als in dieser Untersuchung – hatten besonders junge und kleine Kinder (Alter < 2 Jahre bzw. < 3,5 Jahre) ein signifikant höheres Risiko für eine insuffizient niedrige LPV-Serum-Exposition.^{77,102}

Das Ergebnis der vorliegenden Untersuchung deckt sich mit diesen Ergebnissen zumindest im Hinblick auf Kinder zwischen 1 und 14 Monaten nicht. Es zeigte sich eine signifikante negative Korrelation zwischen dem Alter der Patienten zum Entnahmezeitpunkt der Probe und dem LPV-Serumspiegel der untersuchten Probe ($p=0,007$). Grund hierfür könnte der Unterschied beim Alter der Patienten zu den beiden Studien sein. Auffällig war, dass insbesondere bei den jüngeren Patienten dieser

Untersuchung (jünger als 4,1 Monate) sehr hohe LPV-Serumkonzentrationen auftraten. Die Spanne im Kollektiv dieser jüngeren Patienten (Alter < 4,1 Monate) betrug 9.282 ng/ml (Minimum) bis 28.778 ng/ml (Maximum). Die Spanne der älteren Patienten (Alter > 4,1 Monate) reichte von 1.932 ng/ml (Minimum) bis 9.726 ng/ml. Der Unterschied der Serumkonzentrationen zwischen Älteren und Jüngeren erwies sich als signifikant ($p=0,001$). Alle Patienten mit einem Serumspiegel über C_{max} (= 8.200 ng/ml) waren jünger als der Durchschnitt dieses Kollektivs.

Ein geringes Alter scheint also ein Risikofaktor für zum Teil sehr hohe LPV-Serumkonzentrationen zu sein, welche durch TDM detektiert werden können. Insbesondere die Gruppe der Säuglinge mit einem Alter bis 4 Monate zeigten ein besonders hohes Risiko für hohe LPV-Spiegel und erreichten zu 100 % Konzentrationen über C_{max} (= 8.200 ng/ml).

5.2.2.4. Körpergewicht

Lopinavir wird bei Kindern in Abhängigkeit von ihrer Körperoberfläche dosiert. Bei Säuglingen im ersten Lebensjahr besteht aufgrund der physiologisch raschen Gewichtszunahme ein enger Zusammenhang zwischen Alter und Gewicht.⁹⁶

Studien bei Erwachsenen deuten darauf hin, dass es einen inversen Zusammenhang zwischen dem Körpergewicht und der Höhe des Serumspiegels besteht.^{103,104} Die Ergebnisse der zugrundeliegenden Studie bestätigen diesen Zusammenhang auch für sehr junge Patienten. Die Spanne des Körpergewichts lag zwischen 3,6 kg (Minimum) und 7,8 kg (Maximum). Es zeigte sich eine inverse signifikante Korrelation zwischen dem Körpergewicht zum Zeitpunkt der Blutentnahme und der sich einstellenden LPV-Serumkonzentration ($p=0,002$). 93,3 % der Serumspiegel die über C_{max} (= 8.200 ng/ml) lagen, stammten von Säuglingen mit einem in dieser Population unterdurchschnittlichem Körpergewicht. Ein niedriges Körpergewicht, ebenso wie ein niedriges Alter (s.o.) korrelierten also mit hohen LPV-Serumspiegeln.

Beim Vergleich der Untersuchungsergebnisse dieser Arbeit mit denen anderer Untersuchungen pädiatrischer Pharmakokinetik zeigten sich erhebliche Unterschiede. In anderen Studien u.a. zu Zulassungszwecken und bei klinisch stabilen Kinder wurde ein

geringes Alter und Gewicht als Risikofaktoren für inadäquat niedrige LPV-Konzentrationen identifiziert.^{76,77} In der vorliegenden Untersuchung korrelierten ein niedriges Gewicht und Alter signifikant negativ mit der Höhe der Serumspiegel und stellten Risikofaktoren für Konzentrationen $> C_{max}$ dar.

Die widersprüchlichen Studienergebnisse in dieser Altersgruppe unterstreichen die Schwierigkeiten bei der richtigen Dosis-Findung für LPV in einer Population, die ständiger Veränderung durch Wachstum und Entwicklung der Organfunktionen unterworfen ist. Während eine obere Grenze des therapeutischen Bereichs für LPV nicht klar definiert worden ist, sind trotzdem toxische Effekte durch diese Substanz, wie Dyslipidämie, Leberschäden und weitere gastrointestinale Symptome bekannt. Insbesondere bei den schwerkranken, intensivmedizinisch behandelten Kindern dieses untersuchten Patientenkollektivs jedoch sind diese Symptome größtenteils sehr schwer von Komplikationen der auf der Intensivstation behandelten Erkrankungen (z.B. Sepsis mit Multi-Organversagen) oder unerwünschter Toxizität der in der Intensivmedizin meist komplexen Pharmakotherapie zu unterscheiden.

Bei der Einordnung der Ergebnisse dieser Untersuchung lässt sich die potentielle Hilfe hervorheben, die TDM zu Optimierung der Therapie in einer sehr fragilen Patientenpopulation wie dieser darstellt. Vertikal infizierte, kritisch kranke Säuglinge haben – unter insuffizienter Behandlung – ein großes Risiko für ein Fortschreiten der HIV-Infektion und können durch Medikamenten-Toxizität katastrophale Folgen erleiden.¹⁰⁵

5.2.2.5. Geschlecht

Da sich Parameter wie der Körperfettanteil und Enzymaktivität von CYP3A4 in der Leber bei Männern und Frauen unterscheiden können, wäre ein Unterschied bei den sich einstellenden LPV-Serumkonzentrationen zwischen den beiden Geschlechtern denkbar. In anderen Studien konnte bisher kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Geschlechtern gezeigt werden.¹⁰⁶ In der vorliegenden Untersuchung konnte ebenfalls kein signifikanter Unterschied bei der Verteilung der LPV-Serumkonzentrationen zwischen Knaben und Mädchen festgestellt werden ($p=0,661$).

5.2.2.6. Ethnizität

In der Westkap Region, in Südafrika, in welcher diese Untersuchung durchgeführt wurde, findet man in der Bevölkerung eine große Zahl unterschiedlicher Ethnien. Die häufigsten sind die sogenannten „Cape Coloureds“ (49%), gefolgt von Menschen schwarzafrikanischer Abstammung (33%) und Menschen kaukasischer Abstammung (17%).⁸⁵ Im untersuchten Patientenkollektiv, das eine LPV-haltige c-ART erhielt, kamen 53,3% der Proben von Patienten mit schwarzafrikanischer Abstammung, 46,7% der Proben von „Coloured“ Patienten.

Lopinavir und Ritonavir werden im Wesentlichen in der Leber über das Cytochrom-P450-Enzym System metabolisiert, hauptsächlich durch CYP3A4 und CYP2D6 (v.a. Ritonavir). Eines dieser Enzyme (CYP2D6), welches die Serumkonzentration von LPV erheblich beeinflussen kann, zeigt in seiner Aktivität eine hohe interindividuelle Variabilität am ehesten aufgrund genetischer Polymorphismen der Gene, die für dieses Enzym kodieren.^{107,108} So wird geschätzt, dass z.B. bis zu 16% der schwarzafrikanischen Bevölkerung, zu der ein Großteil der Kinder in dieser Untersuchung gehörten, sogenannte „ultra rapid metabolizer“ sind und aufgrund einer erhöhten CYP2D6-Aktivität einen vergleichsweise deutlich beschleunigten Metabolismus von LPV/r besitzen. Unterschiede im Metabolismus zwischen den beiden vertretenen Ethnien in dieser Studie und folglich auch Unterschiede in der Lage der LPV-Serumspiegel wären also denkbar.^{104,109}

In der vorliegenden Untersuchung konnte jedoch kein signifikanter Unterschied bei der Verteilung der LPV-Serumspiegel in den beiden Ethnizitätsgruppen festgestellt werden ($p=0,461$). In einer retrospektiven populations-pharmakokinetischen Studie von *van der Leur, et al.* (2006) bei Erwachsenen, in welcher 76 % kaukasischer und 18 % schwarzafrikanischer Abstammung waren, konnte ebenfalls zwischen ethnischer Zugehörigkeit und der Verteilung der LPV-Serumspiegel keine Korrelation gefunden werden.¹⁰⁴

5.3. LPV-Serumkonzentrationen in unterschiedlichen therapeutischen Umfeldern – die Rolle der Adhärenz

Die im Rahmen dieser Studie gemessenen LPV-Serumkonzentrationen stammten ausschließlich von Patienten, welche sich zum Zeitpunkt der Rekrutierung sowie der Serumspiegel-Messung in intensivmedizinischer Betreuung befanden. Diese Umgebung unterscheidet sich in den alltäglichen Abläufen der antiretroviralen Therapie von der einer ambulanten Therapie. So sind u.a. Nahrungsaufnahme sowie Medikamentenapplikation durch medizinisches Fachpersonal gesteuert. Im Hinblick auf die Medikamenteneinnahme ist von einer vollständigen Adhärenz auszugehen. Ausgelassene Dosierungen werden dokumentiert. Bei pädiatrischen Patienten in ambulanter Betreuung sind in der Regel die Erziehungsberechtigten bzw. Erzieher/-innen oder Lehrer/-innen in den jeweiligen Einrichtungen mit der Aufgabe der Medikamentengabe betraut. Eine auf die Medikamenteneinnahme abgestimmte Nahrungsaufnahme ist nicht garantiert.

Die Messungen in der Intensiv-Gruppe stammten ausschließlich aus dieser Untersuchung, die Messungen aus der Ambulanz-Gruppe stammen aus der Arbeit von *v. Bibra et. al.* (2014), einer weiteren Untersuchung, in der ambulant betreute Kinder rekrutiert wurden.⁷⁹ Beide Arbeiten waren Teil des Gesamtprojekts „The impact of therapeutic drug monitoring (TDM) on antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS“ und fanden am Tygerberg Childrens' Hospital, in Kapstadt statt.

Beim Vergleich der Höhe der Serumspiegel in den beiden Gruppen in Bezug auf C_{min} (=5.500 ng/ml) zeigte sich, dass signifikant mehr gemessene Serumkonzentrationen (87 %) bei den intensivmedizinisch betreuten Patienten über $C_{min} = 5.500$ ng/ml lagen ($p=0,023$). In der Ambulanz-Gruppe waren es lediglich 59 %.

Kein gemessener Serumspiegel in der Intensiv-Gruppe war für therapienaive Patienten subtherapeutisch (< 1.000 ng/ml) entsprechend amerikanischer Leitlinien.^{58,59}

In der Ambulanz-Gruppe waren 27 % der Serumspiegel ($n = 6$) nach dieser Definition subtherapeutisch. Weitere 14 % ($n=3$) der Serumspiegel waren zwar im therapeutischen

Bereich, jedoch lagen sie auch unter $C_{min} = 5.500 \text{ ng/ml}$. Alle subtherapeutischen Konzentrationen ($< 1.000 \text{ ng/ml}$) befanden sich im nicht messbaren Bereich von $< 125 \text{ ng/ml}$ (LLQ), so dass eine fehlende oder lückenhafte Medikamentenapplikation in der Zeit vor der Spiegelmessung zu vermuten ist.

Suboptimale Adhärenz bei der antiretroviralen Therapie ist ein großer Risikofaktor für virologisches Versagen und Resistenzentwicklung. Dies konnte in einer Meta-Analyse von *Bezabhe et al.* (2016) gezeigt werden, wenn diese auch den bisher angenommenen „cut-off“-Wert für optimale Adhärenz ($< 95\%$) in Frage stellte.¹¹⁰

In dieser Untersuchung auf einer pädiatrischen Intensivstation konnte gezeigt werden, dass keiner der Patienten, die ihre antiretrovirale Medikation sowie ihre Nahrung durch medizinisches Fachpersonal erhielten, in einer Querschnittserhebung zu zufällig gewählten Zeitpunkten subtherapeutische LPV-Serumkonzentrationen hatte. In der Gruppe der ambulanten Patienten lag der Anteil subtherapeutischer Konzentrationen mit 27% signifikant höher ($p=0,008$).

Diese signifikanten Unterschiede in den Anteilen optimaler Serumkonzentrationen, wie sie in dieser Arbeit anhand eines Vergleichs der Messergebnisse aus einem intensivmedizinischen Setting mit denen aus einem ambulanten Setting gezeigt werden konnten, unterstreichen, dass die Therapieadhärenz eine entscheidende Rolle für das Erzielen therapeutischer Serumkonzentrationen spielt.

In Ländern mit mittleren und niedrigen Einkommen kennt man einige Faktoren, die sich auf die Therapieadhärenz auswirken. Zu diesen zählen u.a. die familiären Strukturen, die Entfernung zu den HIV-Ambulanzen, der Aufklärungsstatus über die HIV-Erkrankung und insbesondere auch die Stigmatisierung in der Gesellschaft.^{111,112} Antworten der Patienten auf Fragen zur Therapieadhärenz zeigten sich als Prädiktor für eine gute Therapieadhärenz, doch besonders in Ländern, in welchen Stigmatisierung durch die HIV-Erkrankung eine große Rolle spielt, wird mangelhafte Adhärenz immer wieder verschwiegen.^{113,114}

TDM erscheint als Ergänzung zur üblicherweise durchgeführten Befragung als ein zuverlässiges, objektives Mittel zur Einschätzung der Therapie-Adhärenz bei Patienten

in einem ambulanten Setting, welche unstrittig ein entscheidender Faktor für eine erfolgreiche virale Suppression und das Verhindern von Resistenzentwicklung des HI-Virus ist.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Untersuchung wurden die Serumkonzentrationen der antiretroviralen Substanzen Lopinavir, Nevirapin und Efavirenz von insgesamt 15 Kindern auf der pädiatrischen Intensivstation des Tygerberg Hospitals in Kapstadt, Südafrika gemessen. Die Medikamente wurden zu prophylaktischen Zwecken (Nevirapin, n=6) oder zu therapeutischen Zwecken (Lopinavir, n=8; Efavirenz, n=1) verabreicht. Es wurden insgesamt 23 Blutproben zur Durchführung eines Therapeutischen Drug Monitorings während zu zufälligen Zeitpunkten in der klinischen Routine stattfindenden Blutentnahmen von Patienten gewonnen, die für die jeweils untersuchte antiretrovirale Substanz einen *steady state* erreicht hatten.

Im TDM-Labor der Medizinischen Klinik II des Universitätsklinikum Würzburg wurden die Serumspiegel von Lopinavir, Nevirapin oder Efavirenz gemessen. Das Patientenkollektiv auf der pädiatrischen Intensivstation war im Vergleich zu Kollektiven anderer pharmakokinetischer Studien an Kindern sehr jung und befand sich überwiegend in kritischem medizinischem Zustand und folglich unter komplexer, multimodaler Therapie.

Das mediane Alter der Patienten, die eine NVP-Prophylaxe erhielten, betrug 1,2 Monate, das mediane Alter der Patienten, die eine LPV-haltige cART erhielten, betrug 4,1 Monate. Auch lag beim untersuchten Kollektiv überwiegend ein sehr geringes Körpergewicht vor, welches in der NVP-Gruppe im Mittel 3,8 kg und in der LPV-Gruppe im Mittel 5,1 kg betrug. So waren zum Beispiel 71,4% des untersuchten Patientenkollektivs, die eine LPV-haltige cART erhielten nach der Definition der WHO untergewichtig.

Alle Patienten, die NVP zu prophylaktischen Zwecken erhalten hatten, wiesen Serumkonzentrationen auf, die über dem für die Prophylaxe empfohlenen $c_{trough} > 100$ ng/ml lagen. Es ist somit von einer ausreichenden Dosierung auszugehen. Einer der Patienten erreichte trotz einer lediglich prophylaktischen Dosierung eine NVP-Serumkonzentration von 12.072 ng/ml. Zwar ist eine klare Obergrenze des therapeutischen Bereichs für NVP nicht definiert, jedoch gibt es Studien an

Erwachsenen, in welchen ab NVP-Serumkonzentrationen > 6.000 ng/ml ein vermehrtes Auftreten von Hepatotoxizität festgestellt wurde.

Die Faktoren Alter und Körpergewicht wiesen jeweils eine signifikante negative Korrelation mit der Höhe der NVP-Serumspiegel auf ($p=0,0042$ und $p=0,008$). Jedoch ergab sich in der untersuchten Population auch eine signifikante negative Korrelation zwischen dem Alter und der auf das Körpergewicht bezogenen Dosierung (mg/kg KG) ($p=0,008$), welche am ehesten in den kategorischen Dosierungs-Modalitäten der südafrikanischen Leitlinien begründet lag. Das Raster dieser Dosierungspraktik, das sich an Altersspannen und nicht am Körpergewicht orientiert, erscheint insbesondere für die sehr kleinen Säuglinge, wie u. a. in dieser Studienpopulation sehr grob. Es lag hier eine Spanne der Dosierung in Bezug auf das Körpergewicht zwischen 2,86 mg/kg KG und 6,82 mg/kg KG vor.

Dies könnte potentiell Einfluss auf die Zusammenhänge zwischen Alter bzw. Körpergewicht und der Höhe der NVP-Serumspiegel gehabt haben. Ein sehr niedriges Körpergewicht korrelierte in dieser Untersuchung mit hohen NVP-Serumspiegeln.

Der Einsatz eines TDM im Rahmen der NVP-Prophylaxe kann folglich dann hilfreich sein, wenn bei den Patienten ein extrem niedriges Körpergewicht (z.B. exponierte Frühgeborene oder Neugeborene mit niedrigem Geburtsgewicht), bzw. bezogen auf das Lebensalter eine Hypotrophie und folglich ein potentielles Risiko für sehr hohe NVP-Spiegel vorliegt.

100% der gemessenen LPV-Serumkonzentration lagen über dem von Leitlinien für therapienaive Patienten empfohlenen $c_{trough} > 1.000$ ng/ml (93 % über $c_{trough} > 4.000$ ng/ml für therapieerfahrene). 60 % der gemessenen Konzentrationen waren höher als der vom Hersteller als Richtwert angegebenen $C_{max} = 8.200$ ng/ml. Ein oberer „cut-off-Wert“ ab dem vermehrt die bekannten unerwünschten Nebenwirkungen von LPV auftreten, ist nicht definiert. Toxische Nebenwirkungen jedoch sind bekannt.

Ein Einflussfaktor auf die Höhe der LPV-Serumkonzentrationen in dieser Untersuchung war das Alter der Patienten. Es zeigte sich eine signifikante negative Korrelation zwischen dem Alter der Probanden und dem LPV-Serumspiegel ($p=0,007$). Das Kollektiv

der jüngeren Patienten (<4,1 Monate) hatte signifikant höhere Serumkonzentrationen ($p=0,001$) als die älteren Patienten (>4,1 Monate) und erreichte teils sehr hohe LPV-Serumkonzentrationen (bis zu 28.778 ng/ml). Aus dem Kollektiv der jüngeren Patienten stammten alle Serumkonzentrationen, die höher waren als C_{max} (= 8.200 ng/ml).

Ebenfalls bestand ein Zusammenhang zwischen dem Körpergewicht und den LPV-Serumspiegeln. Es zeigte sich eine inverse signifikante Korrelation zwischen dem Körpergewicht und den LPV-Serumkonzentrationen der Probanden ($p=0,002$). Die in dieser Untersuchung unterdurchschnittlich schweren Patienten waren für 93 % der Serumspiegel $> C_{max}$ verantwortlich. Auch gibt es Hinweise dafür, dass ein niedriges Körpergewicht ein Risikofaktor für das Auftreten von größeren intraindividuellen Schwankungen der LPV-Serumkonzentrationen bei Patienten mit Mehrfachmessungen sein könnte. So bestand eine marginal signifikante negative Korrelation zwischen dem Körpergewicht und dem Ausmaß der intraindividuellen Serumspiegelschwankung von LPV ($p=0,053$).

In der vorliegenden Untersuchung wurden bei diesem überwiegend kritisch kranken, sehr jungen Patientenkollektiv zum Teil sehr hohe Serumkonzentrationen von Lopinavir erreicht. Zwar ist eine Obergrenze eines therapeutischen Bereiches für Lopinavir nicht klar definiert, toxische Effekte durch diese Substanz wie Lipidstoffwechselstörung, Hepatotoxizität und gastrointestinale Symptome sind jedoch bekannt. Ein geringes Körpergewicht und Alter waren im untersuchten Patientenkollektiv Risikofaktoren für das Erreichen von Serumkonzentrationen $> C_{max}$ (= 8.200 ng/ml). Dies steht damit im Widerspruch zu den Ergebnissen anderer pharmakokinetischer Untersuchungen an vorwiegend klinisch stabilen Kindern mit einem Alter < 2 Jahre (bzw 3,5 Jahre). In diesen waren ein geringes Alter und Gewicht Risikofaktoren für eine inadäquat niedrige LPV-Exposition.

Der Widerspruch zwischen den Studienergebnissen in der untersuchten Altersgruppe kleiner Kinder unterstreicht die Schwierigkeiten bei der richtigen Dosisfindung für Lopinavir in einer Population, welche permanenter Veränderung der pharmakokinetischen Bedingungen durch Wachstum und Entwicklung der

Organfunktionen unterworfen ist. Der Einsatz eines TDM kann in dieser Situation hilfreich sein.

Im komplexen Setting einer intensivmedizinischen Therapie kann es eine große Herausforderung sein, Toxizität einzelnen Substanzen anhand klinischer Erscheinung zuzuordnen. So kann eine Hepatopathie mit Anstieg der im Serum gemessenen Transaminasen beispielsweise auch Ausdruck eines Schocks oder einer Rechtsherzinsuffizienz sein. Hepatotoxische Effekte anderer in der pädiatrischen Intensivmedizin eingesetzter Substanzen, wie Antibiotika oder Sedativa sind bekannt. TDM kann daher bei der Differenzierung durch die Identifikation sehr hoher Serumkonzentrationen sinnvoll eingesetzt werden.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen die Vorteile, die TDM als Werkzeug für die Optimierung der antiretroviralen Therapie bei einem sehr fragilen Patientenkollektiv wie dem vorliegenden, bewirken kann; einem Kollektiv, für das unter inadäquater Therapie ein hohes Risiko für einen Krankheitsprogress besteht und für das zusätzliche Medikamententoxizität unter Umständen prognoseentscheidende Folgen haben kann.

Beim Vergleich der erreichten LPV-Serumkonzentrationen der intensivmedizinisch betreuten Kinder mit denen der ambulant betreuten Kindern einer weiteren Teil-Studie des übergeordneten Projekts mit dem Titel „*The impact of therapeutic drug monitoring (TDM) on antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS*“ zeigten sich signifikante Unterschiede. In der Intensiv-Gruppe war von einer vollständigen Adhärenz bei einer kontrollierten, auf die Nahrungsaufnahme abgestimmten Medikamentenapplikation auszugehen. Im ambulanten Setting unterlagen Adhärenz und Nahrungsaufnahme den Erziehungsberechtigten bzw. Mitarbeitern von Einrichtungen wie Kindergärten bzw. Schulen. Signifikant mehr Patienten wiesen in der Gruppe ambulanter Patienten subtherapeutische Spiegel auf (28% (n=6) vs. 0% in der Intensiv-Gruppe) (p=0,008). Bei fünf von ihnen befanden sich die Konzentrationen unter dem „*lower level of quantification*“, sodass der Verdacht einer insuffizienten Adhärenz erhoben werden kann. Der Anteil von Serumkonzentrationen $> C_{min}$ (= 5.500 ng/ml) bei intensivmedizinisch betreuten Kindern zeigte sich signifikant höher (p=0,023).

Es ist unstrittig, dass suboptimale Adhärenz ein bedeutsamer Risikofaktor für virologisches Versagen und Resistenzentwicklung ist. Die Ergebnisse dieser vergleichenden Untersuchung zeigen, dass TDM ein nützliches Mittel zur Einschätzung der Therapieadhärenz ist und als objektive Ergänzung zu der üblichen Befragung der Patienteneltern in einem ambulanten Setting eingesetzt werden kann, um Patienten zu identifizieren, bei denen Adhärenz-fördernde Maßnahmen nötig sind.

Literatur

1. Hoffmann C, Rockstroh J. HIV 2014/2015. Hamburg: Medizin Fokus Verlag; 2014:S. 25.
2. Jones P, Rizza C, Spooner R. Acquired immunodeficiency in haemophilia. Lancet (London, England) 1983;1:745.
3. 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 (New York, NY) 1983;220:868-71.
4. Zhu T, Korber BT, Nahmias AJ, Hooper E, Sharp PM, Ho DD. An African HIV-1 sequence from 1959 and implications for the origin of the epidemic. Nature 1998;391:594-7.
5. Worobey M, Gemmel M, Teuwen DE, et al. Direct evidence of extensive diversity of HIV-1 in Kinshasa by 1960. Nature 2008;455:661-4.
6. World : Adult HIV prevalence (15-49 years), 2013 – By WHO region. 2014. (Accessed 28.01.2016, at http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/HIV_adult_prevalence_2013.png.)
7. AIDS by the numbers. 2015. (Accessed 24.01.2016, at http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/AIDS_by_the_numbers_2015_en.pdf.)
8. Core Epidemiology Slides. UNAIDS, 2015. (Accessed 24.01.2016, at http://www.unaids.org/en/resources/documents/2015/20150714_coreepidemiologyslides_ppt.)
9. Schätzung der Prävalenz und Inzidenz von HIV-Infektionen in Deutschland. RKI, 2017. (Accessed 28.12.2017, at https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2017/Ausgaben/39_17.pdf?__blob=publicationFile.)
10. GLOBAL AIDS RESPONSE COUNTRY PROGRESS REPORT SOUTH AFRICA (2012). UNAIDS, 2012. (Accessed 26.01.2016, at http://www.unaids.org/sites/default/files/country/documents//ce_ZA_Narrative_Report.pdf.)
11. HIV and AIDS estimates (2014). UNAIDS, 2014. (Accessed 26.01.2016, at <http://www.unaids.org/en/regionscountries/countries/southafrica/>.)
12. AIDSinfo - Treatment. 2014. (Accessed 27.01.2016, at <http://aidsinfo.unaids.org/>.)
13. Campbell-Yesufu OT, Gandhi RT. Update on human immunodeficiency virus (HIV)-2 infection. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America 2011;52:780-7.
14. Chan DC, Fass D, Berger JM, Kim PS. Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. Cell 1997;89:263-73.
15. Zou YR, Kottmann AH, Kuroda M, Taniuchi I, Littman DR. Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. Nature 1998;393:595-9.

16. Zhang W, Cao S, Martin JL, Mueller JD, Mansky LM. Morphology and ultrastructure of retrovirus particles. *AIMS biophysics* 2015;2:343-69.
17. Gouws E, White PJ, Stover J, Brown T. Short term estimates of adult HIV incidence by mode of transmission: Kenya and Thailand as examples. *Sexually Transmitted Infections* 2006;82:51 ff.
18. Fact Sheet - 2015 Global HIV Statistics. 2015. (Accessed 24.01.20¹⁶, 2015, at http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_2015_en.pdf.)
19. Asher AK, Hahn JA, Couture MC, Maher K, Page K. people who inject drugs, HIV risk, and HIV testing uptake in sub-Saharan Africa. *The Journal of the Association of Nurses in AIDS Care : JANAC* 2013;24:e35-44.
20. Barron P, Pillay Y, Doherty T, et al. Eliminating mother-to-child HIV transmission in South Africa. *Bulletin of the World Health Organization* 2013;91:70-4.
21. National Strategic Plan 2007-2011: Midterm Review 2010. 2010. (Accessed 2.2.2016, at [http://www.irinnews.org/pdf/mid term review of the nsp %28preliminary report%29.pdf](http://www.irinnews.org/pdf/mid_term_review_of_the_nsp_%28preliminary_report%29.pdf).)
22. Rispel LC, Metcalf CA. Breaking the silence: South African HIV policies and the needs of men who have sex with men. *Reproductive Health Matters* 2009;17:133-42.
23. Shisana O, Rehle T, Simbayi LC, al. e. South African National HIV Prevalence, Incidence and Behaviour Survey. *Afr J AIDS Res* 2016;15:67-75.
24. WHO Case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children. WHO, 2007. (Accessed 18.03.2016, 2016, at <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/HIVstaging150307.pdf?ua=1>.)
25. CDC. From the Centers for Disease Control and Prevention. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *Jama* 1993;269:729-30.
26. Hoffmann C, Rockstroh J. HIV 2014/2015. *hivbuch*. Hamburg: Medizin Fokus Verlag; 2014: S. 7.
27. Neubert J, Niehues T, Baumann U, Buchholz B. [Guideline for antiretroviral therapy of HIV-infected children and adolescents]. *Klinische Padiatrie* 2006;154:565-77.
28. Egger M, May M, Chene G, et al. Prognosis of HIV-1-infected patients starting highly active antiretroviral therapy: a collaborative analysis of prospective studies. *Lancet (London, England)* 2002;360:119-29.
29. Katzenstein DA, Hammer SM, Hughes MD, et al. The relation of virologic and immunologic markers to clinical outcomes after nucleoside therapy in HIV-infected adults with 200 to 500 CD4 cells per cubic millimeter. *AIDS Clinical Trials Group Study 175 Virology Study Team. The New England journal of medicine* 1996;335:1091-8.

30. Lewis J, Walker AS, Castro H, et al. Age and CD4 Count at Initiation of Antiretroviral Therapy in HIV-Infected Children: Effects on Long-term T-Cell Reconstitution. *The Journal of infectious diseases* 2011;205:548-56.
31. Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion. 2014. (Accessed 31.03.2016, at http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/055-001l_Antiretrovirale_Therapie_der_HIV_Infektion_2014-05.pdf.)
32. Schooley RT, Ramirez-Ronda C, Lange JM, et al. Virologic and immunologic benefits of initial combination therapy with zidovudine and zalcitabine or didanosine compared with zidovudine monotherapy. Wellcome Resistance Study Collaborative Group. *The Journal of infectious diseases* 1996;173:1354-66.
33. Xu W, Li H, Wang Q, et al. Advancements in Developing Strategies for Sterilizing and Functional HIV Cures. *BioMed research international* 2017;2017:6096134.
34. Fortuny C, Deya-Martinez A, Chiappini E, Galli L, de Martino M, Noguera-Julian A. Metabolic and renal adverse effects of antiretroviral therapy in HIV-infected children and adolescents. *The Pediatric infectious disease journal* 2015;34:S36-43.
35. Lieberman-Blum SS, Fung HB, Bandres JC. Maraviroc: a CCR5-receptor antagonist for the treatment of HIV-1 infection. *Clinical therapeutics* 2008;30:1228-50.
36. Bai Y, Xue H, Wang K, et al. Covalent fusion inhibitors targeting HIV-1 gp41 deep pocket. *Amino acids* 2013;44:701-13.
37. Das K, Arnold E. HIV-1 reverse transcriptase and antiviral drug resistance. Part 1. *Current opinion in virology* 2013;3:111-8.
38. Wensing AM, van Maarseveen NM, Nijhuis M. Fifteen years of HIV Protease Inhibitors: raising the barrier to resistance. *Antiviral research* 2010;85:59-74.
39. Hoffmann C, Rockstroh J. HIV 2014/2015. *hivbuch*. Hamburg: Medizin Fokus Verlag; 2014: S. 68-118.
40. National Consolidated Guidelines for the Prevention of Mother-to-Child-Transmission of HIV (PMTCT) and the Management of HIV in Children, Adolescents and Adults. 2015: P. 51-69. (Accessed 01.04.2016, at <https://sahivsoc.org/Files/ART%20Guidelines%2015052015.pdf>.)
41. National Consolidated Guidelines for the Prevention of Mother-to-Child-Transmission of HIV (PMTCT) and the Management of HIV in Children, Adolescents and Adults. 2015: P. 41. (Accessed 28.03.2016, at <https://sahivsoc.org/Files/ART%20Guidelines%2015052015.pdf>.)
42. Aarnoutse RE, Schapiro JM, Boucher CA, Hekster YA, Burger DM. Therapeutic drug monitoring: an aid to optimising response to antiretroviral drugs? *Drugs* 2003;63:741-53.
43. Justesen US. Therapeutic drug monitoring and human immunodeficiency virus (HIV) antiretroviral therapy. *Basic & clinical pharmacology & toxicology* 2006;98:20-31.

44. Fletcher CV, Kawle SP, Kakuda TN, et al. Zidovudine triphosphate and lamivudine triphosphate concentration-response relationships in HIV-infected persons. *AIDS (London, England)* 2000;14:2137-44.
45. Boffito M, Acosta E, Burger D, et al. Current status and future prospects of therapeutic drug monitoring and applied clinical pharmacology in antiretroviral therapy. *Antiviral therapy* 2005;10:375-92.
46. Pretorius E, Klinker H, Rosenkranz B. The role of therapeutic drug monitoring in the management of patients with human immunodeficiency virus infection. *Therapeutic drug monitoring* 2011;33:265-74.
47. Fraaij PL, van Kampen JJ, Burger DM, de Groot R. Pharmacokinetics of antiretroviral therapy in HIV-1-infected children. *Clinical pharmacokinetics* 2005;44:935-56.
48. Lynch T, Price A. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *American family physician* 2007;76:391-6.
49. Flockhart DA, Oesterheld JR. Cytochrome P450-mediated drug interactions. *Child and adolescent psychiatric clinics of North America* 2000;9:43-76.
50. Regazzi M, Carvalho AC, Villani P, Matteelli A. Treatment optimization in patients co-infected with HIV and Mycobacterium tuberculosis infections: focus on drug-drug interactions with rifamycins. *Clinical pharmacokinetics* 2014;53:489-507.
51. Ford J, Khoo SH, Back DJ. The intracellular pharmacology of antiretroviral protease inhibitors. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2004;54:982-90.
52. Ma Q, Okusanya OO, Smith PF, et al. Pharmacokinetic drug interactions with non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology* 2005;1:473-85.
53. Back DJ, Khoo SH. The role of clinical pharmacology in optimizing antiretroviral therapy. *British journal of clinical pharmacology* 2003;55:473-6.
54. Acosta EP, Gerber JG. Position paper on therapeutic drug monitoring of antiretroviral agents. *AIDS research and human retroviruses* 2002;18:825-34.
55. King JR, Kimberlin DW, Aldrovandi GM, Acosta EP. Antiretroviral pharmacokinetics in the paediatric population. *Clinical pharmacokinetics* 2002;41:1115-33.
56. Reed MD, Gall P. *Principles of drug therapy*. Philadelphia: Saunders; 2000: P. 2229-34.
57. 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 (London, England)* 2008;22:249-55.
58. AIDSinfo guidelines. 2015. (Accessed 20.08.2017, at <https://www.aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>.)

59. Breilh D, Pellegrin I, Rouzes A, et al. Virological, intracellular and plasma pharmacological parameters predicting response to lopinavir/ritonavir (KALEPHAR study). *AIDS* (London, England) 2004;18:1305-10.
60. Casado JL, Del Palacio M, Moya J, et al. Safety and pharmacokinetics of lopinavir in HIV/HCV coinfecting patients with advanced liver disease. *HIV clinical trials* 2011;12:235-43.
61. Fachinformation Sustiva. Bristol-Myers Squibb. (Accessed 05.04.2016, at <http://www.ema.europa.eu/>.)
62. 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* (London, England) 2001;15:71-5.
63. de Waal R, Kroon SM, Holgate SL, et al. Nevirapine concentrations in preterm and low birth weight HIV-exposed infants: implications for dosing recommendations. *The Pediatric infectious disease journal* 2014;33:1231-3.
64. National Consolidated Guidelines for the Prevention of Mother-to-Child-Transmission of HIV (PMTCT) and the Management of HIV in Children, Adolescents and Adults. 2015: P. 59. (Accessed 28.03.2016, at <https://sahivsoc.org/Files/ART%20Guidelines%2015052015.pdf>.)
65. Mirochnick M, Clarke DF, Dorenbaum A. Nevirapine: pharmacokinetic considerations in children and pregnant women. *Clinical pharmacokinetics* 2000;39:281-93.
66. Shetty AK, Coovadia HM, Mirochnick MM, et al. Safety and trough concentrations of nevirapine prophylaxis given daily, twice weekly, or weekly in breast-feeding infants from birth to 6 months. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)* 2003;34:482-90.
67. De Requena DG, Jimenez-Nacher I, Soriano V. Changes in nevirapine plasma concentrations over time and its relationship with liver enzyme elevations. *AIDS research and human retroviruses* 2005;21:555-9.
68. Boehringer-Ingelheim. Fachinformation VIRAMUNE. 2010. (Accessed 20.06.2019, at https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/viramune-epar-product-information_de.pdf.)
69. Fraaij PL, Rakhmanina N, Burger DM, de Groot R. Therapeutic drug monitoring in children with HIV/AIDS. *Therapeutic drug monitoring* 2004;26:122-6.
70. van Rossum AM, Fraaij PL, de Groot R. Efficacy of highly active antiretroviral therapy in HIV-1 infected children. *The Lancet Infectious diseases* 2002;2:93-102.
71. Albrecht M, Mukherjee AL, Tierney C, et al. A randomized clinical trial evaluating therapeutic drug monitoring (TDM) for protease inhibitor-based regimens in antiretroviral-experienced HIV-infected individuals: week 48 results of the A5146 study. *HIV clinical trials* 2011;12:201-14.
72. Kredt T, Van der Walt JS, Siegfried N, Cohen K. Therapeutic drug monitoring of antiretrovirals for people with HIV. *The Cochrane database of systematic reviews* 2009: Cd007268.

73. Katsounas A, Frank A, Klinker H, Langmann P. Efavirenz-therapy in HIV-patients with underlying liver disease: importance of continuous TDM of EFV. *European journal of medical research* 2007;12:331-6.
74. Stek AM, Mirochnick M, Capparelli E, et al. Reduced lopinavir exposure during pregnancy. *AIDS (London, England)* 2006;20:1931-9.
75. IATT PAEDIATRIC ARV FORMULAR AND LIMITED-USE LIST:2016 UPDATE. WHO, 2016. at [http://www.who.int/hiv/pub/paediatric/iattpaediatric-hiv-2016/en/.](http://www.who.int/hiv/pub/paediatric/iattpaediatric-hiv-2016/en/))
76. Fachinformation - Kaletra. EMA, 2012. (Accessed 06.04.2016, 2016, at [http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000368/WC500039044.pdf.](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000368/WC500039044.pdf))
77. Verweel G, Burger D, Sheehan N, et al. Plasma concentrations of the HIV-protease inhibitor lopinavir are suboptimal in children aged 2 years and below. *Antiviral therapy* 2007;12:453-8.
78. Bergshoeff AS, Fraaij PL, van Rossum AM, et al. Pharmacokinetics of nelfinavir in children: influencing factors and dose implications. *Antiviral therapy* 2003;8:215-22.
79. von Bibra M, Rosenkranz B, Pretorius E, et al. Are lopinavir and efavirenz serum concentrations in HIV-infected children in the therapeutic range in clinical practice? *Paediatrics and international child health* 2014;34:138-41.
80. 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. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 1999;735:41-50.
81. Langmann P, Schirmer D, Vath T, Desch S, Zilly M, Klinker H. Rapid determination of nevirapine in human plasma by gas chromatography. *Journal of chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences* 2002;767:69-74.
82. 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. *Journal of chromatography B, Biomedical sciences and applications* 2001;755:151-6.
83. National Consolidated Guidelines for the Prevention of Mother-to-Child-Transmission of HIV (PMTCT) and the Management of HIV in Children, Adolescents and Adults. 2015: P. 61. (Accessed 03.04.2016, at [https://sahivsoc.org/Files/ART%20Guidelines%2015052015.pdf.](https://sahivsoc.org/Files/ART%20Guidelines%2015052015.pdf))
84. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development. WHO, 2006. (Accessed 25.05.2016, 2016, at [http://www.who.int/childgrowth/standards/Technical_report.pdf?ua=1.](http://www.who.int/childgrowth/standards/Technical_report.pdf?ua=1))
85. Census 2011 in brief. 2012. (Accessed 30.06.2016, 2016, at [https://www.indexmundi.com/south_africa/demographics_profile.html.](https://www.indexmundi.com/south_africa/demographics_profile.html))

86. Kappelhoff BS, Crommentuyn KM, de Maat MM, Mulder JW, Huitema AD, Beijnen JH. Practical guidelines to interpret plasma concentrations of antiretroviral drugs. *Clinical pharmacokinetics* 2004;43:845-53.
87. National Consolidated Guidelines for the Prevention of Mother-to-Child-Transmission of HIV (PMTCT) and the Management of HIV in Children, Adolescents and Adults. 2015: P. 114. (Accessed 04.04.2016, at <https://sahivsoc.org/Files/ART%20Guidelines%2015052015.pdf>.)
88. De Requena GD, Nunez M, Jimenez-Nacher I, Soriano V. Liver toxicity caused by nevirapine. *AIDS (London, England)* 2002;16:290-1.
89. Dailly E, Billaud E, Reliquet V, et al. No relationship between high nevirapine plasma concentration and hepatotoxicity in HIV-1-infected patients naive of antiretroviral treatment or switched from protease inhibitors. *European journal of clinical pharmacology* 2004;60:343-8.
90. National Consolidated Guidelines for the Prevention of Mother-to-Child-Transmission of HIV (PMTCT) and the Management of HIV in Children, Adolescents and Adults. 2015: P. 62. (Accessed 28.03.2016, at <https://sahivsoc.org/Files/ART%20Guidelines%2015052015.pdf>.)
91. Johnston L. Infant formulas explained. *Mother and Child Health* 2011;15:28 - 32.
92. Stohr W, Back D, Dunn D, et al. Factors influencing efavirenz and nevirapine plasma concentration: effect of ethnicity, weight and co-medication. *Antiviral therapy* 2008;13:675-85.
93. Oberhagemann A. Untersuchungen zum Therapeutischen Drug Monitoring von Nevirapin, Efavirenz und Lopinavir im Rahmen der antiretroviralen Kombinationstherapie bei Patienten mit HIV-Infektion in Mwanza/Tansania [Inaugural-Dissertation]. Würzburg: Julius-Maximilians-Universität Würzburg; 2014.
94. Ngaimisi E, Mugusi S, Minzi OM, et al. Long-term efavirenz autoinduction and its effect on plasma exposure in HIV patients. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2010;88:676-84.
95. de Maat MM, Huitema AD, Mulder JW, Meenhorst PL, van Gorp EC, Beijnen JH. Population pharmacokinetics of nevirapine in an unselected cohort of HIV-1-infected individuals. *British journal of clinical pharmacology* 2002;54:378-85.
96. National Consolidated Guidelines for the Prevention of Mother-to-Child-Transmission of HIV (PMTCT) and the Management of HIV in Children, Adolescents and Adults. 2015: P. 63. (Accessed 04.04.2016, at <https://sahivsoc.org/Files/ART%20Guidelines%2015052015.pdf>.)
97. Regazzi M, Villani P, Seminari E, et al. Sex differences in nevirapine disposition in HIV-infected patients. *AIDS (London, England)* 2003;17:2399-400.
98. Marinho AT, Rodrigues PM, Caixas U, et al. Differences in nevirapine biotransformation as a factor for its sex-dependent dimorphic profile of adverse drug reactions. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2014;69:476-82.
99. Anderson GD. Gender differences in pharmacological response. *International review of neurobiology* 2008;83:1-10.

100. Miller MA. Gender-based differences in the toxicity of pharmaceuticals--the Food and Drug Administration's perspective. *International journal of toxicology* 2001;20:149-52.
101. Saez-Llorens X, Violari A, Deetz CO, et al. Forty-eight-week evaluation of lopinavir/ritonavir, a new protease inhibitor, in human immunodeficiency virus-infected children. *The Pediatric infectious disease journal* 2003;22:216-24.
102. van der Lee M, Verweel G, de Groot R, Burger D. Pharmacokinetics of a once-daily regimen of lopinavir/ritonavir in HIV-1-infected children. *Antiviral therapy* 2006;11:439-45.
103. Stohr W, Back D, Dunn D, et al. Factors influencing lopinavir and atazanavir plasma concentration. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2010;65:129-37.
104. van der Leur MR, Burger DM, la Porte CJ, Koopmans PP. A retrospective TDM database analysis of interpatient variability in the pharmacokinetics of lopinavir in HIV-infected adults. *Therapeutic drug monitoring* 2006;28:650-3.
105. Dunn D. Short-term risk of disease progression in HIV-1-infected children receiving no antiretroviral therapy or zidovudine monotherapy: a meta-analysis. *Lancet (London, England)* 2003;362:1605-11.
106. Umeh OC, Currier JS, Park JG, Cramer Y, Hermes AE, Fletcher CV. Sex differences in lopinavir and ritonavir pharmacokinetics among HIV-infected women and men. *Journal of clinical pharmacology* 2011;51:1665-73.
107. Gorny M, Röhm S, Läer S, Morali N, Niehues T. Pharmacogenomic adaptation of antiretroviral therapy: overcoming the failure of lopinavir in an African infant with CYP2D6 ultrarapid metabolism. *European journal of clinical pharmacology* 2009;66:107-8.
108. Kumar GN, Dykstra J, Roberts EM, et al. Potent inhibition of the cytochrome P-450 3A-mediated human liver microsomal metabolism of a novel HIV protease inhibitor by ritonavir: A positive drug-drug interaction. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 1999;27:902-8.
109. Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *The pharmacogenomics journal* 2005;5:6-13.
110. Bezabhe WM, Chalmers L, Bereznicki LR, Peterson GM. Adherence to Antiretroviral Therapy and Virologic Failure: A Meta-Analysis. *Medicine* 2016;95:e3361.
111. Hudelson C, Cluver L. Factors associated with adherence to antiretroviral therapy among adolescents living with HIV/AIDS in low- and middle-income countries: a systematic review. *AIDS care* 2015;27:805-16.
112. Lyimo RA, de Bruin M, van den Boogaard J, Hospers HJ, van der Ven A, Mushi D. Determinants of antiretroviral therapy adherence in northern Tanzania: a comprehensive picture from the patient perspective. *BMC public health* 2012;12:716.

113. Walsh JC, Mandalia S, Gazzard BG. Responses to a 1 month self-report on adherence to antiretroviral therapy are consistent with electronic data and virological treatment outcome. *AIDS (London, England)* 2002;16:269-77.

114. Bell DJ, Kapita Y, Sikwese R, van Oosterhout JJ, Lalloo DG. Adherence to antiretroviral therapy in patients receiving free treatment from a government hospital in Blantyre, Malawi. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)* 2007;45:560-3.

Anhang

1) Lebenslauf

Michael Schultheiß

Persönliche Angaben

- Geburtsdatum: 02.05.1989 in Würzburg
- Nationalität: deutsch
- Familienstand: ledig, ein Kind

Schulbildung

- *Friedrich-Koenig-Gymnasium*, Würzburg (1999-2008), Abschluss: Abitur (Note 1,6)
- *James-Madison-High-School*, San Antonio, Vereinigte Staaten von Amerika (2005-2006)

Medizinische Ausbildung

- Notarztkurs Langenargen (2017)
- DEGUM: Anästhesie Fokussierte Sonographie Modul I-III in Bamberg (2017)
- Studium der Humanmedizin an der *Julius-Maximilians-Universität* in Würzburg (2009-2015);
Abschluss: Ärztliche Prüfung nach ÄApPO (Gesamtnote: „Sehr gut“)
- Rettungssanitäterausbildung - *Johanniter Unfallhilfe e.V.*, Würzburg, *Bayerisches Rotes Kreuz e.V.*, Kitzingen, *Johanniter Akademie*, Berlin (2008-2009)

Berufliche Tätigkeit

- Assistenzarzt in der Abteilung für Anästhesiologie und Intensivmedizin am Klinikum der *Ludwigs-Maximilians-Universität München* (2016-)
- Arzt an der *Clinic Dr. Decker* in München (2016)
- Studentische Leitung der Arbeitsgemeinschaft Notfallmedizin an der *Julius-Maximilians-Universität* in Würzburg (2011-2015)
- Punktionskraft beim *Blutspendedienst des Bayrischen Roten Kreuzes* (2011-2014)
- Rettungssanitäter bei der *Johanniter Unfallhilfe e.V.* (2008 – 2015)

Praktika

- Pflegepraktika am *Missionsärztlichen Institut* und der Universitätsklinik Würzburg in den
Abteilungen Thorax- und Viszeralchirurgie (2010)
- Famulatur Anästhesiologie am *Missionsärztlichen Institut* in Würzburg (2012)
- Famulatur Innere Medizin und Hausärztliche Versorgung in der *Praxis
Öhrlein/Schilling/Girschick* in Würzburg (2013)
- Famulatur Pädiatrie *Universitäts-Kinderklinik* Würzburg (2013)

- Kardiovaskuläres Praktikum an der *Herz- und Gefäßklinik Bad Neustadt*: Herz-Chirurgie, Neurologie, Kardiologie und Kardioanästhesie (2014)
- Praktikum pädiatrische Infektiologie *Tygerberg Hospital, Universität Stellenbosch* (Kapstadt) (2014)
- Praktisches Jahr (2014-2015):
 - Allgemein- und Unfallchirurgie, Notfallmedizin am *Tygerberg Hospital, University of Stellenbosch* (Kapstadt, Südafrika)
 - Chirurgie und Orthopädie, *Kantonspital Münsterlingen* (Schweiz)
 - Innere Medizin am Klinikum der *Julius-Maximilians-Universität*
 - Pädiatrie am Klinikum der *Julius-Maximilians-Universität*

Wissenschaftliche Tätigkeit/Promotion/Stipendien

- *PHOENICS-Studie*; „Sub-Investigator“ am Standort München LMU (2018 -)
- *Hypotens-Studie*; „Sub-Investigator“ am Standort München (2017)
- Promotion im Rahmen der Teilnahme an der „*International Research Training Group 1522*“ (*Deutsche Forschungsgemeinschaft*); Mitarbeit bei der klinischen Studie „Impacts of TDM in HIV-infected patients in Southern Africa“ an der *Universität Stellenbosch* in Kapstadt (2012 -)
- *22. Parlamentarisches Patenschaftsprogramm*; Stipendiat des *Deutschen Bundestages* in den Vereinigten Staaten von Amerika (2005-2006)
- Reisestipendium des *Missionsärztlichen Instituts* Würzburg für Auslandsstudierende

2) Publikation

Medical Microbiology and Immunology (2018) 207:339–343
https://doi.org/10.1007/s00430-018-0550-5

RAPID COMMUNICATION



Lopinavir serum concentrations of critically ill infants: a pharmacokinetic investigation in South Africa

Michael Schultheiß¹ · Sharon Kling² · Ulrike Lenker¹ · Miriam von Bibra¹ · Bernd Rosenkranz³ · Hartwig Klinker¹

Received: 11 April 2018 / Accepted: 29 June 2018 / Published online: 4 July 2018
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2018

Abstract

The role of therapeutic drug monitoring in pediatric antiretroviral therapy is unclear. A little pharmacokinetic datum from clinical practice exists beyond controlled approval studies including clinically stable children. The aim of this study is to quantify LPV exposure of critically ill infants in an ICU and—by identifying risk factors for inadequate exposure—to define sensible indications for TDM in pediatric HIV care; in addition, assume total drug adherence in ICU to compare LPV exposure with a setting of unknown adherence. In this prospective investigation, 15 blood samples from critically ill infants in the pediatric ICU at Tygerberg Hospital were analyzed for LPV–serum concentrations. They were then compared to those of 22 blood samples from out-patient children. Serum-level measurements were performed with an established high-performance liquid chromatography method. All LPV–serum levels of ICU patients were higher than a recommended C_{trough} (= 1.000 ng/ml), 60% of levels were higher than C_{max} (8.200 ng/ml). Partly, serum levels reached were extremely high (Maximum: 28.778 ng/ml). Low bodyweight and age correlated significantly with high LPV concentrations and were risk factors for serum levels higher than C_{max} . Significantly fewer serum levels from infants in ICU care (mean: 11.552 ng/ml \pm SD 7760 ng/ml) than from out-patient children (mean: 6.756 ng/ml \pm SD 6.003 ng/ml) were subtherapeutic (0 vs. 28%, $p=0.008$). Under total adherence in the ICU group, there were no subtherapeutic serum levels, while, in out-patient, children with unknown adherence 28% of serum levels were found subtherapeutic. Low bodyweight and age are risk factors for reaching potentially toxic LPV levels in this extremely fragile population. TDM can be a reasonable tool to secure sufficient and safe drug exposure in pediatric cART.

Keywords Therapeutic drug monitoring · HIV · Infectious diseases · Pediatric intensive care · Pediatric HIV care · Infant HIV care · Lopinavir · Drug adherence

Introduction

Though the role of a general therapeutic drug monitoring (TDM) in antiretroviral therapy remains unclear [1], its usefulness as a tool for the treatment control in special patient

populations is well known [2–4]. However, there are a few recommendations for the sensible use of TDM in pediatric HIV care. While the proteinase inhibitor (PI) Lopinavir (LPV) is recommended as a first-line option in combined antiretroviral therapy (cART) by different guidelines for pediatric patients [5], little is known about LPV pharmacokinetics of critically ill children in daily clinical practice. Especially, for infants and toddlers, pharmacokinetic data have mostly been generated by controlled clinical trials performed for regulatory approval, including children in clinically stable conditions. Children under the age of 2 years are at a greater risk for inadequate LPV exposure [6–8]. Earlier studies with other PIs (Nelfinavir) have shown great inter-patient variability of serum concentrations in young and small children (age < 2 years) [9].

It was the aim of this investigation to quantify LPV exposure of a very fragile population of critically ill infants in

✉ Michael Schultheiß
michaelschultheiss1@gmail.com

¹ Medizinische Klinik und Poliklinik II, Schwerpunkt Infektiologie, Universitätsklinikum Würzburg, ZIM Haus A3/A4, Oberdürrbacher Str. 6, 97080 Würzburg, Germany

² Department of Pediatrics and Child Health, Ward A9, Tygerberg Hospital, University of Stellenbosch, Francie van Zijl Drive, Tygerberg 7505, South Africa

³ Division of Clinical Pharmacology, Department of Medicine, Tygerberg Hospital, University of Stellenbosch, Francie van Zijl Drive, Tygerberg 7505, South Africa

a pediatric intensive care unit in Cape Town, South Africa, and to identify risk factors for inadequate exposure. Furthermore, LPV–serum concentrations of infants in intensive care, where full adherence to drug intake can be assumed, which were compared with those of children in an out-patient setting in the same hospital, where drug application was performed mostly by the patients' legal guardians, to explore the potential of TDM to monitor adherence.

Subjects and methods

For this prospective investigation, patients were recruited exclusively during hospitalization in the *Pediatric Intensive Care Unit (PICU)* of Stellenbosch University's Tygerberg Hospital in Cape Town, South Africa. All patients received an antiretroviral treatment regimen according to South African treatment guidelines consisting of two nucleoside reverse-transcriptase inhibitors as well as the ritonavir-boosted protease-inhibitor lopinavir (LPV), a drug licensed for children under the age of 3 years. Dosage was determined by bodyweight categories [10]. Written informed consent was obtained from a legal guardian. Fifteen blood samples from critically ill infants were collected at random times during routine blood sampling. For inclusion into this investigation, the infants had to have a steady state for LPV, which is reached after a treatment span of at least five half-lives ($t_{1/2}$ -LPV=5–6 h) [11].

The samples were centrifuged (4400 rpm; 10 min) and the obtained serum was deactivated in a water bath (56 °C for 60 min). Serum was stored at – 80 °C until measurement. Blood samples were analyzed for LPV–serum concentration in the *TDM Laboratory* of the Division of Infectious Diseases, University of Würzburg, Germany, by an established high-performance liquid chromatography (HPLC) method [12].

Additional clinical data including age, weight, height, ethnicity, sex, comorbidities, co-medication, retroviral disease clinical stage, and laboratory findings were retrieved from the patients' clinical files or determined during investigation if unavailable. Time span between drug application and sampling was recorded according to the documentation of the PICU's nursing staff. A full adherence to the antiretroviral treatment regimen was assumed as drug application and documentation was exclusively performed by the staff.

According to former studies, 1000 ng/ml was defined as cut-off value for inadequately low exposure. C_{max} (8200 ng/ml) was used as cut-off value for categorizing very high, potentially toxic serum levels [13].

The distribution of LPV–serum levels from infants in the PICU was compared to serum concentration results in out-patient children at the same hospital from another investigation of the same comprehensive study [14].

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

Results

LPV–serum concentrations were analyzed in 15 blood samples from critically ill infants on an LPV-based treatment regimen, whose age ranged between 1.7 and 13.7 months (median: 4.1 months; mean: 4.7 months; SD: 3.0 months).

All infants had severe WHO stage IV disease (AIDS). Reported comorbidities were pneumonia (including *pneumocystis jirovecii* and *cytomegalie virus* pneumonia) (12), gastroenteritis (7), sepsis (3), oral candidosis (3), acute cardiac failure (2), pulmonary haemorrhage (2), meningitis (1), pulmonary tuberculosis (1), and bacterial conjunctivitis (1).

The mean body weight was 5.1 kg (median: 4.2 kg; SD: 1.5 kg; minimum: 3.6 kg; maximum: 7.8 kg). LPV was administered in a syrup formulation (Kaletra®) that included the PI-booster ritonavir with a dosage ratio of 4:1. In one case, an infant, who was treated with rifampicin for a *mycobacterium tuberculosis* infection, received LPV/ritonavir with a dosage ratio of 4:5. This resulted in a mean LPV dose of 328.6 mg/m² of body surface area (median: 312.4 mg/m²; SD: 38.6 mg/m²).

The time span between drug intake and sampling ranged from 1.5 h to 26.8 h.

As shown in Fig. 1 all samples of the critically ill infants showed LPV–serum levels, which were higher than the

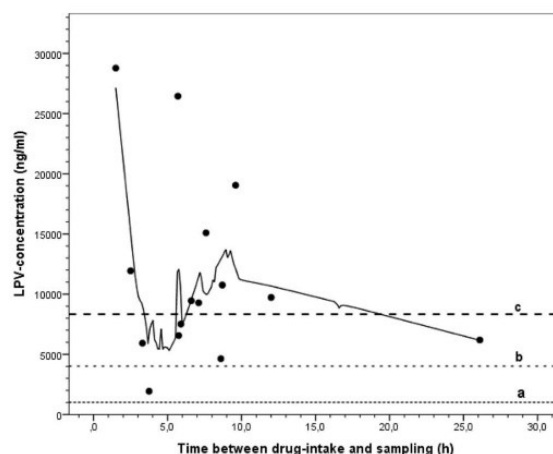


Fig. 1 Distribution of Lopinavir (LPV)–serum concentrations in infants in a pediatric intensive care unit receiving combined antiretroviral therapy (cART); line a: recommended C_{trough} (1000 ng/ml) for patients naïve to cART, line b: recommended C_{trough} (4000 ng/ml) for patients “experienced” with cART, and line c: C_{max} (8200 ng/ml) in pediatric population as described by producing company

cut-off value for inadequately low LPV exposure (1.000 ng/ml). 93.3% reached levels above C_{trough} of 4.000 ng/ml recommended for patients, who are treatment-experienced. The levels ranged from 1.932 to 28.778 ng/ml. The mean LPV-serum level in this population (11.552 ng/ml; median: 9.949 ng/ml; SD: 7.760 ng/ml) was higher than C_{max} , as described by the producer (8.200 ng/ml). Of all serum concentrations, 60% were higher than C_{max} .

In this population, we found a significant negative correlation between body weight and LPV-serum concentration ($p=0.003$) as shown in Fig. 2a. Of all patients with serum levels higher than C_{max} , 93.3% had an under-average body weight (mean: 5.1 kg).

As shown in Fig. 2b, we found a significant negative correlation between the patients' age at the time of sampling and their LPV-serum concentration ($p=0.007$). All patients with serum levels above C_{max} were younger than average in this population.

Comparing the serum concentrations of this population of critically ill infants treated in an intensive care unit (mean: 11.552 ng/ml; SD 7.760 ng/ml) with those of a population of pediatric patients treated in an out-patient setting (mean: 6.756 ng/ml; SD 6.003 ng/ml) (von Bibra et al. [14]), we found significantly fewer subtherapeutic LPV-serum levels (<1.000 ng/ml) in the intensive care group than in the out-patient group (0%/n=0 vs. 28% n=6) ($p=0.008$), as shown in Table 1. Of the six patients in the out-patient group with subtherapeutic serum concentrations, five had concentrations beneath LPV-HPLC-lower level of quantification. The mean LPV dose in the out-patient group was 298 mg/m² of body surface (329 mg/m² in the intensive care group) ($p=0.036$), and the mean age and bodyweight were 22.0 months and 12.6 kg (4.7 months and 5.0 kg in the intensive

care group) ($p<0.001$ and $p<0.001$). There were significant differences in the concomitant antiretroviral medication and CDC stage of retroviral disease in the two groups (see Table 1).

Discussion

There are limited pharmacokinetic data for lopinavir in infants. C_{max} and C_{min} have been reported by the producer to be 8.200 ± SD 2.900 ng/ml and 3.400 ± SD 2.100 ng/ml in a study with a total of 53 children, ranging in age from 6 months to 12 years [6]. In a pharmacokinetic evaluation with a total of 9 infants, Chadwick et al. have reported C_{max} and C_{min} to be 4.760 (range 2.840–7.280) ng/ml and 2.200 (range 990–4.900) ng/ml, respectively [15]. Serum levels above 1.000 ng/ml for treatment naïve and serum levels above 4.000 ng/ml are recommended for treatment-experienced adults.

Under the assumption of a total adherence to drug intake in the ICU population, 0% of the LPV concentrations were subtherapeutic, while 28% (n=6) of LPV-serum levels were lower than 1.000 ng/ml in the group of out-patients at the same hospital from an investigation of von Bibra et al. ($p=0.008$) [14]. In the five out-patients, who had LPV concentration below the lower limit of quantification of the HPLC measurement method applied, insufficient adherence can be suspected. In a recent study in 723 adult patients, TDM of PIs (including LPV) was used to estimate the prevalence of undetectable plasma concentrations of these substances. Being identified by TDM as insufficiently adherent was an independent risk factor for virological failure [16].

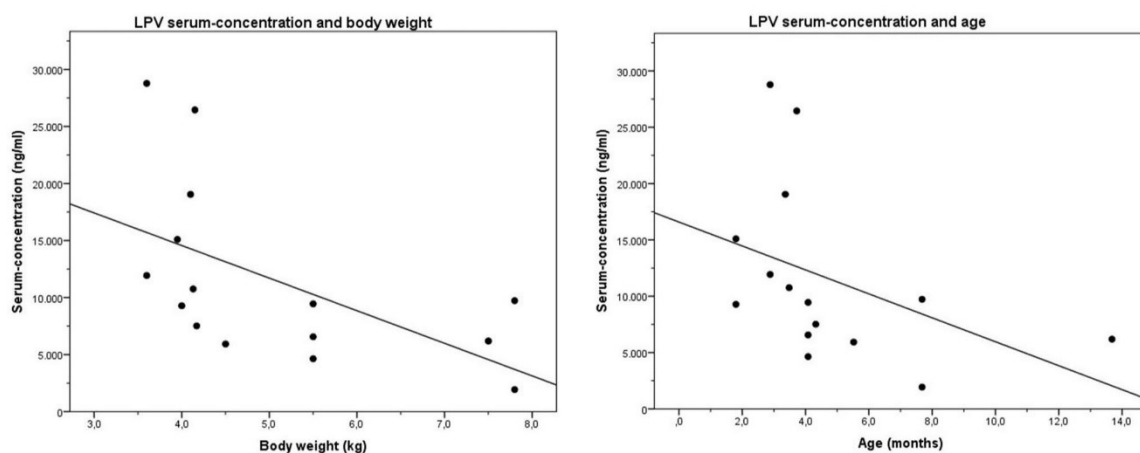


Fig. 2 Significant negative correlation between bodyweight in kilograms (left) and age in months (right) and Lopinavir (LPV)-serum concentration is shown ($p=0.003$ and $p=0.008$, respectively)

Table 1 Patients' demographic characteristics

	Intensive care patients (<i>n</i> = 15)	Out-patients (<i>n</i> = 22) [14]	
Age (years)			
Mean	0.39	2.79	<i>p</i> < 0.001*
SD±	0.25	1.87	
Range	0.15–1.14	0.65–7–11	
Female (%)	73.3	59.1	
Body weight (kg)			
Mean	5.0	12.6	<i>p</i> < 0.001*
SD±	1.5	4.5	
Range	3.6–7.8	6.4–26.7	
Dose (mg/m² of body surface)			
Mean	328.6	298.4	<i>p</i> = 0.036*
SD±	38.6	34.7	
Range	280.7–399.7	217.9–355.0	
CDC category (<i>n</i>)			
C3	5	0	<i>p</i> = 0.092
C2	6	1	<i>p</i> = 0.070
C1	4	9	<i>p</i> = 0.472
B3 or below	0	12	<i>p</i> = 0.005*
Antiretroviral drugs administered (<i>n</i>)			
Abacavir	15	4	<i>p</i> < 0.001*
Stavudin	0	14	<i>p</i> < 0.001*
Azidothymidin	0	4	<i>p</i> = 0.366
Lamivudin	15	19	<i>p</i> = 0.491
Lopinavir/r	15	22	<i>p</i> = 1.000
Ritonavir	1	2	<i>p</i> = 0.915
CD4+ count (n/μl)			
Mean	399	1373	<i>p</i> = 0.002*
SD±	189	649	
Range	191–1077	358–2643	
LPV plasma levels (ng/ml)			
Mean	11.552	6.756	<i>p</i> = 0.090
SD±	7.759	6.003	
Range	1.932–28.778	0–21.246	
Subtherapeutic (%)	0	28	<i>p</i> = 0.008*
Reasons for ICU admission (<i>n</i>) (multiple reasons possible)			
Pneumonia	8	n/a ^a	
Gastroenteritis	4	n/a ^a	
Sepsis	2	n/a ^a	
Meningitis	2	n/a ^a	
Other	4	n/a ^a	

^aRoutine visits**p* < 0.05

The findings of this comparison underline that TDM represents a useful tool for identifying patients in need of adherence-promoting interventions also in pediatric care.

Aside from comparing LPV concentration of the two study groups in regard to drug adherence, further

conclusions from this comparison do not seem sensible because of a very complex (pharmacokinetic) setting in pediatric intensive care, which seems impossible to be comprehended sufficiently.

However, some significant differences of the two groups, found in patient characteristics, are presented in this article. In this group, patients were significantly younger and lighter, which had a significantly higher CDC stage and significantly lower CD4+ counts, as visible in Table 1. Furthermore, dosage per body surface area was significantly higher in the intensive care group using national dosage guidelines, which can be explained by relatively large age/weight categories in these guidelines [5]. The concomitant “backbone” of nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NRTI) in cART differed in the two groups trending towards the newer NRTI generation abacavir in the intensive care group.

While these findings do not give a scientific explanation for the differences in serum concentrations found in the two patient groups, they illustrate the fragility and distinctiveness of this group of critically ill infants.

In this investigation, none of the infants presented subtherapeutic ($C_{\min} < 1.000$ ng/ml) LPV–serum concentrations. A remarkable number of critically ill infants (9 of 15; 60%) had serum levels higher than C_{\max} , as described for this age group by the producing pharmaceutical company (8.200 ng/ml) [6], reaching extremely high concentrations of up to (maximum) 28.772 ng/ml.

A low body weight and age correlated significantly ($p = 0.003$ and $p = 0.007$) with high LPV levels and were risk factors for levels higher than C_{\max} . While the upper level of a therapeutic range of LPV has not been clearly defined, toxic effects by this drug such as dyslipidaemia, liver damage, and gastro-intestinal symptoms are known [17]. In other pediatric studies, though with a lower dosage regimen than in this investigation, younger and smaller children (age < 2 years and respectively < 3.5 years) were at a greater risk for inadequately low LPV exposure [8, 18].

These inconsistent study results for this age group underline the difficulties of finding the right LPV dose in a population submitted to permanent alterations through growth and development of organ function. Furthermore, the results from this investigation emphasize the potential benefit that TDM can bring as a tool for optimizing therapy in this very fragile population, which—under inadequate treatment—is at great risk for disease progression and in which drug toxicity can mean catastrophic damage [19].

Acknowledgements Lots of gratitude to the doctors and nurses of the Pediatric Intensive Care Unit Ward A9 of Tygerberg Hospital, Cape Town, who lost their beloved consultant Dr. Louis Heynes to violent crime during the course of this investigation.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The author has no conflicts of interest to declare.

References

- Kredo T, Van der Walt J-S, Siegfried N, Cohen K (2009) Therapeutic drug monitoring of antiretrovirals for people with HIV. *Cochrane Database Syst Rev*
- Albrecht M, Mukherjee AL, Tierney C et al (2011) A randomized clinical trial evaluating therapeutic drug monitoring (TDM) for protease inhibitor-based regimens in antiretroviral-experienced HIV-infected individuals: week 48 results of the A5146 study. *HIV Clin Trials* 12:201–214
- Katsounas A, Frank A, Klinker H, Langmann P (2007) Efavirenz-therapy in HIV-patients with underlying liver disease: importance of continuous TDM of EFV. *Eur J Med Res* 12:331–336
- Stek AM, Mirochnick M, Capparelli E et al (2006) Reduced lopinavir exposure during pregnancy. *AIDS (London England)* 20:1931–1939
- Department of Health RoSA (2015) National consolidated guidelines for the prevention of mother-to-child-transmission of HIV (PMTCT) and the management of HIV in children, adolescents and adults. Antiretroviral therapy. Pretoria 61
- Agency EM (2012) EPAR summary for the public—Kaletra. In: EMA, ed. EMA, London
- Chadwick EG, Capparelli EV, Yogev R et al (2008) Pharmacokinetics, safety and efficacy of lopinavir/ritonavir in infants less than 6 months of age: 24 week results. *AIDS (London England)* 22:249–255
- Verweel G, Burger D, Sheehan N et al (2007) Plasma concentrations of the HIV-protease inhibitor lopinavir are suboptimal in children aged 2 years and below
- Bergshoeff AS, Fraaij PL, van Rossum AM et al (2003) Pharmacokinetics of nelfinavir in children: influencing factors and dose implications. *Antiviral Ther* 8:215–222
- Department of Health RoSA. National consolidated guidelines for the prevention of mother-to-child-transmission of HIV (PMTCT) and the MANAGEMENT of HIV in children, adolescents and adults. Antiretroviral Therapy. Pretoria 51–69
- Foissac F, Urien S, Hirt D et al (2011) Pharmacokinetics and virological efficacy after switch to once-daily lopinavir-ritonavir in treatment-experienced HIV-1-infected children. *Antimicrob Agents Chemother* 55:4320–4325
- Langmann P, Klinker H, Schirmer D, Zilly M, Bienert A, Richter E (1999) 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* 735:41–50
- AIDSinfoguidelines (2015) <https://www.aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>. Accessed 20 Aug 2017
- von Bibra M, Rosenkranz B, Pretorius E et al (2014) Are lopinavir and efavirenz serum concentrations in HIV-infected children in the therapeutic range in clinical practice? *Paediatr Int Child Health* 34:138–141
- Chadwick EG, Pinto J, Yogev R et al (2009) Early initiation of lopinavir/ritonavir in infants less than 6 weeks of age: pharmacokinetics and 24-week safety and efficacy. *Pediatr Infect Dis J* 28:215–219
- Calcagno A, Pagani N, Ariaudo A et al (2017) Therapeutic drug monitoring of boosted PIs in HIV-positive patients: undetectable plasma concentrations and risk of virological failure. *J Antimicrob Chemother* 72:1741–1744
- Casado JL, Del Palacio M, Moya J et al (2011) Safety and pharmacokinetics of lopinavir in HIV/HCV coinfecting patients with advanced liver disease. *HIV Clinical Trials* 12:235–243
- van der Lee M, Verweel G, de Groot R, Burger D (2006) Pharmacokinetics of a once-daily regimen of lopinavir/ritonavir in HIV-1-infected children. *Antiviral Ther* 11:439–445
- Dunn D (2003) Short-term risk of disease progression in HIV-1-infected children receiving no antiretroviral therapy or zidovudine monotherapy: a meta-analysis. *Lancet* 362:1605–1611

3) „Case report form“

Pat. -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

Ethnic group

Black	
Coloured	
Indian/Asian	
White	

Date of informed consent

D	D	M	M	Y	Y

Sex

male	
female	

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.			
-----------	--	--	--

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.			
-----------	--	--	--

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"> <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> <table border="1"> <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>							D	D	M	M	Y	Y					h	h	m	m	Cells/ μ l	
D	D	M	M	Y	Y																		
h	h	m	m																				
CD8 cells	<table border="1"> <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"> <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	μ mol/l									
D	D	M	M	Y	Y																		
Viral load	<table border="1"> <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"> <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	g/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

MEAL PRIOR TO BLOOD SAMPLING

Heavy meal (e.g. a full plate of food)	<input type="checkbox"/>	Time of meal	<table border="1"> <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						
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"/>										

TB MEDICATION

Medication	Time of medication intake <i>prior</i> to blood sampling								
Rifampicin	<table border="1"> <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						

LABORATORY - BLOOD SAMPLING

1. First blood sample (trough level)

Collection time

h	h	m	m

Collection date

D	D	M	M	Y	Y

2. Medicine taken

h	h	m	m

3. Second blood sample (if applicable)

Collection time

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

4) Einverständniserklärung („Informed consent form“)

Patient info&consent no. 1001

Version no. 2.0

26/03/2010

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

PARTICIPANT INFORMATION LEAFLET AND CONSENT FORM FOR USE BY PARENTS/LEGAL GUARDIANS

TITLE OF THE RESEARCH PROJECT:

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

REFERENCE NUMBER:

PRINCIPAL INVESTIGATOR:

Prof. Bernd Rosenkranz

ADDRESS:

Division of Pharmacology
Department of Medicine
University of Stellenbosch
PO Box 19063
Tygerberg, Cape Town, 7505
South Africa

CONTACT NUMBER:

Phone: +27-21-938 9331
Mobile: +27-82-955 0017
Fax: +27-21-932 6958

Invitation paragraph

Your child is being invited to take part in a research project that possibly involves the long-term storage of blood. Please take some time to read the information presented here, which will explain the details of this project. Please ask the study staff or doctor any questions about any part of this project that you do not fully understand. It is very important that you are fully satisfied that you clearly understand what this research entails and how your child could be involved. Also, your child's participation is **entirely voluntary** and you are free to decline to participate. If you say no, this will not affect you or your child negatively in any way whatsoever. You are also free to withdraw him/her from the study at any point, even if you do initially agree to let him/her take part.

This study has been approved by the **Committee for Human Research at Stellenbosch University** and will be conducted according to the ethical guidelines and principles of the international Declaration of Helsinki, South African Guidelines for Good Clinical Practice and the Medical Research Council (MRC) Ethical Guidelines for Research.

Thank you for reading this.

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

Why is this study being done and why have your child been invited to participate?

Your child has been diagnosed to be HIV positive. Nowadays, it is possible to treat HIV-infection with antiretroviral (ARV) medication to help keep your child healthy for a long time. To achieve successful antiretroviral therapy, we have to be sure that a patient's blood always contains a sufficient concentration of medication. This will avoid virus replication and disease progression.

It is therefore essential that a patient takes his/her medications regularly for a long period. This will help to suppress the virus and to avoid that the virus will develop resistances against the drugs.

The medication level sometimes differs from patient to patient, due to the effect of different food, a patient's weight and the interaction with other medications, such as anti-TB medication etc. There is also a higher risk to develop side effects if the drug level in a patient's blood is too high. If it is too low the patient may not have any clinical benefit from the medication or the virus may develop resistance against the medication.

The purpose of this study is to investigate the medication level your child's blood. With this knowledge we can find out if the dosage of your child's treatment is sufficient, not too low and not too high. We will also use this information to determine which factors influence the blood concentration of the drug in a HIV positive patient and which factors influence the response of a patient to a drug.

How many people will take part in the study?

At least 50 people will take part in this study.

Who is conducting the study?

The study is a cooperation project of Stellenbosch University (South Africa) and the University of Würzburg Medical Center (Germany).

What will happen if my child take part in this research study?

Often 2-3 routine clinical blood samples per day are taken from hospitalized patients. These sampling times will be used for the testing of the drug concentrations in your child's blood, to limit the amount of blood sampling/needle pricks. For the purpose of this study a maximum of three blood samples will be taken from your child over your child's full stay in hospital. All other normal investigations will be done as usual.

If the results of the study show that the concentrations of the drugs in your child's blood are too low or if it shows your child is resistant to the drugs, an adjustment of the drug dose or a change of the medications may occur, so that your child will get the best therapy available. The results will not be available immediately though, since it will take a time to analyze them.

What will be investigated in the blood sample?

We will investigate:

- Drug concentration
- Possibly resistances of the virus against the medication your child is on
- Possibly genetic investigations

The results of the investigations will be analyzed and published anonymous by the two universities and co-workers.

You may choose if you wish to get knowledge about your child's personal results.

Can I stop my child being in the study?

Yes. You or your child can decide to stop at any time. Tell the study nurse if you or your child are thinking about stopping or have decided to stop. Then your child's data will not be evaluated.

What risks can I expect from my child being in the study?

There are no risks because there is only one additional blood tube when a blood drawn is routinely done for clinical reasons. Your child may experience minor pain or bruising at the site where blood is taken during the routine clinical sampling. There is no special treatment or any change of your child's treatment.

If your child's blood is to be stored is there a chance that it will be used for other research?

Your child's blood will only be used for research that is directly related to the investigation of the medication level in your child's blood and the investigation as to which factors are influencing the medication levels in your child's blood. Also, if the researchers wish to use your child's stored blood for **additional research in this field** they will be required to apply for permission to do so from the Human Research Ethics Committee at Stellenbosch University.

If you do not wish your child's blood specimen to be stored after this research study is completed, you will have an opportunity to request that it should be discarded when you sign the consent form.

Are there benefits to taking part in the study?

Taking part in this study can help us determine which factors influence the blood concentration of a drug in a HIV positive patient and which factors influence the response of the patient to the medication. This information will help us to treat future HIV positive patient better and could therefore help future patients.

You will not receive feedback about your child's drug blood levels, since the blood samples will be stored for a few weeks to a few months before being analyzed. If however, we have found that the drug concentration in your child's blood is too low or that your child has a virus that is resistant to the drug, we will let you know. You may choose if you want to get this personal information or not.

Will my child's medical information and my child taking part in this study be kept confidential?

All information which is collected about your child during the course of the research will be kept strictly confidential. Any information about your child which leaves the hospital will have your child's name and address removed so that your child cannot be recognized by a third party.

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

Will you or your child be paid to take part in this study and are there any costs involved?

Neither you nor your child will be paid for taking part in this study. You will not need to pay for all laboratory tests and examinations which are study specific procedures.

What are my child's rights and my rights if my child take part in this study?

Taking part in this study is your choice. You and your child may choose either to take part or not to take part in the study. If you decide to take part in this study, your child may leave the study at any time. No matter what decision you make, there will be no penalty to you and your child and your child will not lose any of his/her regular benefits. Leaving the study will not affect your child's medical care. Your child can still get his/her medical care from our institution.

We shall tell you about new information or changes in the study that may affect your child's health or your child's willingness to continue in the study.

Who can answer my questions about the study?

You may talk to Dr. Jantjie J. Taljaard or Prof. Mark F. Cotton the study doctors, about any questions or concerns you have about this study.

You can contact the Committee for Human Research at 021-938 9207 if you have any concerns or complaints that have not been adequately addressed by your child's study doctor.

You will receive a copy of this information and consent form for your own records.

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

Assent of minor

I (*Name of Child/Minor*)..... have been invited to take part in the above research project.

- The study doctor/nurse and my parents have explained the details of the study to me and I understand what they have said to me.
- They have also explained that this study will involve (*describe any invasive procedures including taking of blood, putting up of drips etc.*)
- I also know that I am free to withdraw from the study at any time if I am unhappy.
- By writing my name below, I voluntary agree to take part in this research project. I confirm that I have not been forced either by my parents or doctor to take part.

I agree that my blood or tissue sample can be stored, but I can choose to request at any time that my stored sample be destroyed. I have the right to receive confirmation that my request has been carried out.

OR

Please destroy my blood sample as soon as the current research project has been completed. (**Tick the option you choose**)

.....
Name of child
(To be written by the child if possible)

.....
Independent witness

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

Declaration by parent/legal guardian

By signing below, I (*name of parent/legal guardian*)
 agree to allow my child (name of child) who is years
 old, to take part in a research study entitled (*insert title of study*)

I declare that:

- I have read or had read to me this information and consent form and that it is written in a language with which I am fluent and comfortable.
- If my child is older then 7 years, he/she must agree to take part in the study and his/her ASSENT must be recorded on this form.
- I have had a chance to ask questions and all my questions have been adequately answered.
- I understand that taking part in this study is **voluntary** and I have not been pressurised to let my child take part.
- I may choose to withdraw my child from the study at any time and my child will not be penalised or prejudiced in any way.
- My child may be asked to leave the study before it has finished if the study doctor or researcher feels it is in my child's best interests, or if my child do not follow the study plan as agreed to.

I agree that my child's blood or tissue sample can be stored, but I can choose to request at any time that my child's stored sample be destroyed. I have the right to receive confirmation that my request has been carried out.

OR

Please destroy my child's blood sample as soon as the current research project has been completed. (**Tick the option you choose**)

Signed at (*place*) on (*date*) 2010.

.....
Signature of parent/legal guardian

.....
Signature of witness

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

Declaration by investigator

I (*name*) declare that:

- I explained the information in this document to
- I encouraged him/her to ask questions and took adequate time to answer them.
- I am satisfied that he/she adequately understand all aspects of the research, as discussed above
- I did/did not use a interpreter (*if a interpreter is used, then the interpreter must sign the declaration below*).

Signed at (*place*) on (*date*) 2010.

.....
Signature of investigator

.....
Signature of witness

Declaration by interpreter

I (*name*) declare that:

- I assisted the investigator (*name*) to explain the information in this document to (*name of parent/legal guardian*) using the language medium of Afrikaans/Xhosa/English.
- We encouraged him/her to ask questions and took adequate time to answer them.
- I conveyed a factually correct version of what was related to me.
- I am satisfied that the parent/legal guardian fully understands the content of this informed consent document and has had all his/her questions satisfactorily answered.

Signed at (*place*) on (*date*) 2010.

.....
Signature of interpreter

.....
Signature of witness

5) Dosierungstabelle der südafrikanischen nationalen Leitlinien zur Therapie und Prophylaxe der HIV-Infektion bei Kindern ⁸⁷

<u>Substanz</u>	<u>Alter oder Gewicht</u>	<u>Alter/ tägl. Dosis</u>
Nevriapin Bis 6 Wochen	< 2,0 kg	Bis 2 Wochen: 2mg/kg 2 bis 6 Wochen: 4 mg/kg
	2,0 – 2,5 kg	Bis 6 Wochen: 10 mg
	> 2,5 kg	Bis 6 Wochen: 15 mg
	Jedes Gewicht	6 bis 12 Wochen: 20 mg
Nevirapin 6 Wochen bis 6 Monate	Jedes Gewicht	20 mg/ Tag
6 Monate bis 9 Monate	Jedes Gewicht	30 mg/Tag
> 9 Monate	Jedes Gewicht	40 mg/ Tag

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Klinker dafür, dass ich Teil dieses Projektes sein durfte, das mich nach Südafrika führte und mir eine sehr lehrreiche, aufregende Zeit verschaffte. Vielen Dank für die Geduld bei den zeitintensiven Korrekturen und Beratungsterminen, die mich auf dem Weg zu dieser Arbeit, der Publikation und dem Poster in die richtige Richtung wiesen.

Vielen Dank meiner Familie und meiner Partnerin Johanna für das Verständnis und die Unterstützung während meines Aufenthaltes in Kapstadt und für die Geduld insbesondere in der Zeit der letzten Korrekturen, in der unser erstes Kind auf die Welt kam.

Ich danke Frau Prof. Dr. Kling und dem gesamten Personal der *Pediatric Intensive Care Unit A9* des Tygerberg Hospitals für die überwältigend freundliche Aufnahme in ihr Team, die große Unterstützung bei der Rekrutierung der Patienten und die außergewöhnliche klinische Lehre, die ich jeden Tag auf dieser Station erfuhr.

Danke an die Kollegen der klinischen Pharmakologie in Südafrika, die mich auch sehr freundlich aufnahmen, fachlich unterstützten und mir wertvolle Tipps für Unternehmungen in der Umgebung gaben. Insbesondere Herrn Prof. Rosenkranz möchte ich danken für die Hilfe durch die anfänglichen bürokratischen Wirrungen und bei der Kontaktaufnahme mit der pädiatrischen Abteilung der Universität Stellenbosch.

Vielen Dank an die freundlichen und sehr hilfsbereiten Damen des TDM-Labors der infektiologischen Abteilung am Universitätsklinikum Würzburg, insbesondere Frau Lenker. Danke für die Hilfe und geduldigen Erklärungen

Danke Frau Rückert vom epidemiologischen Institut der Universität Würzburg für die kompetente statistische Beratung.

Ich danke meinen Kommilitonen und Projekt-Kollegen Niko Bauer, Daniel Clemens und Mirjam von Bibra für den freundschaftlichen und fachlichen Austausch - in Kapstadt wie in Würzburg. Viel Erfolg auf eurem weiteren Weg.