

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin
Pädiatrische Hämatologie und Onkologie
Direktor: Univ.-Prof. Dr. Heribert Jürgens

**Das Chemotherapie-Drugmonitoring im Rahmen des NB 97 Protokolls
bei Kindern mit Neuroblastom**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Imke Katharina Decius
aus Bielefeld
2010

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Wilhelm Schmitz

1. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Joachim Boos

2. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Frank Berthold

Tag der mündlichen Prüfung: 21.06.2010

Für meine Familie

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin
Pädiatrische Hämatologie und Onkologie
Direktor: Univ.-Prof. Dr. Heribert Jürgens
Referent: Univ.-Prof. Dr. Joachim Boos
Koreferent: Univ.-Prof. Dr. Frank Berthold

Zusammenfassung

Das Chemotherapie-Drugmonitoring im Rahmen des NB 97 Protokolls
bei Kindern mit Neuroblastom
Decius, Imke Katharina

Das seit 1998 bei Kindern angewandte Therapieprotokoll NB 97 beinhaltet als einen neuen, optionalen Bestandteil die Durchführung eines Drugmonitorings (DM) während der Neuroblastomchemotherapie. In dieser Arbeit werden die im DM gemessenen und in einer Datenbank in Münster erfassten Zytostatikakonzentrationen von Carboplatin, Cisplatin, Etoposid und Doxorubicin retrospektiv ausgewertet und mit simulierten Erwartungswerten der Plasmakonzentrationen des jeweiligen Medikaments verglichen. Somit wird dargestellt, zu welchen Plasmakonzentrationen die im Protokoll festgelegten Zytostatikadosierungen für Kinder tatsächlich geführt haben und inwieweit die Messwerte des Monitorings mit den simulierten Erwartungswerten korrelieren. 22% der am NB 97 Protokoll teilnehmenden Therapiezentren führten das DM durch. Von nur 7% aller an Neuroblastom neuerkrankten Patienten wurden im hier betrachteten Zeitraum (1997-2004) Blutproben für ein DM nach Münster geschickt. Bei dem Großteil der Neuroblastomchemotherapien schätzten die behandelnden Ärzte die Therapiesicherheit demnach auch ohne die Durchführung eines DM als ausreichend ein, bzw. stand die Frage der tatsächlich erreichten Dosisintensität offenbar nicht im Mittelpunkt. Die Zytostatikadosisberechnung und -applikation gemäß NB 97 Protokoll führte überwiegend zu Plasmakonzentrationen im simulierten Erwartungsbereich. Dies zeichnet die Dosisempfehlung des NB 97 Protokolls demnach, im Querschnitt betrachtet, als eine für Kinder angemessene aus. Die Dosisreduktion des Etoposids auf 100 mg/m² (für Kinder ab dem 2. Lebensjahr) gemäß NB 97 Protokoll, führte im Vergleich zu der vorherigen NB 90 Protokoll Dosis (125 mg/m²), überwiegend zur beabsichtigten geringeren Etoposidkonzentration im Plasma. Die Notwendigkeit einer körpergewichtsbasierten Etoposiddosisberechnung für unter Einjährige, anstatt eine Dosisberechnung nach m² Körperfläche, lässt sich durch diese Auswertung für Etoposid hingegen nicht bestätigen. Es wird gezeigt, dass durch individuelle Dosisberechnungen (vom Protokoll abweichende Dosierungen) ebenfalls Plasmakonzentrationen im simulierten Erwartungsbereich erzielt wurden- die Umsetzung des einheitlichen, empfohlenen Dosierungsregimes hätte in diesen Einzelfällen zu Über- oder Underdosierungen geführt. Dies unterstützt die Annahme, dass die große Variabilität der Pharmakokinetik und -dynamik bei Kindern weiterhin eine große Herausforderung der Pharmakotherapie in der Pädiatrie darstellt. Ein DM kann in Einzelfällen angezeigt sein und durch die Feststellung und Dokumentation der real erzielten, angemessenen oder unerwünschten Wirkstoffexpositionen eine Therapie und das Verständnis der Pharmakokinetik und -dynamik bei Kindern unterstützen. Eine Rechtfertigung oder Forderung für ein generelles DM bei Kindern ergibt sich aus der retrospektiven Auswertung dieser Daten, auch im Hinblick auf den großen Aufwand und die hohe präanalytische Fehleranfälligkeit, jedoch nicht.

Tag der mündlichen Prüfung: 21.06.2010

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
1 Pharmakotherapie bei Kindern: eine Herausforderung	2
1.1 Off-label-use und pharmakologische Studien in der Pädiatrie	2
1.2 Entwicklungsphysiologie bei Kindern	6
1.2.1 Einflüsse auf die Pharmakodynamik und Pharmakokinetik	6
1.2.2 Resorption und Absorption	7
1.2.3 Verteilungsvolumen	9
1.2.4 Proteinbindung	9
1.2.5 Transmembrantransport	10
1.2.6 Enzymaktivitäten	10
1.2.7 Hepato-biläre Elimination	11
1.2.8 Renale Elimination	12
1.2.9 Rezeptorinteraktionen	13
1.3 Dosierungsregime bei Kindern	14
2 Drugmonitoring (DM), Therapeutisches Drugmonitoring (TDM)	16
3 Das Neuroblastom: Inzidenz, Pathogenese, Diagnostik	17
4 Das Neuroblastom Studienprotokoll NB 97	20
4.1 Therapieplan NB 97 Protokoll	20
5 Chemotherapeutika des Neuroblastom Protokolls NB 97	24
5.1.1 Carboplatin	24
5.1.2 Carboplatintherapie im NB 97 Protokoll	26
5.2.1 Cisplatin	26
5.2.2 Cisplatintherapie im NB 97 Protokoll	27
5.3.1 Etoposid	28
5.3.1 Etoposidtherapie im NB 97 Protokoll	29
5.4.1 Doxorubicin	29
5.4.2 Doxorubicintherapie im NB 97 Protokoll	31
6 Zusammenfassung: Ziel der Arbeit und Fragestellung	31
Methoden	32
7.1 Drugmonitoring im NB 97 Protokoll	32
7.1.1 Entnahme und Versand der Zytostatikaproben	32
7.1.2 Probenanalyse	33
7.1.3 Befundübermittlung	33

7.2 Quelldaten für die Auswertungen dieser Arbeit	34
7.3 Einschlusskriterien	34
7.4 Pharmakokinetische Simulationen	35
7.5 Handhabung individueller Infusionszeiten und Dosierungen	36
7.5.1 Modifizierte Infusionszeiten	36
7.5.2 Modifizierte Dosierungen	36
Ergebnisse	37
8.1 Am Drugmonitoring teilnehmende Kliniken	37
8.2 Neuroblastom-Probeneinträge der Datenbank 1997-2004	38
8.2.1 Altersverteilung bei Probenentnahme (alle DM-Proben)	38
8.2.2 Alle in der Datenbank erfassten Neuroblastom DM-Proben	39
8.3 Relevante DM-Proben für die Auswertung dieser Arbeit	39
8.3.1 Altersverteilung Carboplatin, Cisplatin, Etoposid, Doxorubicin	40
9. Probenkollektiv und DM-Messergebnisse	41
9.1 Carboplatinproben	41
9.1.1 Simulation für Carboplatin	42
9.1.2 Gemessene Carboplatinkonzentrationen	43
9.1.3 Altersverteilung der Carboplatinmesswerte	45
9.2 Cisplatinproben	45
9.2.1 Simulation für Cisplatin _{gesamt}	46
9.2.2 Gemessene Konzentrationen Cisplatin _{gesamt}	48
9.2.3 Konzentrationen Cisplatin _{gesamt} nach Infusion einer modifizierten Dosis	49
9.2.4 Messwerte Cisplatin _{gesamt} für die Simulation	50
9.2.5 Simulation für Cisplatin _{frei}	51
9.2.6 Gemessene Konzentrationen Cisplatin _{frei}	53
9.2.7 Altersverteilung der Cisplatin _{gesamt} Messwerte	54
9.3 Etoposid Proben	56
9.3.1 Gemessene Etoposidkonzentrationen aller Infusionen	56
9.3.2 Simulation für Etoposid	59
9.3.3 Gemessene Etoposidkonzentrationen der 96h Infusionen	60
9.3.4 Altersverteilung der Etoposidmesswerte	62
9.3.5 Vergleich der modifizierten, individuellen Dosierungen	64
9.3.6 Etoposidproben aus Münster vs. Proben anderer Einsendekliniken	65

9.4 Doxorubicin Proben	67
9.4.1 Doxorubicin Simulation	68
9.4.2 Gemessene Doxorubicin Konzentrationen	69
9.4.3 Altersverteilung aller Doxorubicinmesswerte	71
Diskussion	73
10.1 Indikation für ein DM in der Pädiatrie	73
10.2 Körpergewichtsbasierte Dosierungen für unter Einjährige	81
10.3 Klinische Konsequenzen und Grenzen des NB 97 DM	83
10.4 Ausblick	85
Literaturverzeichnis	86
Danksagung	97
Lebenslauf	98
Anhang	I
Glossar	I
Verschlüsselung der teilnehmende Kliniken	III
Deutsches Kinderkrebsregister	IV
Messverfahren der Zytostatika und Arbeitsanweisungen	V
Berechnungsgrundlagen der Simulationsmodelle	XVIII
Simulation Carboplatin	XVIII
Simulation Cisplatin	XVIII
Simulation Etoposid	XIX
Simulation Doxorubicin	XX

Einleitung

In der pädiatrischen Pharmakotherapie konnten in den letzten Jahrzehnten deutliche Fortschritte der Therapiesicherheit und -effektivität verzeichnet werden. Das zunehmende Verständnis und die Berücksichtigung der altersabhängigen, kindlichen Stoffwechselprozesse, sowie die Einbeziehung der für Kinder bekannten pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Parameter in die Therapie, tragen zu dieser Qualitätssteigerung bei.

Doch allgemeingültige Empfehlungen können bei Kindern weiterhin nur wage ausgesprochen werden. Pharmakokinetische Daten von Erwachsenen können aufgrund der entwicklungspezifischen Besonderheiten bei Kindern nicht einfach auf diese übertragen werden. Zur Optimierung der kindlichen Pharmakotherapie sind nach Ansicht vieler Autoren daher vermehrt kinderspezifische, pharmakokinetische Studien notwendig (Groninger 2004).

Diese Problematik wird hier anhand einer retrospektiven Datenauswertung des Neuroblastomchemotherapieprotokolls NB 97 erläutert und diskutiert.

Das NB 97 Protokoll wird seit 1998 in Form einer prospektiven Studie zur Therapie des kindlichen Neuroblastoms umgesetzt. Es beinhaltet als ein neues, optionales Element die Durchführung eines Drugmonitorings (DM). Auf der Auswertung der erhobenen DM-Daten liegt der Fokus dieser Arbeit.

In den folgende Abschnitten werden das Neuroblastomchemotherapieprotokoll NB 97 und das durchgeführte DM erläutert. Die Herausforderungen einer pädiatrischen Pharmakotherapie und das Problem des off-label-use, die Besonderheiten bei pädiatrischen, pharmakologischen Studien, sowie die der kindlichen Pharmakokinetik- und dynamik werden beschrieben.

Inwieweit diese durch die Ergebnisse des NB 97 DM aufgezeigt werden und ob aus den DM-Ergebnissen ein Nutzen für die weitere Neuroblastomtherapie abgeleitet werden kann, wird in dieser Arbeit diskutiert.

1 Pharmakotherapie bei Kindern: eine Herausforderung

1.1 Off-label-use und pharmakologische Studien in der Pädiatrie

In den 70er Jahren rückte das Thema einer notwendigen, individuellen Pharmakotherapie für Kinder deutlich weiter in den Mittelpunkt des wissenschaftlichen Interesses. Aufgrund der diesbezüglich sehr geringen Kenntnisse beschrieb Shirkey die pädiatrische Pharmakotherapie 1968 mit dem Begriff des „therapeutischen Waisenkindes“ (Shirkey 1968). Auch Jakobi hatte schon über hundert Jahren zuvor konstatiert, dass „Kinder eben keine kleinen Erwachsenen seien“ und kindgerechte, adaptierte Behandlungsregime für Kinder notwendig sind (Kearns 2003).

1976 wurden schließlich die ersten Reviews zum Thema der Kinderpharmakokinetik veröffentlicht (Rane 1976) und es folgten zahlreiche Studien und Veröffentlichungen die sich der Problematik der kindlichen Pharmakotherapie annahmen.

Heute ergibt eine Pub-med Abfrage mit dem Suchbegriff „Pharmacotherapy in children“ bereits rund 189.300 veröffentlichte Arbeiten zu diesem Thema.

Die Verabreichung nicht zugelassener Medikamente an Kinder oder eine vom empfohlenen Therapieregime abweichende Pharmakotherapie, der „off label use“, stellt eine bedeutende Schwierigkeit in der klinischen Praxis dar. Die erste Studie zu diesem Thema wurde 1997 von Mc Kinzie veröffentlicht. 70% der Patienten einer pädiatrischen Intensivstation erhielten demnach nicht zugelassene oder „off-label“ verabreichte Medikamente (McKinzie 1997). Auch weitere Studien belegten das häufige Vorkommen dieser Therapiepraxis. Am häufigsten wurden nachweislich bei Neugeborenen (90%) eine off label Therapie durchgeführt (Turner 1999).

1999 gab es, wie Wilson in seinem „update on the therapeutic orphan“ herausstellte, bei bis zu 75% aller Medikamente noch immer keine Angaben zum Zulassungsstand oder zur Art und Weise der Anwendung in der Pädiatrie (Wilson 1999).

2009 erschien im deutschen Ärzteblatt von Mühlbauer et al. eine „Medikamenten-Verordnungsanalyse für Deutschland“, in der die off-label Verordnungen der pädiatrischen Patientenversorgung beziffert werden. Die Untersuchung ergibt, dass inzwischen 87% der Medikamente im ambulanten Sektor zulassungskonform verordnet werden. Bei 18% aller untersuchten Wirkstoffe war der genaue Zulassungsstatus für Kinder jedoch nicht feststellbar. Bei Neugeborenen fällt der Anteil der zugelassenen Verordnungen noch immer dramatisch geringer aus (nur 42% zulassungskonforme Verordnungen), erst ab dem Kleinkindalter wird überwiegend zulassungskonform

verordnet. Besonders deutlich stellte Mühlbauer heraus, dass zudem die Fachinformationen der Medikamente mangelhafte oder gar keine Informationen zur Anwendung bei pädiatrischen Patienten enthalten. Der im Arzneimittelgesetz nicht definierte Begriff „Kinder“ wird in den Fachinformationen für verschiedene Altersgruppen verwendet, zudem entsprachen die pädiatrischen Altersgruppen nicht dem Modell der Zulassungsbehörden EMEA und FDA (Mühlbauer 2009).

Der aus diesen Gründen oftmals unumgänglich praktizierte „off-label-use“ bleibt nicht ohne Folgen. In einer Zusammenfassung über die Folgen des off-label-use durch die EMEA 2004 wird das Ausmaß dieser Folgen deutlich. Demnach wurden bei 3,9% der Patienten schwere Nebenwirkungen während einer für Kinder zugelassenen Pharmakotherapie verzeichnet. Bei „off-label“ verordneten Medikamenten war dies bei 6% der Fall. Eine EMEA-Pilotstudie von 2001 ergab, dass von 820 berichteten Nebenwirkungen unter einer nicht für Kinder ausgezeichneten Medikation, 130 tödlich verliefen (EMEA 2004).

Um diesem Missstand zu begegnen, trat am 26. Januar 2007 eine neue Verordnung zur Arzneimittelsicherheit der europäischen Union in Kraft (Regulation (EC) No 1901/2006). In den Mitgliedstaaten müssen demnach für die Neuzulassung von Arzneimitteln mit patentgeschützten Wirkstoffen, und sobald Bedarf für ein Arzneimittel in einer pädiatrischen Altersgruppe besteht, Daten aus klinisch-pädiatrischen Studien vorgelegt werden. Arzneimittel müssen zudem deutlich gekennzeichnet werden, inwieweit sie für Kinder zugelassen sind. Der Patentschutz für ein Medikament wird bei Nachreichen von pädiatrisch-pharmakologischen Studien um 6 Monate verlängert. Diese Regelungen können und sollen die Pharmaindustrie zu mehr Kooperation mit den behandelnden Zentren und zu einer forcierten Arzneimittelentwicklung für Kinder bewegen, auch wenn die notwendigen Studien unter Umständen große finanzielle Investitionen erfordern (Boos 2005).

Inwieweit Ergebnisse aus den pädiatrisch-pharmakologischen Studien veröffentlicht werden, hing bisher allerdings sehr stark vom positiven bzw. negativen Studienergebnis ab. So werden nach einer Auswertung von Benjamin et al. insgesamt weniger als die Hälfte der pädiatrischen Studien veröffentlicht. Studien die ergeben, dass ein Medikament als unsicher für Kinder anzusehen ist, oder aus denen keine positive Konsequenz für die Etikettierung als ein pädiatrisch einsetzbares Medikament resultiert, werden nur zu 36% veröffentlicht. Studienergebnisse, infolge derer eine Etikettierung des Medikaments als ein für Kinder sinnvolles und sicheres möglich ist, werden hingegen zu 54% veröffentlicht (Benjamin 2006).

Der Mangel an pharmakologischen Studien liegt auch in der erschwerten Durchführbarkeit der pädiatrischen Studien begründet, wie auch Dianne Murphy, die Direktorin des FDA-Abteilung für pädiatrische Pharmakotherapie auf der FDA-Homepage einräumt. Die erforderliche kindgerechte Umgebung, das notwendige kindgerechte Equipment, die oftmals erschwerte Materialgewinnung bei Kindern und besonders die ethischen Gesichtspunkte einer pädiatrischen Studie, müssen berücksichtigt werden (Murphy 2007).

Allein für die Einwilligungserklärung zur Teilnahme an einer Studie („informed consent“) muss de facto die volle Einsicht und das volle Verständnis der potentiellen Risiken beim Studienteilnehmer vorliegen. Da dieses Verständnis bei Kindern nicht in vollem Maße vorliegt ist der gesetzliche Vertreter befähigt in eine Studienteilnahme einzuwilligen.

Nach dem amerikanischen „Code of Federal Regulation“ (45 CFR) wird bei Kinderstudien auf den Begriff des „consent“ verzichtet und zwischen dem Begriff „assent“ (= bejahendes Einverständnis des Kindes) und „permission“ (= Zustimmung der Eltern zur Studienteilnahme) unterschieden.

Die Fähigkeit „assent“ zu geben, richtet sich nach dem Alter, der Reife und dem psychologischen Stand des Kindes und wird durch Ermessen der zuständigen Ethikkommissionen festgelegt (in den USA durch das IRB = Institutional Review Board, in Europa durch die IEC= Independent Ethics Committies). Ist eine Therapie jedoch die einzig mögliche oder ergeben sich andere zwingende Gründe zur weiteren Teilnahme an einer Studie, kann das IRB auch auf den „assent“ des Kindes verzichten.

Ab dem 7. Lebensjahr ist aus entwicklungspsychologischer Sicht eine große Entwicklung des kognitiven Denkens, des Gefühlslebens und der Sozialisierung zu verzeichnen, sodass ab diesem Alter „eine Einwilligungsfähigkeit in Betracht kommen kann“ (Magnus 2006). Nach den Empfehlungen der FDA gilt diese Altersgrenze für die USA (Blumer 2007).

Nach europäischer Gesetzgebung muss vor Studieneinschluss eines Minderjährigen der „informed consent“ durch den gesetzliche Vertreter vorliegen.

Die EMEA unterscheidet darüber hinaus zwischen den unterschiedlichen Altersklassen, inwieweit die Fähigkeit zum „assent“ vorliegen kann oder nicht. Neugeborene und Kleinkinder bis zu einem Alter von 3 Jahren können demnach keinen „assent“ geben. Kinder ab einem Alter von 3 Jahren können bis zu einem gewissen Grad die Notwendigkeit einer Studienteilnahme begreifen. Sie sollten demnach zur Einwilligung oder Ablehnung befragt werden und unabhängig von ihrer

Einwilligungsfähigkeit altersgerecht über die Studie aufgeklärt werden. Sobald Kinder schreiben können, sollte deren Einwilligung in schriftlicher Form eingeholt werden (EMA 2008).

Am 1. Januar 2007 trat die „Richtlinie zur Rolle der pharmakokinetischen Studien in der Entwicklung von Medizinprodukten in der Pädiatrie“ in Kraft. Hier wird detailliert auf die spezifischen Bedingungen, die bei der Durchführung pharmakokinetischer Studien bei Kindern der unterschiedlichen Altersklassen zu beachten sind und auf das notwendige Studiendesign eingegangen (Regulation EC No 1901/2006).

Die FDA verabschiedete bereits 1998 die „guidance for industry“, in der das empfohlene Procedere für pädiatrisch-pharmakokinetische Studien festgehalten wird (FDA 1998).

In den Empfehlungen der EMA und der FDA wird neben dem Studiendesign auch auf die Art und Weise der Materialgewinnung (z.B. Blutproben) eingegangen. So soll bei Kindern besonders darauf geachtet werden, dass nur „geringe Mengen Probenmaterial“ entnommen werden. Idealerweise sollen demnach spezifisches Entnahmematerial und Analysegeräte eingesetzt werden, die eine exakte Analyse geringer Materialmengen ermöglichen. Die Materialgewinnung sollte soweit möglich im Zuge von Routinelaborkontrollen erfolgen.

Auch während der Neuroblastomchemotherapie stellt die Materialgewinnung für das DM einen invasiven Eingriff dar. Die Blutentnahmen zur Analyse der Plasmakonzentrationen müssen innerhalb eines vorgeschriebenen Zeitintervalls während der Zytostatikainfusion erfolgen und können nicht immer während Routinelaborkontrollen erfolgen (Details hierzu folgen im Material und Methoden Teil).

In der pädiatrischen Onkologie entsprechen Studien und kalkulierte off-label Therapien der alltäglichen Praxis. Auch durch diese Therapien werden Kindern mit Krebserkrankungen heute Überlebenschance von mehr als 75% eröffnet (Benninger-Döring 2006). Doch überwiegend fehlen konkrete pädiatrisch-pharmakokinetische Daten für Medikamente die in der Onkologie eingesetzt werden, da diese bei der Zulassung für Erwachsene bisher nicht gefordert wurden (Cole 2006, Review S. 723). So werden 60-90% der verwendeten Arzneimittel in der Kinderonkologie außerhalb ihres Zulassungsrahmens eingesetzt (Benninger-Döring 2006). Die Bestrebungen auf europäischer und nationaler Ebene sollen zu einer Verbesserung der Behandlungsoptionen krebskranker Kinder und zu einer Reduzierung des off-label-use

in der Kinderonkologie beitragen. Doch bedarf es einem „engmaschigen Abstimmungsprozess zwischen den Akteuren: Fachgesellschaften, Studiengruppen, Kompetenznetzen, KKS“ (Benninger-Döring 2006).

1.2 Entwicklungsphysiologie bei Kindern

1.2.1 Einflüsse auf die Pharmakodynamik und Pharmakokinetik

Die Pharmakokinetik und -dynamik eines Medikaments und somit auch dessen Effektivität und mögliche Toxizität ist von vielen individuelle Einflussgrößen abhängig. Diese pharmakokinetischen und -dynamischen Einflussgrößen auf die Arzneimitteltherapie werden in Abbildung 1.1 schematisch dargestellt (Koling 2008).

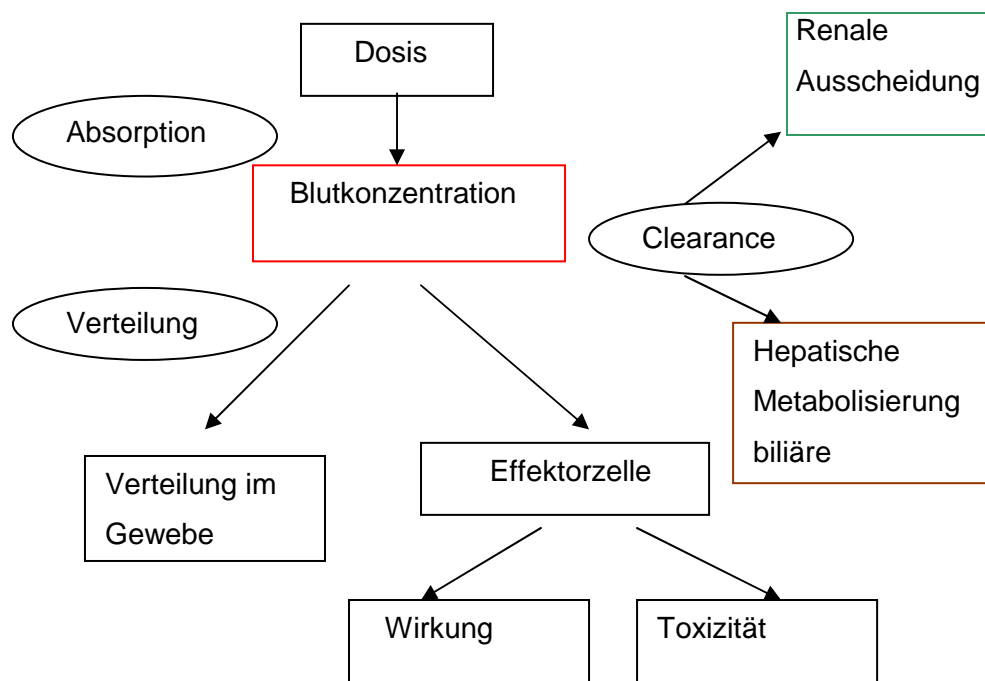


Abbildung 1.1: Pharmakokinetische und -dynamische Einflussgrößen

Bei Kindern variieren diese Einflussgrößen aufgrund der physiologischen Veränderungen, die im Zuge des kindlichen Reifungsprozesses auftreten, stärker. Die schnelle Entwicklung und die Organmaturation, mit einhergehender Veränderung der Organleistung, sowie die sich ändernde Körperzusammensetzung, machen eine sichere Pharmakotherapie bei Kindern schwieriger und unkalkulierbarer als bei Erwachsenen (Kearns 1989).

Die physiologischen Veränderungen und somit einhergehenden Änderungen der kindlichen Pharmakokinetik werden im Folgenden genauer erläutert. Besonders in den ersten Lebenswochen und -monaten sind die Unterschiede deutlich. Ab dem 6. Lebensmonat konnten Ginsberg et al. überwiegend ähnliche pharmakokinetische Funktionen wie bei Erwachsenen feststellen (Ginsberg 2002).

Die Altersgruppen für Kinder werden, ohne Bezug auf die physiologischen Veränderungen während des Reifungsprozesses, nach den ICH-Kriterien formal wie folgt definiert (Tabelle 1.1).

Tabelle 1.1: Definition der Altersgruppen nach ICH

ICH-Begriff	Deutsch	Alter
Preterm newborn neonates	Frühgeborene	Gestationsalter <36 SSW
Newborns	Neugeborenes	0-28 Tage postpartal
Infants and Toddlers	Säuglinge/Kleinkinder	28 Tage bis <24 Monate
Children	Kinder	2 bis <12 Jahre
Adolescents	Jugendliche	12 bis <18 Jahre
Adults	Erwachsene	≥18 Jahre

1.2.2 Resorption und Absorption

Bei oral verabreichten Medikamenten spielen die gastrointestinale Resorption, Verteilung und Exkretion eine entscheidende Rolle.

Die sich im Laufe der Entwicklung stetig ändernde Größe der Verdauungsorgane, die Änderung der Nahrungsgewohnheiten im jeweiligen Alter eines Kindes, Enzymaktivitäten und das Vorhandensein bestimmter Proteine für den aktiven transmembranen Transport der Medikamente bestimmen die Resorptionsleistung und so auch die Effektivität einer Pharmakotherapie.

Ein verabreichtes Medikament muss zunächst chemische, physikalische, mechanische und biologische Schranken überwinden um schließlich aufgenommen zu werden (Kearns 2003). So ist zum Beispiel der gastrale pH-Wert bei Neugeborenen höher als bei älteren Kindern ($\text{pH} > 4$), was zu einer Veränderung der Bioverfügbarkeit von Medikamenten und Nährstoffen führt. Bei bestimmten Medikamenten erfordert dies, in Abhängigkeit ihrer Säurelöslichkeit, folglich höhere bzw. niedrigere Dosierungen um therapeutische Plasmakonzentrationen des Wirkstoffs zu erreichen. Bei der Emulgierung lipophiler Medikamente sind Gallensäuren und folglich die biliäre

Exkretion entscheidend. Die Pankreas- und Leberfunktion ist bei Neugeborenen jedoch noch nicht ausgereift. Die Konzentration der meisten Leber- und Pankreasenzyme sind demnach bei Neugeborenen reduziert (siehe auch 1.2.6), was zu einer verminderten Bioverfügbarkeit bestimmter Medikamente führen kann. Postpartal nimmt die Leber- und Pankreasfunktion rasch zu (Alcorn 2003).

Die gastrointestinale Motilität verändert sich ebenso im Laufe der frühkindlichen Entwicklung: die Magendarmpassage bzw. -entleerung wird schon in der ersten Lebenswoche beschleunigt und die Darmmotilität nimmt im Laufe der ersten 2 Lebensjahre deutlich zu. Generell ist die Absorption oral verabreichter Medikamente bei Neugeborenen und Kleinkindern geringer, sodass es länger dauert bis maximale Plasmakonzentration eines Medikaments erreicht werden können (Kearns 2003). Auch die intestinalen Enzymaktivitäten sind bei Kleinkindern zum Teil altersabhängig. So zeigten sich in Schleimhautbiopsien von Neugeborenen und Kleinkindern zwar keine großen Unterschiede der Epoxid-Hydrolase und Glutathion-Peroxidase Aktivität, doch ist z.B. die Aktivität mancher Cytochrom P-450 Isoformen und der Glucoronosyltransferase in den ersten 2 Lebensmonaten verringert. Die Veränderung der intestinalen Mikroflora, die mit der Nahrungsumstellung einhergeht, beeinflusst ebenso die Verstoffwechslung der Medikamente.

Percutan verabreichte Medikamente werden bei Kleinkindern stärker resorbiert als bei Erwachsenen, was an der unterschiedlichen Beschaffenheit der frühkindlichen Haut (u.a. ein dünneres Stratum corneum), an der höheren cutanen Perfusion, dem höheren Wassergehalt und weiteren Faktoren liegen kann. Nicht zuletzt bestimmt das größere Verhältnis der Körperoberfläche zum Körpergewicht die cutane Wirkstoffresorption bei Kindern und somit auch die systemische Konzentration der Medikamente (Mathis 2009). Die Resorption kann aufgrund der verhältnismäßig großen Körperoberfläche bei Kindern, die systemische Wirkung von topischen Medikamenten bei Erwachsenen übertreffen, was zu Überdosierungen führen kann. Bei intramuskulären Injektionen entstehen z. B. durch den verminderten muskulären Blutfluss und eine geringere Muskelaktivität bei Neugeborenen, altersabhängige Unterschiede der Resorption. Dieser Faktor wird jedoch durch die größere Anzahl muskulärer Kapillaren mehr als ausgeglichen, sodass generell von einer höheren Absorption intramuskulär verabreichter Medikamente bei Neugeborenen und Kleinkindern ausgegangen wird.

1.2.3 Verteilungsvolumen

Aufgrund der altersspezifischen Veränderungen der Körperzusammensetzung ändern sich in der jeweiligen Entwicklungsstufe auch die Verteilungsräume und somit das Verteilungsvolumen, in die ein verabreichtes Medikament diffundiert. In den ersten sechs Lebensmonaten ist der Gesamtkörperwassergehalt und der extrazelluläre Wassergehalt deutlich höher als bei älteren Kindern und Erwachsenen. Daher fallen die Plasmaspiegel nach Verabreichung von hydrophilen Pharmaka nach einer gewichtsbasierten Dosisberechnung bei Neugeborenen und Kleinkindern geringer aus. Bei lipophilen Pharmaka ist dieser Unterschied geringer, da sich die Wirkstoffe hauptsächlich im Gewebe verteilen (Kearns 2003).

1.2.4 Proteinbindung

Die Verteilung von Medikamenten die einer hohen Proteinbindung unterliegen, wird von der Quantität und Bindungskapazität der Plasmaproteine (z. B. Albumin und Alpha-1-Glycoprotein) beeinflusst. Diese Bindungskapazität ist bei fetalem Albumin geringer als bei normalem Albumin (Tabelle 1.1). Bei Neugeborenen und Kleinkindern resultiert daraus eine herabgesetzte Affinität zu schwachen Säuren, jedoch eine höhere zu freien Fettsäuren und Bilirubin. Der geringere Gehalt des Alpha-1-Glycoproteins bei Neugeborenen führt zudem zu einer geringeren Bindung von basischen Komponenten (Thiessen 1972). Die Proteinbindungseigenschaften bei Neugeborenen lassen sich generell aufgrund ihrer anderen Struktur schwer quantifizieren und ihr Einfluss auf die Pharmakokinetik scheint geringer zu sein, als in der Vergangenheit angenommen (Koling 2008).

Tabelle 1.2: Veränderungen der Protein-Arzneimittel-Bindung
im Zuge der kindlichen Entwicklung

↓: erniedrigt; ↑: erhöht; ↔: gleich (Koling/ modifiziert nach Gorodischer)

Parameter	Neugeborenes	Säugling	Kind
Gesamt Protein	↓	↓	↔
Plasma Albumin	↓	↔	↔
Plasma Globulin	↓	↓	↔
α1- Glycoprotein	↓	unbekannt	↔
Unkonjugiertes Bilirubin	↑	↔	↔
Freie Fettsäuren	↑	↔	↔
Blut pH	↓	↔	↔

1.2.5 Transmembrantransport

Die Verteilung der Medikamente von extra- nach intrazellulär erfolgt größtenteils über passive Diffusion. Diese passive Diffusion von Medikamenten ist altersabhängig. Die Permeabilität wird u.a. durch den Blutfluss und die Zelldichte beeinflusst (Kearns 2003). Neben dem passiven Transport spielen Membranproteine bei der (Nicht-)Überwindung der Zellmembranen eine entscheidende Rolle (aktiver Transport). ABC Transporter Proteine (ABC = „ATP-Binding-Cassette“) transportieren unter ATP-Verbrauch Moleküle in den Extrazellularraum. So auch das P-Glycoprotein, welches in Zellmembranen (Blut-Hirn-Schranke, Hepatozyten, Tubluszellen, Enterozyten) aber auch in den Membranen von Krebszellen lokalisiert ist. Es limitiert die zelluläre Aufnahme von Hormonen, Umweltgiften, Aminosäuren und eben auch die von Medikamenten, insbesondere von Chemotherapeutika (auch die von Doxorubicin und Etoposid). Ist das P-Glycoprotein *über*exprimiert, kann daraus ein vermindertes Ansprechen der Carcinomzellen auf Zytostatika resultieren (MDR= „multi drug resistance“). Nach diesem Pathomechanismus wurde das MDR-1-Gen benannt.

Zudem gibt es eine Vielzahl von weiteren „multi drug resistant-related proteins“ (MRP). Diese können die Bioverfügbarkeit von Medikamenten ebenso beeinflussen und für Medikamenteninteraktionen verantwortlich sein; die Überexpression der MRP-Transporter kann somit für eine primäre oder sekundäre Zytostatika-Resistenz verantwortlich sein (Brosi 2004).

Für Kinder fehlt es noch an aussagekräftigen Daten bezüglich dieser MRP, doch scheint nach einer Studie von Tsai et al. die Verteilung dieser Transporter schon bei Neugeborenen derer von Erwachsenen zu ähneln. Die Quantität der P-Glycoprotein-Expression fällt bei Neugeborenen insgesamt geringer aus (Kearns 2003).

1.2.6 Enzymaktivitäten

Die entwicklungsabhängige Variabilität der Enzyme des Metabolismus führen zudem zu Unterschieden in der Biotransformation und somit wiederum zu einer variablen Wirksamkeit von Medikamenten.

Die Isoformen der Phase-1 Enzyme (z. Bsp. Cytochrome P-450 und weitere CYP-Proteine) sind im Laufe der Entwicklung nicht alle zur gleichen Zeit angelegt und aktiv. Aufgrund dieser altersabhängigen hepatischen Enzymaktivitäten, wird bei oral verabreichten Medikamenten der first-pass-Effekt der Leber beeinflusst. So unterteilten Tateshi et al. bei einer Untersuchung (Kollektiv 4 Neugeborenen, 6 Kleinkindern und 10 Kindern, älter als 2 Jahre) 9 verschiedene CYP-Proteine in drei Gruppen, die ihr entwicklungspezifisches Vorkommen kategorisieren. In der Leber Neugeborener

finden sich demnach CYP-Proteine, die nach Vollendung des 2. Lebensjahres nicht mehr nachweisbar sind (CYP3A7). Einige sind direkt nach der Geburt nachweisbar (CYP2E1, CYP2D6, CYP2C9, CYP3A und CYP2A6). Andere sind erst 1-3 Monate postnatal und schließlich bei Kindern, die älter als ein Jahr sind, in besonders hoher Konzentration vorhanden (CYP1A2 und CYP2B6 und CYP2C8) (Tateishi 1997).

Die Aktivität des Phase-2-Enzyms „Uridin Diphosphat Glucuronosyltransferase“ (UGT) ist ebenfalls altersabhängig und führt zu einem unterschiedlichen Ausmaß der Glukoronidierung von Medikamenten (Kearns 2003). Das Erwachsenen Level seiner Funktion erreicht das Enzym zwischen dem 2. und 4. Lebensjahr (Anderson, Lynn 2009). Das Enzym N-Acetyltransferase 2 (NAT 2) ist ebenfalls genetisch determiniert. Man unterscheidet entsprechend des vererbten Phänotyps in sogenannte „schnell“- bzw. - „langsam- Acetylierer“ (Asiaten 10-20%, Kaukasier 50-70% langsam Acetylierer). Bei Geburt ist dieser Unterschied noch nicht vorhanden, die langsame Acetylierung überwiegt deutlich. Innerhalb der ersten 4 Lebensjahre entwickelt sich der schnell-acetylierende Phänotyp. Die Konsequenzen die sich aus diesen Entwicklungsprozessen für die Dosierung von Medikamenten für Kinder ergeben, werden im Abschnitt „Dosierungsregime bei Kindern“ erläutert.

1.2.7 Hepato-biläre Elimination

Die hepatische Clearance ist abhängig von der Proteinbindung, der Aktivität metabolischer Enzyme (intrinsische Clearance) und vom hepatischen Blutfluss, welcher nach Vollendung des ersten Lebensjahres annähernd die Rate von Erwachsenen erreicht. Genetische Polymorphismen können zu einer erhöhten oder verminderten enzymatischen Aktivität in der Leber führen (Anderson 2009). In der Leber metabolisierte Medikamente zeigen bei Kindern, die jünger als 10 Jahre sind, teils eine höhere Plasmaclearance, sodass höhere gewichtsadaptierte Dosierungen der Medikamente verabreicht werden müssen. Warum die Clearance höher ist, ist bisher nicht hinreichend geklärt. Das prozentual größere Volumen der Leber scheint nicht der ausschlaggebende Faktor zu sein, obwohl das Verhältnis von Lebermasse zum Körpergewicht in den ersten Lebensjahren weitaus größer ist als bei Erwachsenen (Kearns 2003).

1.2.8 Renale Elimination

Die Nierenreifung ist ein Prozess der bereits in der 9. Schwangerschaftswoche beginnt und in der frühen Kindheit abgeschlossen ist. Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) nimmt im Laufe dieses Prozesses stetig zu; schon im 6. Lebensmonat entspricht sie ca. 50-70% der GFR von Erwachsenen (Anderson 2009). Sie ist bei Frühgeborenen noch deutlich geringer als bei reifen Neugeborenen (6-8 ml/min/1,73 m² KOF vs. 20-40 ml/min/1,73m² KOF) und wird im Laufe der postpartalen Entwicklung vor allem durch den renalen und intrarenalen Blutfluss beeinflusst. Auch die tubuläre Exkretion ist postpartal vermindert, sie erreicht erst innerhalb des ersten Lebensjahres (7.-12. Lebensmonat) eine Kapazität die der von Erwachsenen entspricht und hinkt demnach der GFR bei reifen Neugeborenen zunächst hinterher (Kearns 2003, Anderson 2009). Die reifespezifische Filtrationsleistung der Niere wirkt sich demnach auch auf die Plasma Clearance von primär renal eliminierten Pharmaka aus. Da diese bei Frühgeborenen niedriger ausfällt, können oder vielmehr müssen hier die Infusionsintervalle einer intravenös verabreichten Therapie größer als bei reifen Neugeborenen kalkuliert werden, bei denen die Elimination des Wirkstoffes schneller erfolgt.

Neben den altersspezifischen Nierenleistung wird diese, wie auch bei Erwachsenen, durch eine mögliche Komedikation mit anderen Medikamenten oder durch potentiell nephrotoxische Medikamente beeinflusst, was eine weitere Dosisadjustierung erfordern kann. In Abbildung 1.2 wird die funktionelle Entwicklung der Niere dargestellt.

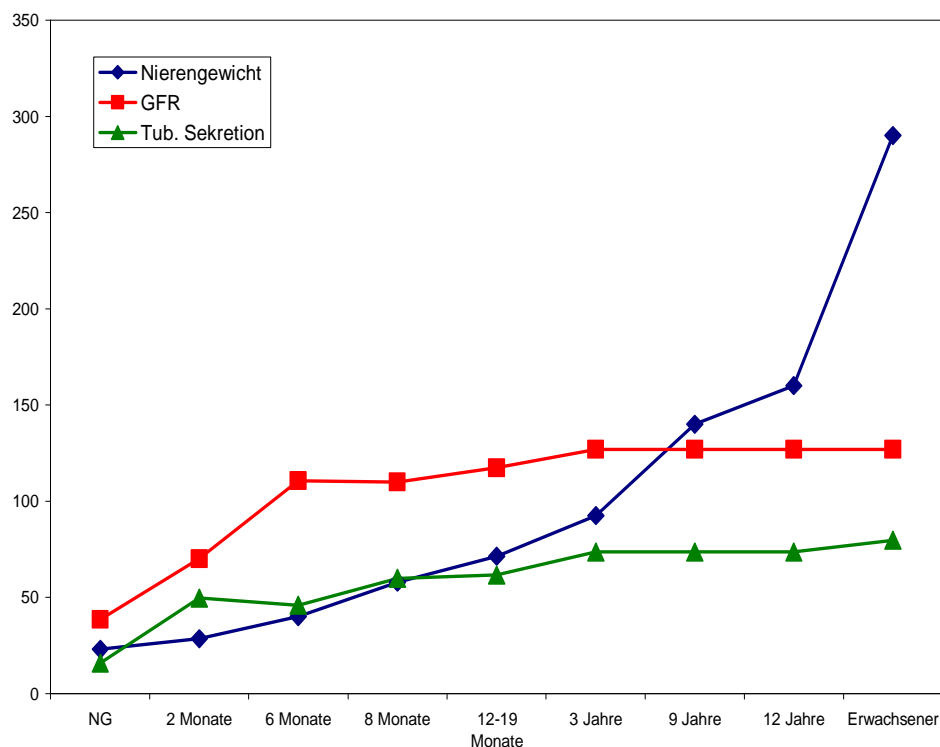


Abbildung 1.2: Die funktionelle Entwicklung der menschlichen Niere

(Koling 2008/ modifiziert nach Steward CF 1987)

Nierengewicht: [g], GFR: [ml/min/1,73m²KOF], Tubuläre Sekretion [mg/min/1,73m²KOF]): gemessen an der Halbwertszeit für p-Amino-Hippursäure (PAH)

1.2.9 Rezeptorinteraktionen

Neben der Elimination und den Enzymaktivitäten spielt auch die direkte Interaktion zwischen einem Wirkstoff und dem Rezeptor eine Rolle. Erkenntnisse zur Alterabhängigkeit und Spezifität dieser Interaktionen, ob sie genetisch determiniert werden und inwieweit dadurch die Pharmakodynamik und folglich die Wirksamkeit eines Medikaments beeinflusst wird, sind noch rar. Bei einigen Medikamenten konnte eine solche Abhängigkeit allerdings bereits nachgewiesen werden (Kearns 2003). Neben den altersabhängigen Unterschieden muss laut Kearns et al., für die Annahme einer bestimmten Pharmakodynamik und -kinetik bei Kindern zudem stets bedacht werden, dass weitere genetische Faktoren (Pharmakogenetik) einen Einfluss auf die Sicherheit und Effektivität einer Therapie haben können. Bei der Therapie des Asthma bronchiale und bei einigen Leukämieformen gibt es inzwischen Erfahrungswerte und Kenntnisse über die pharmakogenetischen Faktoren, die dann in die Planung einer sicheren effektiven Therapie mit einbezogen werden können (Kearns 2003).

1.3 Dosierungsregime bei Kindern

Die richtige Dosierung zytostatischer Substanzen ist besonders entscheidend, da sowohl Über- als auch Unterdosierungen potentiell letale Folgen haben können. In der Annahme, dass die therapeutische Wirkung umso besser ist, je höher die Dosisintensität des wirksamen Zytostatikums ist, werden maximal tolerable Dosierungen (MDT) für ein Zytostatikum ermittelt (durch Dosistitration in Phase I Studien). Dieses Modell lässt sich allerdings nicht auf alle Situationen anwenden, so z.B. bei durch Toxizitäten auftretende Veränderungen des Metabolismus oder bei Hochdosistherapien (Kager 2006). Die Begründung liegt in der hohen interindividuellen Variabilität der Wirkstoffverteilung im Körper. Durch diese Einflussgröße „kommt es zu einer Verzerrung der Interpretation der ermittelten MTD und der in Phase II Studien getesteten Dosis“ (Crom 1994).

Besonders bei Kindern lassen sich Dosisempfehlungen aufgrund der beschriebenen vielfältigen entwicklungspezifischen Veränderungen, wie die der Körperzusammensetzung und der altersabhängigen Organreife und –funktion, nach wie vor nicht verallgemeinern. Sie lassen sich nicht allein am Alter oder Gewicht des Kindes festmachen, da Eliminationsprozesse bei Kindern, wie zuvor beschrieben, nicht linear zu Gewichtsentwicklung oder zum Alter verlaufen. Erst ab einem Alter von ca. 8 Jahren ähneln die Körperzusammensetzung und die Organleistung der von Erwachsenen für die schließlich die meisten Dosisempfehlungen berechnet werden (Kearns 2003).

In der Onkologie hat sich seit über 50 Jahren eine Dosierung nach der Körperoberfläche (mg/m² KOF) durchgesetzt, da diese besser mit den physiologischen Bedingungen (renale Clearance, Blutvolumen) korreliert (Koling 2008).

Die KOF kann nach der Formel von Mosteller wie folgt berechnet werden:

Formel 1.1: Berechnung der KOF

$$KOF[m^2] = \sqrt{\frac{\text{Gewicht}[kg] \cdot \text{Größe}[cm]}{3600}}$$

Zu beachten ist, dass die KOF bei kleinen Kindern im Vergleich zum Körpergewicht (KG) größer ausfällt als bei älteren, schweren Kindern und Erwachsenen. Dies führt dazu, dass bei Kleinkindern eine nach m² KOF berechnete Dosis höher als eine gewichtsbasierte Dosisberechnung ausfällt. Mit einer Dosisberechnung nach m² KOF

können folglich bei Neugeborenen und Kleinkindern eher Überdosierung und toxische Effekte auftreten. Bei Neugeborenen sollte demnach eine körperrgewichtsbasierte Dosierung favorisiert werden. Haben Kinder das erste Lebensjahr vollendet, ist die Berechnung der Dosis nach m^2 KOF zu bevorzugen.

In Abbildung 1.3. wird dieses Verhältnis von der KOF zum KG graphisch dargestellt (Koling 2008).

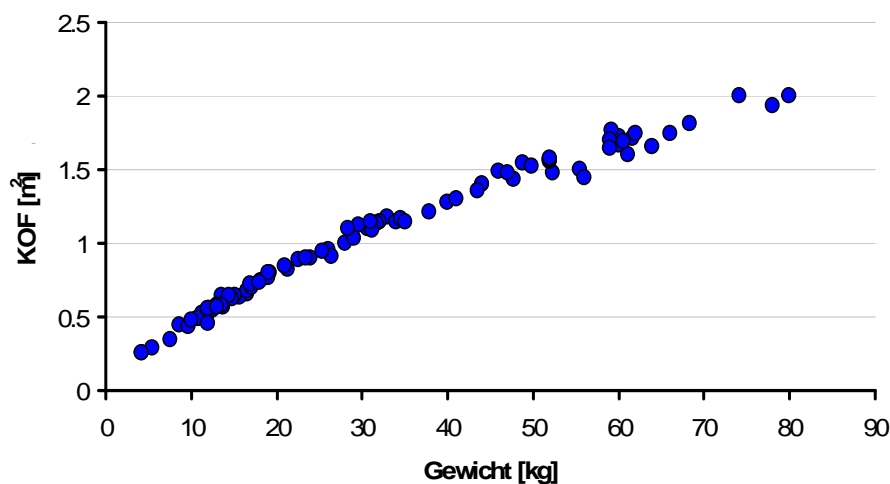


Abbildung 1.3: Verhältnis von Körperoberfläche und Gewicht
Werte von 92 Kindern

Aus den beschriebenen variierenden Enzymaktivitäten und Organleistungen innerhalb des kindlichen Reifeprozesses (siehe Abschnitt Enzymaktivitäten) ergeben sich ferner Konsequenzen für Dosierungsempfehlungen von Medikamenten bei Kindern, die auch in einer aktuell von Anderson und Lynn veröffentlichten Publikation, zur Optimierung von pädiatrischen Dosierungen, herausgestellt werden (Anderson 2009).

Die Pharmakokinetik und die Dosisempfehlung eines Medikaments sind stets von den Substanzeigenschaften abhängig. Bei Medikamenten die einer hohen Exkretionsrate unterliegen (z.B. Alfentanil, Lidocain, Midazolam, Morphin) besteht bei nicht oraler Verabreichung die Notwendigkeit zu einer Dosisreduktion nur, wenn die Proteinbindung der Medikamente als sehr hoch anzusehen ist oder die Kinder unter einem Jahr alt sind. Die Begründung liegt in der noch nicht ausgereiften Proteinbindungspotenz der sehr jungen Kinder. Aus dieser resultiert eine höhere, tatsächlich wirksame, ungebundene Medikamentenkonzentration („area under the

curve“= AUC). Folglich kommt es zu einer Intensivierung der pharmakologischen Effekte und der potentiellen Toxizitäten.

2 Drugmonitoring (DM), Therapeutisches Drugmonitoring (TDM)

Chancen zur Optimierung der pädiatrischen Pharmakotherapie?

Im Rahmen einer Pharmakotherapie kann, ergänzend zu der klinischen Beurteilung der Therapieverträglichkeit und –effektivität durch den behandelnden Arzt ein DM, also die Messung und Interpretation der tatsächlich erzielten Wirkstoffkonzentration eines Medikaments (im Plasma, Urin oder Liquor) durchgeführt werden.

Das DM kann Aufschluss darüber geben, welche Wirkstoffkonzentration durch die Verabreichung eines Medikaments erzielt wurde (real erzielte Dosisintensität) und ob diese unter Berücksichtigung der individuellen Bedingungen und Behandlungsziele eines Patienten angemessen ist (Erfassung der individuellen Schwankungsbreite einer Wirkstoffexposition). Es können so pharmakokinetische Daten erfasst werden, die weitere Erkenntnisse über die pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenschaften der Medikamente, sowie über die Auswirkungen der Pharmakotherapie auf den Organismus liefern (DM in pharmakokinetischen Studien). Das DM wird besonders bei Risikopatienten (z.B. bei immunsupprimierten Patienten oder bei Patienten mit eingeschränkter Leber- oder Nierenfunktion) angewendet.

Vielfach wird ein DM im Rahmen von populations-pharmakokinetischen Studien auch für die „Risikogruppe Kinder“ gefordert, um pädiatrischen Patienten, deren Pharmakokinetik einer hohen Variabilität unterliegt (s.o.), eine sicherere Arzneimitteltherapie zu ermöglichen (Cole 2006, Panetta 2003, Leeder 1997). Ob das Ansprechen auf eine Therapie oder die Therapiesicherheit durch ein DM tatsächlich verbessert wird, ist jedoch bisher nicht eindeutig belegt (Groninger 2004).

Im NB 97 Protokoll wurde das DM neu eingeführt und als ein „wichtiges Studienziel“ bezeichnet. Es „soll dazu dienen, die individuelle Schwankungsbreite (der durch die Zytostatikatherapie erzielten Wirkstoffkonzentration) zu erfassen und eventuell eine Korrelation zum Tumoransprechen zu entdecken“ (Berthold 1998).

Inwieweit das DM tatsächlich umgesetzt und dadurch die Schwankungsbreiten erfasst wurden, oder welche Konsequenzen sich folglich ergeben könnten, soll mit dieser retrospektiven Datenauswertung des NB 97 DM gezeigt werden.

Die Begriffe Drugmonitoring (DM) und therapeutisches Drugmonitoring (TDM) werden in der Literatur oftmals synonym verwendet, unterscheiden sich jedoch im Hinblick auf ihre Zielsetzung. Ein TDM entspricht in der praktischen Umsetzung dem DM, doch lässt es sich insofern davon abgrenzen, als dass die individuelle Dosiseinstellung im Mittelpunkt steht. Das TDM wird vielfach bei der Therapie mit Medikamenten geringer therapeutischer Breite (z.B. Herzglykosiden, Antiepileptika, Psychopharmaka, HIV-Therapie) eingesetzt um überprüfen zu können, wann der therapeutische Bereich eines Medikaments erreicht, unter- oder überschritten wird. In der Zytostatikatherapie wird es z.B. vielfach routinemäßig während einer Methotrexattherapie eingesetzt. Auch die Compliance des Patienten, z.B. die eigenverantwortlichen Tabletteneinnahme, kann mit Hilfe eines TDM durch den behandelnden Arzt beurteilt werden (Bode-Böger 2003).

3 Das Neuroblastom: Inzidenz, Pathogenese, Diagnostik

Das Neuroblastom ist ein maligner embryonaler Tumor, der aus sympathischen Vorläuferzellen des Nebennierenmarks oder des Grenzstranges entsteht (Ladenstein 2006). Als häufigster extrakranieller, solider Tumor des Kindesalters macht das Neuroblastom 8% (Imbach 2006) bis 10% (Ladenstein 2006) aller kindlichen Krebserkrankungen aus. Im deutschen Kinderkrebsregister (Stand 09/2008) wird der Anteil an allen verzeichneten Malignomen mit 7,1% angegeben. Die kumulative Inzidenz beträgt bezogen auf 100.000 Kinder unter 15 Jahre 17,6, wobei das Inzidenzverhältnis von Jungen zu Mädchen 1,1:1 beträgt.

Aufgrund der Entstehung des Neuroblastoms aus embryonalen Vorläuferzellen sind vor allem Säuglinge und Kleinkinder betroffen. Das Durchschnittsalter bei Diagnosestellung beträgt 2,5 Jahre, wobei 40% der Neuroblastome bis zum Ende des ersten Lebensjahres und 90% bis zum Alter von 6 Jahren diagnostiziert werden. Eine geringe familiäre Häufung konnte festgestellt werden (Ladenstein 2006). Etwa die Hälfte aller Neuroblastome sind bei Diagnosestellung bereits metastasiert. Untersuchungen konnten zeigen, dass das Neuroblastom hingegen gerade im Säuglingsalter einer spontanen Tumorregression unterliegen kann. Erste Hinweise dafür lieferten schon 1966 Everson und Cole, die bei der Beobachtung von 176 Patienten mit unterschiedlichen Tumorerkrankungen, die einer spontanen Regression unterlagen, 30 Patienten (17%) mit Neuroblastom fanden (Evans 2005). Auch bei Autopsien von Säuglingen die an anderen Krankheiten verstorben waren stieß man auf weitaus mehr Nester neuroblastischer Vorläuferzellen und eine somit vierzig mal

höhere Inzidenz als angenommen (Ladenstein 2006), was die Hypothese des „Neuroblastoms in situ“ und einer damit einhergehenden spontanen Tumorregression von Geburt an unterstützt (Evans 2005).

Die Ätiologie des Neuroblastoms ist bis heute nicht hinreichend geklärt. Nicht zuletzt die ausgeprägte Heterogenität des klinischen Erscheinungsbildes und der Morphologie des Tumors erschwert es, ein spezifisches genetisches Ereignis oder einen eindeutig auslösenden Faktor festzumachen, der ursächlich für die Entstehung des Tumors sein könnte (Ladenstein 2006). Perinatale Infektionen, Alkohol- und Drogenmissbrauch in der Schwangerschaft sowie die Einflüsse von Umweltfaktoren werden als Ursache kontrovers diskutiert (Imbach 2006). Chromosomale Veränderungen der Tumorzellen und einige karyotypische Auffälligkeiten werden bei einer Vielzahl der Neuroblastompatienten gefunden und dienen heute als entscheidender Marker in der Dignitätsbeurteilung. Neuroblastische Tumoren lassen sich in eine Gruppe mit nahe-triploidem (55%) und eine mit diploidem Chromosomensatz (45%) einteilen, wobei den Tumoren mit diploidem Satz eine besondere Aggressivität zugeschrieben wird (Ladenstein 2006). Regressions- und Maturationsprozesse zeigen sich hingegen häufiger bei Tumoren mit nahe-triploidem Chromosomensatz. Bei dieser Tumorgruppe liegen fast ausschließlich numerische Aberrationen vor. Heute sieht man in der Amplifikation des Myc_N - Onkogens, welches die Tumorzellploidie entscheidend beeinflussen kann, einen wichtigen Dignitäts-Faktor. So können sekundäre Veränderungen wie diese Myc_N -Amplifikation und andere Aberrationen, z.B. die 1p36.3-Aberration, zu einer malignen Transformation auch der nur numerisch veränderten triploiden Tumorzellen führen und ein aggressives Verhalten des Tumors begünstigen. Die diploiden Tumorzellen sind oftmals auch ohne diese Myc_N -Amplifikation aggressiv. Der dieses Verhalten begünstigende Faktor oder die dafür verantwortliche genetische Determinante wurde, trotz der Auffindung weiterer chromosomaler Aberrationen, noch nicht eindeutig beschrieben.

Die Zellpopulationen eines neuroblastischen Tumors können in variabler Ausprägung der einen oder anderen genetischen Form und mit oder ohne Myc_N -Amplifikation nebeneinander vorkommen. Es ist davon auszugehen, dass die Myc_N amplifizierten Zellen aufgrund ihres Proliferationsvorteils die anderen Zellen „überwachsen“ (Ladenstein 2006). Der Tumor kann sich also nicht nur histologisch, sondern auch genetisch äußerst inhomogen präsentieren.

Die erwähnte spontane Tumorregression findet sich am häufigsten im Tumorstadium 4S (D'Angio 1971), also zumeist bei Säuglingen, wird aber auch bei bereits metastasierten Tumoren beobachtet.

Die Tumormaturation hingegen wird nicht vor dem zweiten Lebensjahr beobachtet. Vollständig ausgereifte Tumore, benigne Ganglioneurome, die Zellen mit di- und triploidem Chromosomensatz aufweisen können, werden meist erst nach dem vierten Lebensjahr oder im Erwachsenenalter gefunden (Ambros 1996) und oft als Zufallsbefund bei einem Röntgen-Thorax entdeckt. Ambros u. Ambros vertreten dazu heute das Modell, dass die Neuroblastomzellen in diesen reifen Tumoren im Laufe ihres Differenzierungsprozesses selbst chemotaktische, mitogene, differenzierungsinduzierende Faktoren exprimieren, die Schwann-Zellen aus dem umgebenden Gewebe anlocken. Demnach sind die diploiden Schwann-Zellen in den Ganglioneuromen nicht selber Tumorzellen. Sie wirken anscheinend auch antiproliferativ und differenzierungsfördernd (Ambros 1996).

Das Neuroblastom wird nach der internationalen Neuroblastomklassifikation („International Neuroblastoma Pathology Classification“= INCP) klassifiziert und die Stadien laut INSS (International Neuroblastoma Staging System) definiert (Brodeur 1993). Die Einteilung umfasst histologische, chirurgische Kriterien sowie bildgebende- und klinische Untersuchungsergebnisse.

Neben Laboruntersuchungen, in deren Mittelpunkt der Nachweis erhöhter Katecholaminmetabolite wie Homovanillinmandelsäure, Vanillinmandelsäure und Dopamin im Serum und Urin stehen, werden bildgebende Verfahren, Knochenmarksdiagnostik und Tumorbiopsie zur Diagnostik des Neuroblastoms herangezogen.

4 Das Neuroblastom Studienprotokoll NB 97

Im Rahmen einer „multizentrischen Therapieoptimierungsstudie für die Behandlung von Säuglingen, Kindern und Jugendlichen mit Neuroblastom“ der Gesellschaft für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie begann 1998 die Umsetzung des neuen Neuroblastomprotokolls NB 97 (Berthold 1998).

Das in Abschnitt 2 beschriebene DM wurde optional als qualitätssichernde Maßnahme im NB 97 Protokoll angeboten und stellt eine Neuerung gegenüber den vorherigen Neuroblastomprotokollen dar.

Eines der Ziele des neuen Chemotherapieprotokolls war, die chemotherapiebedingte Letalität und Zahl febriler Episoden gegenüber den vorherigen Protokollen NB 90 und NB 95 zu reduzieren. Dies sollte unter anderem durch Dosisreduktionen erreicht werden.

Waren als Bestandteil des N1 Chemotherapie-Blocks im NB 90 Protokoll noch 125 mg/m² Etoposid (VP 16) verabreicht worden, so wurde die Etoposiddosis im Chemotherapieblock N5 des neuen NB 97 Protokolls auf 100 mg/m² reduziert. Die Dosierungen für Kinder unter einem Jahr (körpergewichtsbasierte Dosierungen: mg/kg) wurden nicht verändert. Zudem wurde die Doxorubicininfusionszeit von zuvor 48h (Dauerinfusion) auf 1h reduziert.

Inwieweit die Neuerungen des NB 97 Protokolls tatsächlich umgesetzt wurden, ist eine Frage, die in dieser Arbeit ebenfalls beantwortet werden soll.

4.1 Therapieplan NB 97 Protokoll

Der Therapieplan des NB 97 Protokolls (endgültige Fassung, Stand 30.09.1998, nach Berthold 1998) sieht eine risikoadaptierte Behandlung vor. Das individuelle Risiko der Patienten machen die Faktoren Myc_N-Amplifikation, Alter, Stadium, die ggf. bedrohliche klinische Symptomatik und das Volumen des Tumors aus.

Die Patienten werden in eine Standardrisiko- und Hochrisikogruppe eingeteilt, zudem in eine Beobachtungsgruppe, bei der die spontane Tumorregression nur abwartend beobachtet wird. Eine Behandlung erfolgt laut Protokoll wenn eine Myc_N-Amplifikation, eine bedrohliche Symptomatik oder nach 6-12 Monaten eine unvollständige Tumorregression festgestellt wird.

Der Schwerpunkt der Therapieplanerläuterung wird im Folgenden auf die Chemotherapieelemente des Protokolls gelegt:

Standardrisikopatienten werden postoperativ (Biopsie des Tumors) innerhalb von 12 Wochen, je 2 mal den Chemotherapieblöcken N5 und N6 (s.u.) und ggf. einem zweiten chirurgischen Eingriff zur vollständigen Primärtumorentfernung unterzogen.

Da die Dosis des N5 und N6 Blockes für Kinder die älter als 1 Jahr sind im Vergleich zum N1 und N2 Block des NB 90 Protokolls reduziert wurde (Etoposid 25 mg/m² KOF weniger, s.u. im Therapieplan), wird bei Standardrisikotherapie von einer G-CSF-Unterstützung abgesehen (G-CSF mit Filgrastim, Lenograstim zur Granulozytenproliferation und deren Funktionssteigerung).

Hochrisikopatienten erhalten, neben Operationen und Zweitoperationen, mit einem zeitlichen Abstand von 3-3,5 Wochen je 3 N5 und N6 Blöcke, lokale Bestrahlung des Primärtumors und zur Konsolidierung randomisiert entweder Erhaltungstherapie oder eine Megatherapie mit Stammzelltransplantation und Verabreichung von G-CSF. Die Gesamtdauer der Hochrisikotherapie beläuft sich auf ca. 7 Monate.

Säuglinge mit den Tumorstadien 4S, 2, 3 und bedrohlichen Symptomen oder Stadium 4, die jünger als 6 Monate sind, bekommen anstatt der ersten N5 und N6 Blöcke, 2 mal den N4 Block, der Doxorubicin, Vincristin und Cyclophosphamid beinhaltet, verabreicht.

Im Anschluss bekommen die Patienten der Hochrisikotherapien in 2 monatigen Abständen insgesamt 6 Zyklen einer Immuntherapie mit einem monoklonalen Anti-GD2-Antikörper (ch 14.18). Es handelt sich um Mensch-Maus-Chimäre mit menschlichem IgG1-Fc-Teil und Spezifität für das Gangliosid G2 auf menschlichen Neuroblastomzellen. Ein Zyklus besteht aus stationär gegebenen Antikörperinfusionen über je 8h an 5 aufeinander folgenden Tagen (Dosis 20 mg/m² x d). Zur Kupierung der Schmerzen durch Bindung der Antikörper an periphere Schmerzrezeptoren ist zudem die Morphingabe vorgeschrieben (Berthold 1998).

Die Therapieschemata sind in Abbildung 2.1.-2.5. dargestellt. Die Abbildungen stammen aus dem Studienprotokoll/ endgültige Fassung vom 30.09.1998 (Berthold 1998).

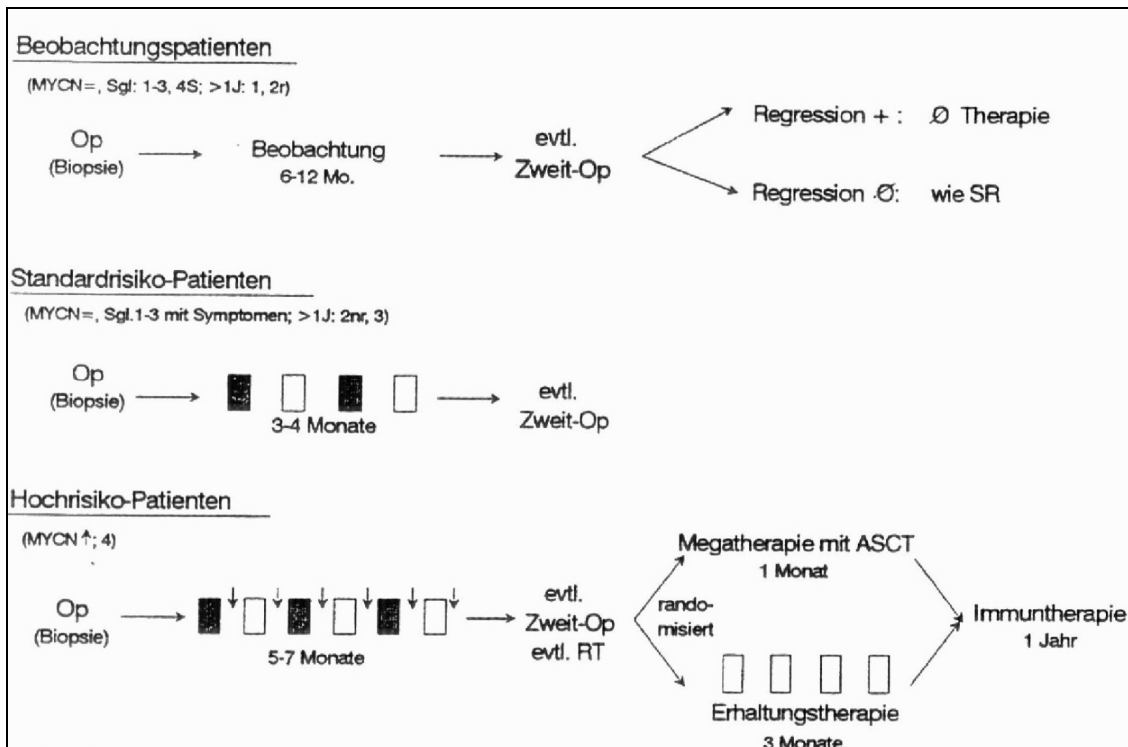


Abbildung 2.1: Therapieplan NB 97 Protokoll

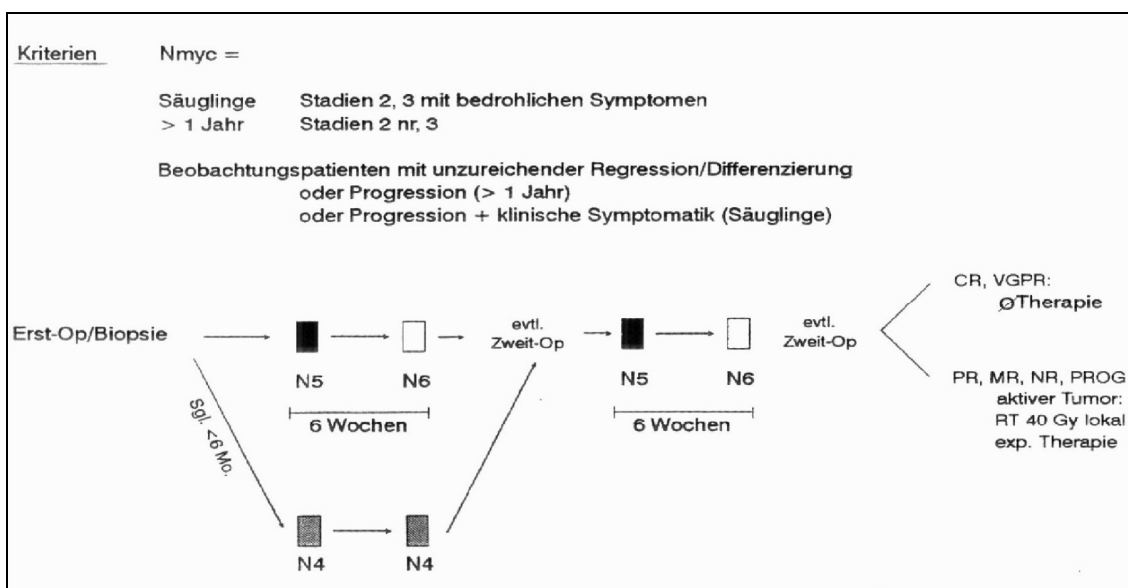
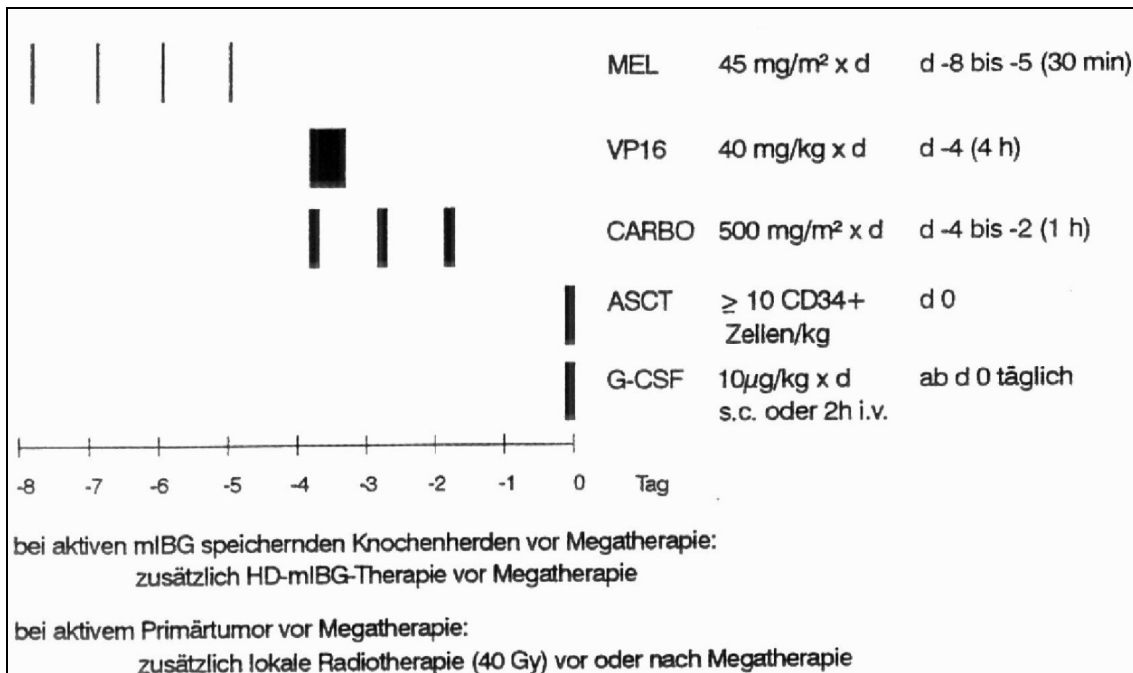
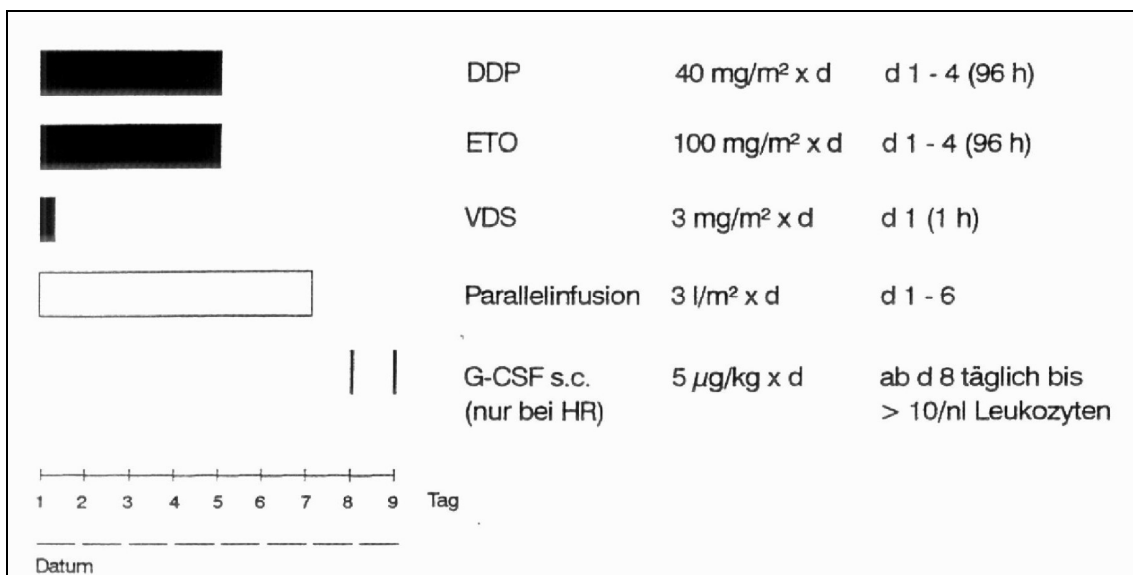


Abbildung 2.2: Therapieplan Standardrisiko Therapie NB 97 Protokoll



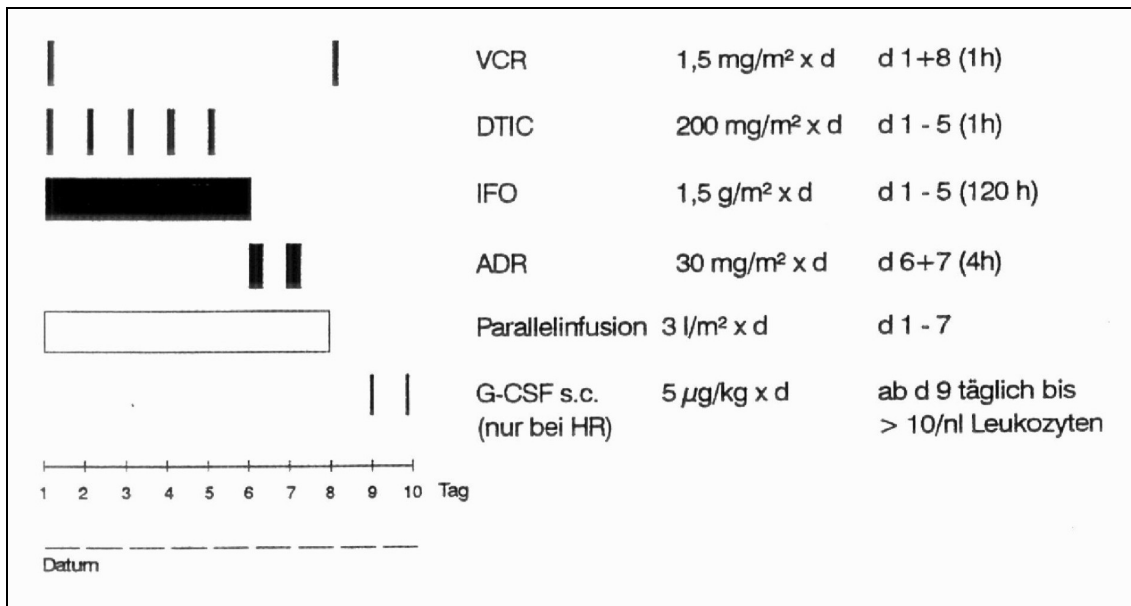
MEL=Melphalan, VP16= Etoposid, CARBO= Carboplatin
G-CSF=Filgrastim, Lenograstim (Granulozytenproliferation und Funktionssteigerung)

Abbildung 2.3: Therapieplan Hochrisiko Therapie NB 97 Protokoll



DDP= Cisplatin, ETO= Etoposid, VDS= Vindesin
Dosierung für Säuglinge: Cisplatin 1,3 mg/kg/ Tag; Etoposid 4,2 mg/ kg/ Tag

Abbildung 2.4: Chemotherapieblock N5 NB 97 Protokoll



VCR= Vincristin, DTIC= Dacarbacin, IFO= Ifosfamid, ADR= Adriamycin/ Doxorubicin
 Dosierung für Säuglinge: Adriamycin/ Doxorubicin: 1 mg/ kg/ Tag

Abbildung 2.5: Chemotherapieblock N6 NB 97 Protokoll

5 Chemotherapeutika des Neuroblastom Protokolls NB 97

5.1.1 Carboplatin

Carboplatin gehört als Platinkomplex der Substanzgruppe der Alkylantien an. Durch kovalente Bindung von Aquokomplexen an DNA und Proteine kommt es zur Vernetzung der DNA (inter- und intrastrand cross-links). Dadurch wird deren Matrizenfunktion gestört (Fachinfo Carboplatin).

Die Kinetik von Carboplatin kann nach einem offenen 2-Kompartiment-Modell erster Ordnung beschrieben werden. Nach i.v. Gabe sind die Spitze der Plasmakonzentration sowie die Fläche unter der Konzentrationszeitkurve (AUC) linear abhängig von der verabreichten Carboplatindosis. Die terminale Halbwertszeit wird mit 5, 8 d angegeben. Die interindividuelle Variabilität der Carboplatinpharmakokinetik wird als hoch, doch die intraindividuelle als eher gering angesehen (Groninger 2004). Nach wiederholter Carboplatin-gabe an bis zu 5 aufeinander folgenden Tagen kommt es zu keiner Kumulation des Carboplatins im Plasma. Die pharmakokinetischen Parameter bleiben während dieser Zeit weitgehend konstant (Fachinfo Carboplatin).

Carboplatin reichert sich bis zum Zehnfachen in Leber, Nieren, Haut und Tumorgewebe an. Die Plasmaproteinbindung beträgt initial 30%, nach 24h 90%. Die Elimination erfolgt überwiegend in unveränderter Form durch glomeruläre Filtration innerhalb der ersten 24h sind dies 77% der applizierten Dosis - die Elimination ist demnach von der glomerulären Filtrationsrate abhängig. Bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion sollte nach der Fachinfo für Carboplatin die Carboplatindosis in Abhängigkeit der aktuellen Clearance und unter Berücksichtigung der aktuellen Thrombozytenanzahl reduziert werden.

Die Carboplatin-clearance korreliert bei Kindern mit der Größe der Körperoberfläche (Riccardi 1994). Die Carboplatinwirkung ist jedoch von der Fläche des filtrierbaren Platins unter der Konzentrationszeitkurve (AUC) abhängig (Peng 1995).

Huw und Boddy zeigten, dass die Wirkstoffexposition besser mit der Carboplatin-Ziel-AUC übereinstimmt, wenn die Carboplatindosis auf Grundlage der renalen Funktion eines Kindes berechnet wird und nicht auf Grundlage der Körperoberfläche (Huw 2000).

Daher hat sich bei der Carboplatintherapie das Konzept der Dosisberechnung auf Basis der GFR oder Kreatininclearance durchgesetzt (Rubie 2003).

Die Berechnung erfolgt, basierend auf der individuellen GFR des Patienten nach der Formel von Calvert. Die GFR wird in dieser Methode mittels der Clearance von [⁵¹Cr]-EDTA ermittelt, die in großem Maße der von Carboplatin entspricht.

Formel 1.2: Carboplatindosisberechnung nach AUC-Zielwert

$$\text{Carboplatin Dosis}_{\text{gesamt}} \text{ mg} = (\text{angestrebter AUC-Wert}) \times (\text{GFR} + 25)$$

Alternativ kann durch ein DM, welches nach einem ersten Zyklus Carboplatin, eine individuelle Dosisadjustierung ermöglicht, die Ziel-AUC verfolgt werden. Rubie et al. halten diese Kontrollmöglichkeit der Ziel-AUC für effizienter als die Dosierung nach Calverts Formel. Sie fordern daher bei einer Hochdosis Carboplatintherapie ein DM durchzuführen (Rubie 2003).

Da die renale Elimination des Carboplatins eine so entscheidende Rolle spielt, kann die Pharmakokinetik von Carboplatin durch Medikamente, die die Nierenfunktion beeinträchtigen, verändert werden. So vermindert z.B. eine zuvor erfolgte Cisplatintherapie die Carboplatin-clearance (Madden 1992, Reed 2001) was unabhängig von der erzielten Carboplatin-AUC auch zu einer Erhöhung der potentiellen Ototoxizität führen kann (Rubie 2003).

Als Nebenwirkung steht zudem die Myelosuppression im Vordergrund. Die Thrombozytopenie und Neutropenie (dosislimitierende Nebenwirkung) dauerte mit steigender Carboplatinexposition länger an (Marina 1993). Die Nephrotoxizität ist bei Carboplatin weitaus geringer als beim Cisplatin (Doz 1994, Reed 2001). Durch eine verminderte Reabsorption kann als weitere Nebenwirkung ein Magnesiummangel auftreten (English 1999).

5.1.2 Carboplatintherapie im NB 97 Protokoll

Carboplatin wird während der Hochdosistherapie (Megatherapie) des NB 97 Protokolls verabreicht. Die Ziel-AUC die in die Dosisberechnung für Hochdosistherapien einfließt, beträgt ca. 20-30 mg/ml/min (Rubie 2003) - im NB 97 Protokoll fand sich keine exakte Angabe zur beabsichtigten Ziel-AUC. Es werden 500 mg/m² an drei aufeinander folgenden Tagen als 1h Infusion verabreicht.

Während der Therapie sollen Blutbild und Kreatininclearance kontrolliert werden, sowie Audiogramme durchgeführt werden um den Grad der möglicherweise vorliegenden Hörschäden zu ermitteln. Vor der Therapie müssen die Leukozyten >2,0/nl und die Thrombozyten >50/nl betragen, die Kreatininclearance darf nicht dauerhaft <70 ml/min liegen.

5.2.1 Cisplatin

Cisplatin zählt ebenfalls zu den alkylierenden Substanzen. Es zeichnet sich durch eine sehr hohe Plasmaproteinbindung (>90% in 4h) aus und reichert sich vor allem in den parenchymatösen Organen an. Aufgrund der hohen Proteinbindung sind vor allem die freien gemessenen Cisplatinplasmakonzentrationen entscheidend. Es wird eine dreiphasische Elimination der Substanz aus dem Blutkreislauf beschrieben. Die erste Phase betrifft das nicht gebundene Cisplatin und dauert ca. 20–30 min, gefolgt von der zweiten Eliminationsphase von ebenfalls nicht plasmaproteingebundenem Cisplatin für die Dauer von ca. 48–67 min. Beide Phasen sind eng an eine normale Nierenfunktion gebunden, da etwa 90% des Cisplatins sowohl durch glomeruläre Filtration als auch

tubuläre Sekretion ausgeschieden werden. Die dritte Phase der Elimination betrifft die Entfernung des an Plasmaproteine gebundenen Cisplatins und erstreckt sich über ca. 24h (Fachinfo Cisplatin). Den drei-phasischen Eliminationsprozess konnte Crom 1981 auch für Kinder nachweisen (Crom 1981). Die Clearance des freien und gebundenen Cisplatins korreliert bei Kindern mit dem Alter. Sie nimmt mit zunehmendem Alter zu (Murakami 1990).

Die Nephrotoxizität ist die führende Nebenwirkung des Cisplatins. Sie ist dosisabhängig und kann sich durch eine Hyperurikämie oder Hypalbuminämie verschärfen. Es resultiert eine reversible Reduktion der GFR nach Verabreichung des Cisplatins - so wird auch die Elimination anderer renal eliminiertes, parallel verabreichter Medikamente beeinflusst. Zudem kann eine bleibende Tubulusfunktionseinschränkung resultieren, die eine Hypomagnesiämie zufolge hat (Brock 1992). Zu den potentiellen Effekten auf die renale Funktion durch die potentielle Nephrotoxizität gibt es jedoch keine einheitliche Meinung. So berichten einige Autoren, dass nach einem ersten erfolgten Cisplatintherapiezyklus, der potentiell zu einer Einschränkung der Nierenfunktion führt, in den folgenden Zyklen tatsächlich eine erhöhte freie Cisplatinkonzentration nachgewiesen werden kann. Andererseits belegen andere Studien, dass die Cisplatin-clearance nicht durch vorangegangene Therapiezyklen beeinflusst wurde (Groninger 2004).

Die Ototoxizität (durch Zerstörung der Haarzellen des Innenohrs) ist eine der häufigsten Nebenwirkung bei der Therapie mit Platinverbindungen und tritt besonders bei Kumulativdosen von $>400 \text{ mg/m}^2$ auf (Kager 2006). Diese Nebenwirkung ist bei Cisplatin noch häufiger als bei Carboplatin. In einer Studie von Bertolini et al. zeigten 37% der Kinder nach einer Cisplatinmonotherapie eine deutliche Verminderung des Hörvermögens. Eine Carboplatinmonotherapie hingegen, wurde in einer Studie von Bertolini et al. als nicht ototoxisch eingestuft. Die Kombination von Cisplatin und Carboplatin führte jedoch zu einer Reduktion des Hörvermögens bei 43% der Kinder. Im follow up, mehr als 2 Jahre nach abgeschlossener Cisplatintherapie, nahm das Hörvermögen im Niedrigfrequenzspektrum sogar noch weiter ab (Bertolini 2004). Aufgrund der starken emetogenen Wirkung von Platinverbindungen ist während des Chemotherapiezyklus zudem eine intensive antiemetische Therapie notwendig.

5.2.2 Cisplatintherapie im NB 97 Protokoll

Cisplatin kommt im N5 Block als 96h Dauerinfusion mit einer Dosierung von $40 \text{ mg/m}^2/\text{Tag}$ zum Einsatz (für Kinder unter 1 Jahr: $1,3 \text{ mg/kg/Tag}$). Das Risiko der

Nephrotoxizität muss mit ausreichender Hydrierung und Forcierung der Diurese minimiert werden (parallel Mannit-Dauerinfusion 15%/kg x 24h). Bei einer dauerhaften Reduktion der Kreatininclearance <70 ml/min darf Cisplatin nicht verabreicht werden, bzw. soll die Therapie bis zu einer Normalisierung der Nierenfunktion ausgesetzt werden (wenn Serumkreatinin <130 $\mu\text{mol/l}$). Um der Hypomagnesiämie vorzubeugen, wird Magnesium zunächst intravenös und im Verlauf oral substituiert. Laborparameter wie die Kreatininclearance, Harnstoff, Calcium, Magnesium und die Flüssigkeitsbilanzierung sind während der Therapie zu verfolgen. Zudem müssen Audiogramme durchgeführt (Überprüfung der ototoxischen Nebenwirkungen) und der neurologische Status erhoben werden.

5.3.1 Etoposid

Etoposid (VP-16) ist ein Podophyllotoxinderivat, dessen entscheidende Wirkung über die Blockierung der Colchicin Bindungsstelle des Tubulins, in der Komplexbildung mit Topoisomerase II und DNA liegt. Dies führt, besonders in der späten G2 und S-Phase des Zellzyklus, zu DNA-Strangbrüchen (Nguyen 1998). Zudem konnten Teicher et al. 1985 nachweisen, dass die Zytotoxizität in gut oxigenierten Zellen erhöht war, was zu der These einer zytotoxischen, freien Radikalbildung durch Etoposid führte (Teicher 1985).

Die Etoposidkinetik folgte einer Biexponentialkurve und entspricht einem 2-Kompartimentmodell. Die Plasmaproteinbindung beträgt 94-97%, die Halbwertszeit im Plasma 8h. Etoposid wird zu ca. 40-45% unverändert renal ausgeschieden (Fachinfo Etoposid), die Etoposidclearance (2,3-18 ml/min/m²) korreliert eng mit der Kreatininclearance (D'Incalci 1982). Bei Patienten mit Niereninsuffizienz (Kreatininclearance <50 ml/min) wird eine Dosisreduktion des Etoposids empfohlen. Bei einer Clearance von 15-50 ml/min wird demnach eine Dosisreduktion auf 75% der Standarddosis vorgenommen, ab einer Clearance <15 ml/min ist Etoposid kontraindiziert (Fachinfo Etoposid). Etoposid wird über CYP3A4 in der Leber abgebaut. Etoposid kommt aufgrund seiner synergistischen Effekte mit Platinverbindungen bei vielen Kombinations-Zytostatikatherapien zum Einsatz. Dabei konnte eine große interindividuelle Variabilität (bis 30%) der Etoposidpharmakokinetik festgestellt werden (Pommier 2001, Groninger 2004).

Durch eine vorherige Therapie mit Platinverbindungen (Cisplatin oder Carboplatin) wird die Etoposidclearance reduziert, woraus ein signifikanter Anstieg der Etoposidexposition resultiert (Nguyen 1998). Eine Therapie mit CYP3A4-Inhibitoren,

wie Cyclosporin, führt ebenfalls zu einer verminderten Elimination, sodass die Etoposiddosis im Falle einer solchen Komedikation reduziert werden sollte. Eine Induktion des CYP3A4, z.B. durch Prednison, beschleunigt wiederum die Elimination von Etoposid (Groninger 2004). Da CYP3A4 bei Kindern bis zur Pubertät eine erhöhte Aktivität aufweist (s.o. Dosierungsregime bei Kindern/ Anderson 2009) ist folglich davon auszugehen, dass Etoposid bei Kindern schneller hepatisch metabolisiert wird.

Die Hauptnebenwirkungen und Dosislimitation ist die Myelosuppression. Der Grad der Neutropenie ist von der Intensität der Exposition, gemessen an der Etoposid-AUC abhängig (Nguyen 1998). Für Kinder konnte eine klare Korrelation der Toxizität und der Pharmakokinetik festgestellt werden. Da die Etoposidelimination bei pädiatrisch onkologischen Patienten signifikant mit einer eingeschränkten Nierenfunktion abnimmt, ist das Toxizitätsrisiko durch eine Vortherapie mit Cisplatin (wie im NB 97 Protokoll) erhöht (Nguyen 1998, Groninger 2004).

Als Langzeitnebenwirkung ist bei 10% der Therapierten eine therapieinduzierte akute myeloische Leukämie (t-AML) zu verzeichnen (Kager 2006).

5.3.1 Etoposidtherapie im NB 97 Protokoll

Etoposid wird im N5 Block als 96h Dauerinfusion mit einer Dosis von 100 mg/m²/ Tag, sowie im Rahmen der Megatherapie mit einer Dosis von 40 mg/kg/Tag verabreicht.

Die 100 mg/m²-Dosis stellt im Vergleich zum NB 90 und NB 95 Protokoll eine Neuerung dar, da gemäß NB 97 Protokoll, 25 mg/m²/Infusion weniger verabreicht werden. Die Dosis für Kinder unter einem Jahr wird körperlsgewichtsbasiert berechnet und wurde im NB 97 Protokoll nicht geändert. Sie beträgt weiterhin 4,2 mg Etoposid /kg. Bei zu geringem hämatopoetischen Nadir in einem vorangegangenen N5 Block (Leukozyten nicht <2,5/nl und Thrombozyten nicht <50/nl) soll die Dosis um 20% erhöht werden. Bei Knochenmarkstoxizität soll Etoposid von 100 mg/m² auf 80 mg/m² reduziert werden. Die körperlsgewichtsbasierten Dosierungen sollen in diesem Fall auf bis zu 3,2 mg/kg reduziert werden (Berthold 1998).

5.4.1 Doxorubicin

Doxorubicin (Synonym: Adriamycin=ADR) gehört zur Gruppe der Anthrazykline. Durch die Interkalation in die DNA-Doppelhelix wird die DNA-Replikation und die Aktivität der DNA- und RNA-Polymerase durch Anthrazykline inhibiert. Auch die Hemmung der Topoisomerase-II spielt eine Rolle (Kager 2006).

Doxorubicin verteilt sich nach i.v. Applikation sehr schnell im Organismus (Verteilungshalbwertszeit ca. 12 min), das Verteilungsvolumen liegt deutlich über dem Volumen des Gesamtkörperwassers, wobei hierbei eine erhebliche interindividuelle Variabilität ($500\text{-}2900\text{l/m}^2$) zu verzeichnen ist. Die Elimination erfolgt biphasisch mit Halbwertszeiten von primär 3h und dann 30h-50h (Fachinfo Doxorubicin).

Die Retention des Doxorubicins erklärt sich durch seine rasche, hohe Gewebe- und Plasmaproteinbindung (75%). Es wird hauptsächlich in der Leber durch enzymatische Reduktion metabolisiert, biliär eliminiert und durch die Fäzes ausgeschieden (40-50% binnen 7 Tagen). Der Hauptmetabolit des Doxorubicins ist Doxorubicinol.

Bei Erwachsenen konnte ein Zusammenhang zwischen der Leberleistung und der Doxorubicinclearance nachgewiesen werden. Bei eingeschränkter Leberfunktion oder einer Galleabflussbehinderung kann die Elimination verzögert werden, was auch die potentielle Toxizität erhöht. In diesem Fall ist eine Dosisanpassung erforderlich. Bei Kindern belegen viele Studien zwar eine sehr große interindividuelle Variabilität der Pharmakokinetik, generell ähnelt sie jedoch der von Erwachsenen (Groninger 2004).

Als Nebenwirkungen treten auch bei einer Doxorubicintherapie die Myelosuppression, sowie Schleimhauttoxizität, Übelkeit und Erbrechen auf. Im Besonderen steht jedoch die Kardiotoxizität im Vordergrund, welche vor allem bei kumulativen Dosierungen (Dosis von $350\text{-}400\text{ mg/m}^2$) und bei kardial vorerkrankten Patienten, sowie selten bei zu rascher Bolusgabe auftreten kann. Bei Erwachsenen steigt das Kardiotoxizitätsrisiko z.B. mit zunehmendem Alter der Patienten. Eine Erklärung hierfür erbrachten 2003 Li et al., die zeigten, dass die Doxorubicinclearance bei älteren Patienten durch den verminderten renalen Blutfluss herabgesetzt ist und die initiale Plasmakonzentration (Peakplasmakonzentration) nach einer langen Doxorubicininfusion demzufolge höher ausfällt. Noch Jahre nach einer Anthrazyklintherapie kann die Kardiotoxizität zu einer manifesten Kardiomyopathie führen (Li 2003). Auch bei Kindern stellt die Kardiotoxizität aufgrund einer möglichen verminderten Clearance, die bei langen Infusionen eine hohe Peakplasmakonzentration zur Folge haben kann, eine wichtige potentielle Nebenwirkung dar. Je jünger die Patienten sind, desto höher ist das Kardiotoxizitätsrisiko. Die Peakplasmakonzentrationen des Doxorubicins sind entscheidend für die Toxizität, wie auch Hempel 2002 in einer Untersuchung mit 27 Kindern zeigte (Hempel 2002).

5.4.2 Doxorubicintherapie im NB 97 Protokoll

Doxorubicin wird im N6 Block des NB 97 Protokolls als 4h Infusion mit einer Dosis von 30 mg/m² verabreicht. Für Kinder die jünger als 1 Jahr sind, ist eine Dosis von 1 mg/kg/Tag vorgesehen. Im NB 90 Protokoll war Doxorubicin noch als Dauerinfusion über 48h verabreicht worden. Von der Infusionsmodifikation auf nun 4h erwartet man laut NB 97 Protokoll eine Reduzierung der Schleimhauttoxizität ohne dabei die Kardiotoxizität zu erhöhen (Berthold 1998).

6 Zusammenfassung: Ziel der Arbeit und Fragestellung

In dieser Arbeit wird das DM, welches in pädiatrisch-onkologischen Therapiezentren von 1998-2004 bei Neuroblastom Chemotherapien durchgeführt wurde, analysiert.

Die DM Messwerte der 4 Zytostatika Carboplatin, Cisplatin, Etoposid und Doxorubicin werden interpretiert und in pharmakokinetischen Simulationsmodellen den Konzentrationserwartungswerten gegenübergestellt. Es wird somit verdeutlicht, inwieweit die im Rahmen des NB 97 DM gemessenen Konzentrationen mit der simulierten Pharmakokinetik des jeweiligen Medikaments korrelieren und inwieweit die Erwartungs- und Zielwerte der Zytostatikakonzentrationen erreicht, über- oder unterschritten wurden.

Die Beantwortung der Frage, wie sich die DM-Messwerte durch die besondere Pharmakokinetik und -dynamik bei Kindern erklären lassen, wird durch die gesichtete Fachliteratur untermauert.

Anhand der Auswertungen wird diskutiert, ob und inwiefern künftige Chemotherapieprotokolle durch die DM-Ergebnisse optimiert werden könnten und wie das DM von den Therapiezentren umgesetzt wurde.

Die Frage ob eine körporgewichtsbasierte Dosisberechnung (für Kinder im ersten Lebensjahr) als sinnvoll erachtet werden kann und inwieweit diese Dosierungsempfehlung umgesetzt wurde, ist ebenfalls Gegenstand dieser Arbeit.

Zudem wird analysiert welche Plasmakonzentrationen durch die individuellen, vom empfohlenen Therapieregime abweichenden Dosierungen erreicht wurden und ob diese Dosismodifikationen retrospektiv betrachtete korrekt waren.

Anhand der Datenauswertung und der gesichteten Literatur wird diskutiert, ob ein DM die Zytostatikatherapie in der Pädiatrie tatsächlich verbessern kann.

Methoden

7.1 Drugmonitoring im NB 97 Protokoll

Im klinisch-pharmakologischen Labor der pädiatrischen Hämatologie und Onkologie des Universitätsklinikums in Münster werden Konzentrationen unterschiedlicher Medikamente und deren Metabolite, sowie weitere Substanzen in Plasma-, Serum-, Liquor- und Urin- Proben analysiert und befundet. Die Proben werden vornehmlich von deutschen, jedoch auch von anderen europäischen onkologischen Therapiezentren nach Münster geschickt.

Im Rahmen des Neuroblastomstudienprotokolls NB 97 wird ein DM angeboten. Dieses war in den vorherigen Protokollen nicht vorgesehen.

Zu festen Zeitpunkten während einer Chemotherapie können optional Blutproben entnommen und diese anschließend zur Analyse und Befundung nach Münster eingeschickt werden. Dieser Bestandteil des Chemotherapieprotokolls NB 97 wurde durch das Verfahren der Ethikkommission der medizinischen Fakultät zu Köln am 30. Juni 1997 bewilligt.

Für diese Auswertung wurden alle in der Datenbank erfassten NB 97 Protokoll-Proben, die bis 15. Dezember 2004 im Labor in Münster eingegangen waren, analysiert (Ende der Studiennachbeobachtungsphase 31. Dezember 2004, Berthold 1998).

7.1.1 Entnahme und Versand der Zytostatikaproben

Das NB 97 Protokoll sieht für das DM eine einheitliche Handhabung der Zytostatikaproben vor, die bei einer Therapie entnommen und zur Befundung nach Münster geschickt werden (Berthold 1998).

Diese lauten wie folgt:

Allgemeine Angaben:

- „Patientendaten (Name, Gewicht, Größe, Geburtsdatum, Diagnose, aktuelle Therapie, Dosierung) notieren und bei Versendung mitschicken“
- „Infusionsanfang und -ende sowie die Abnahmezeitpunkte genau dokumentieren“
- „Probenentnahme möglichst nicht aus einem liegenden zentralen Zugang (in den das Zytostatikum eingelaufen ist)- wenn dies trotzdem notwendig ist, bitte unbedingt vermerken“

Angaben zu den einzelnen Chemotherapeutika des NB 97 Protokolls:

Etoposid, Cisplatin, Carboplatin:

„300 µl Kapillarblut oder peripher-venöses Blut abnehmen, zentrifugieren

„100 µl Serum in beschriftete EppendorfgeläÙe abfüllen und bei –18°C lagern“

„Die Proben können ohne Kühlung versendet werden“

Doxorubicin:

„100 µl Kapillarblut oder peripher-venöses Blut abnehmen, zentrifugieren

„50 µl Serum in beschriftete EppendorfgeläÙe abfüllen und sofort bei –18°C einfrieren“ dann „die Proben unbedingt auf Trockeneis verschicken“

7.1.2 Probenanalyse

Die Carboplatin- und Cisplatinanalysen wurden im pharmazeutischen Institut von Herrn Prof. Jaehde in Bonn mittels Atomabsorptionsspektrometer (Spectr AA™ Zeeman 220, Varian, Darmstadt, Germany) nach einer modifizierten Methode von Kloft et al. durchgeführt (Kloft 1999).

Die Etoposidproben wurden mittels chromatographischer Trennung durch RP-HPLC in Münster analysiert (Tilman et al. 1998)

Die Doxorubicinkonzentrationen wurden mittels Kapillarelektrophorese ebenfalls in Münster gemessen (Hempel 1998).

Die Analyseverfahren und Standardarbeitsanweisungen zur Probenverarbeitung finden sich im Anhang.

7.1.3 Befundübermittlung

Die gemessenen Konzentrationen der Zytostatika werden nach der Laboranalyse von den ärztlichen Mitarbeitern des klinisch-pharmakologischen Labors der pädiatrischen Hämatologie und Onkologie des Universitätsklinikums Münster interpretiert und der Einsendeklinik mitgeteilt.

Auf den Probenbegleit- und Anforderungsscheinen sollten zur Bestimmung eines Zytostatikaspiegels Patientendaten wie Name, Alter, Geschlecht, Gewicht, verabreichte Zytostatikadosis, Probenentnahmezeitpunkte und weitere Angaben wie z.B. das aktuelle Kreatinin zum Zeitpunkt der Probenentnahme, die Art des Probenmaterials und ggf. ergänzende Informationen, die für die Interpretation der gemessenen Konzentrationen wichtig sein können, gemacht werden.

Bei nicht ausreichenden Vermerken und Informationen auf den Probenbegleitscheinen erging eine einmalige Aufforderung an die Einsendeklinik, die fehlenden Daten zu ergänzen.

7.2 Quelldaten für die Auswertungen dieser Arbeit

Die von der Einsendeklinik übermittelten Patientendaten und weiteren Parameter des Anforderungsscheines wurden zusammen mit den gemessenen Zytostatikaplasmakonzentrationen anonymisiert in eine Datenbank in Münster eingetragen.

Die Einträge dieser Access-Datenbank dienten als Quelldaten für die hier durchgeführte Auswertungen des NB 97 DM.

Aufgrund der teils unzureichend, uneinheitlich oder fehlerhaft ausgefüllten Probenbegleitscheine fanden sich Freitextfelder in der Datenbank. Bei einigen Proben waren zwar alle Parameter und Patientendaten in der Datenbank vermerkt, doch konnte aufgrund zu geringer, verschickter Probenmaterialmengen, keine Konzentrationsanalysen der Chemotherapeutika durchgeführt werden.

Weitere, vereinzelte Proben waren doppelt bestimmt oder zumindest doppelt in die Datenbank eingetragen worden und werden in der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt.

Die Dateneingabe in die Datenbank erfolgte von unterschiedlichen Mitarbeitern ohne fest definierte Bearbeitungsstruktur, sodass unterschiedlich ausführliche Bemerkungen zum Verlauf einer Zytostatikatherapie, uneinheitliche Abkürzungen und verschiedene Infusionszeitangaben oder Maßeinheiten von den Probenbegleitscheinen übernommen und in die Datenbank eingetragen worden waren.

Folglich war für die Auswertung des DM eine gründliche Überarbeitung des Datenbank-Datensatzes, inklusive Sichtung der original Probenbegleitscheine erforderlich. Fehlende Parameter und Informationen wurden in der Datenbank ergänzt und die Quelldaten für diese Arbeit komplettiert.

7.3 Einschlusskriterien

In dieser Arbeit werden die Zytostatikaplasmakonzentrationen der Medikamente Carboplatin, Cisplatin, Doxorubicin und Etoposid analysiert, die im Rahmen des DM während einer Neuroblastom-Chemotherapie in der Datenbank erfasst wurden. Von diesen Zytostatikaplasmakonzentrationen gehen, wie oben beschrieben, nur die in die

Auswertung mit ein, bei denen die Einträge in der Datenbank (oder auf den Probenbegleitscheinen) zur Befundung und Interpretation ausreichen.

Dies waren im Einzelnen folgende Angaben:

- Patientenalter
- Körpergewicht
- Körpergröße
- Art des Probenmaterials
- verabreichte Zytostatikadosis
- Dosis (in mg/ m² KOF, bzw. Dosis in mg/ kg-KG)
- oder absolut verabreichte Zytostatikadosis in mg
- Infusionszeit in Stunden bzw. Minuten, oder das Datum und die Uhrzeit der Gabe, sodass die Dauer der Infusion nachträglich für die Auswertung errechnet werden konnte
- Entnahmezeitpunkt
- Ergebnis der Probenanalyse= gemessene Plasmakonzentration (mg/l bzw. µg/l)

7.4 Pharmakokinetische Simulationen

Für Carboplatin, Cisplatin, Etoposid und Doxorubicin wurde die Pharmakokinetik unter Berücksichtigung der, im NB 97 Protokoll vorgesehenen Dosierungen und Infusionszeiten simuliert. Die Simulationen basieren auf pharmakokinetischen- und dynamischen Parametern, die aus der Literatur extrahiert wurden.

Bei Etoposid und Carboplatin fußen die Berechnungen auf pharmakokinetischen Parametern die für Kinder ermittelt wurden, bei Cisplatin und Doxorubicin wurden pharmakokinetische Parameter von Erwachsenen für die Berechnung herangezogen. Das Simulationstool für Carboplatin wurde freundlicherweise von Herrn Professor Alan Boddy (Newcastle/ England) zur Verfügung gestellt. Die Berechnungen und Simulationen wurden von Frau Dr. Gudrun Würthwein (Münster) durchgeführt, wofür wir uns herzlich bedanken (Berechnungen und pharmakokinetische Parameter der Simulationen siehe Seite XVI im Anhang).

Um zu verdeutlichen, inwieweit die durch das DM erhobenen und in der Datenbank erfassten Zytostatikakonzentrationen den Erwartungs- bzw. Zielkonzentrationen während einer Therapie entsprechen, werden die Messergebnisse der Datenbank graphisch in den entsprechenden pharmakokinetischen Simulationsmodellen dargestellt.

7.5 Handhabung individueller Infusionszeiten und Dosierungen

Die Simulationsmodelle für die Chemotherapeutika wurden in der Annahme eines standardisierten Therapieablaufes, inklusive einheitlicher Infusionszeiten und Dosierung, wie sie gemäß NB 97 Protokoll vorgesehen sind, berechnet.

7.5.1 Modifizierte Infusionszeiten

Proben und Messwerte die nach einer vom Protokoll deutlich abweichenden Infusionszeit entnommen wurden, werden nicht in den Simulationsmodellen dargestellt. Aufgrund des eindeutig abweichenden Therapieregimes würde dies zu Fehlinterpretationen führen.

7.5.2 Modifizierte Dosierungen

Individuelle, reduzierte oder erhöhte Dosierungen, die pro m² KOF berechnet wurden, werden für die Darstellung in der Simulationsgraphik in Annahme einer linearen Kinetik für Etoposid, Cisplatin und Doxorubicin mittels folgender Formel 2 auf die im Protokoll vorgesehene Dosis umgerechnet. Dies ist notwendig, da die simulierten Konzentrationserwartungswerte auf Grundlage der im Protokoll festgelegten Dosierungen berechnet wurden.

Formel 2: Modifizierte Dosierungen: Normalisierung der Messwerte

$$\text{Messwert}_{\text{normalisiert}} = \frac{\text{NB 97-Protokoll-Dosis (mg/m}^2 \text{ KOF)} \times \text{Messwert}_{\text{Datenbank}}}{\text{verabreichte Dosis (mg/m}^2 \text{ KOF)}_{\text{Datenbank}}}$$

Diese normalisierten Messwerte werden in den Simulationen als „modifizierte/normalisierte Dosis“ gesondert dargestellt.

Für die Etoposidauswertung werden diese normalisierten Messwerte beispielhaft mit den real erzielten Messwerten, die durch Verabreichung einer angepassten, modifizierten Dosis erzielt wurden, verglichen (Ergebnisteil).

Erfolgte eine körperrgewichtsbasierte Dosisberechnung werden die entsprechenden Messwerte ebenfalls gesondert als „kg-Dosis“ in den Simulationsmodellen dargestellt.

Ergebnisse

8.1 Am Drugmonitoring teilnehmende Kliniken

Der Datensatz der dieser Auswertung zu Grunde liegt, stützt sich auf initial 926 dokumentierten DM-Proben, von 81 Patienten (=Ergebnis der ersten Datenbankabfrage). Die Proben wurden aus 21 deutschen Kliniken nach Münster geschickt. 94 kinderonkologische Einrichtungen hatten ihre Teilnahme an der Neuroblastomstudie NB 97 erklärt (Berthold 1998). Demnach haben nur 22% der Therapiezentren die das NB 97 Studienprotokoll umsetzten, Proben für ein DM nach Münster geschickt. Dem deutschen Kinderkrebsregister nach erkrankten im Zeitraum von 1997 bis Ende 2004, 1159 Kinder an einem Neuroblastom oder an anderen peripheren Nervenzelltumoren. Erfasst wurden im Kinderkrebsregister Kinder bis einschließlich dem vollendeten 14. Lebensjahr. 99% davon wurden als „Studienpatienten“ registriert (Kinderkrebsregister Stand 05/2007, Anhang, Seite II).

Die in der Datenbank erfassten Patienten, bei denen während der Chemotherapie ein DM durchgeführt wurde (davon 79 Patienten bis einschließlich vollendetem 14. Lebensjahr), machen insgesamt nur 7% der im Kinderkrebsregister erfassten Nervenzelltumorpatienten aus.

Der Großteil der Proben (32%) wurde in der Universitätsklinik Münster (Klinik 12, siehe Anhang) entnommen und zur Befundung eingeschickt.

Tabelle 2.1 zeigt die Anzahl der pro Klinik ($n_{\text{gesamt}} = 21$) verschickten Proben ($n_{\text{gesamt}} = 926$).

Tabelle 2.1: Proben/ Klinik

* Name der Kliniken im Anhang

Klinik Nr.*	Proben n=	Klinik Nr.*	Proben n=
1	41	12	293
2	29	13	9
3	28	14	2
4	50	15	29
5	22	16	34
6	158	17	20
7	4	18	33
8	92	19	5
9	2	20	8
10	29	21	18
11	20	Proben n= ges	926

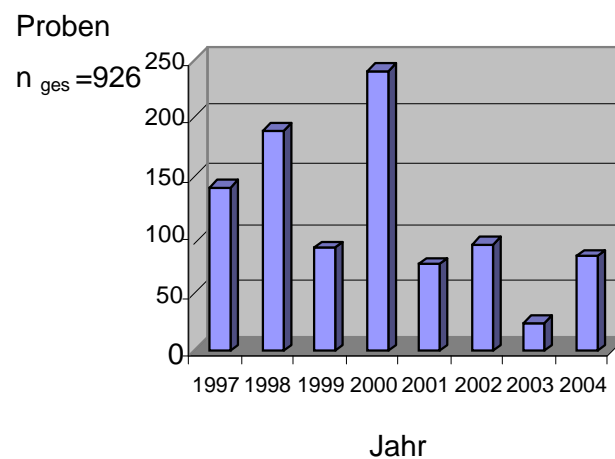
8.2 Neuroblastom-Probeneinträge der Datenbank 1997-2004

Im betrachteten Zeitraum (1997 bis 2004) variierte die Anzahl der in der Datenbank erfassten DM-Proben stark. Im Jahr 2000 ging der größte Anteil der Proben ein. In den darauffolgenden Jahren nahm die Probenanzahl deutlich ab (Tabelle 2.2 und Abbildung 3.1).

Tabelle 2.2: Versandte Proben/Jahr

Jahr	Probenanzahl $n_{\text{ges}} = 926$
1997	140
1998	188
1999	88
2000	239
2001	74
2002	92
2003	24
2004	81

Abbildung 3.1: Versandte Proben/Jahr



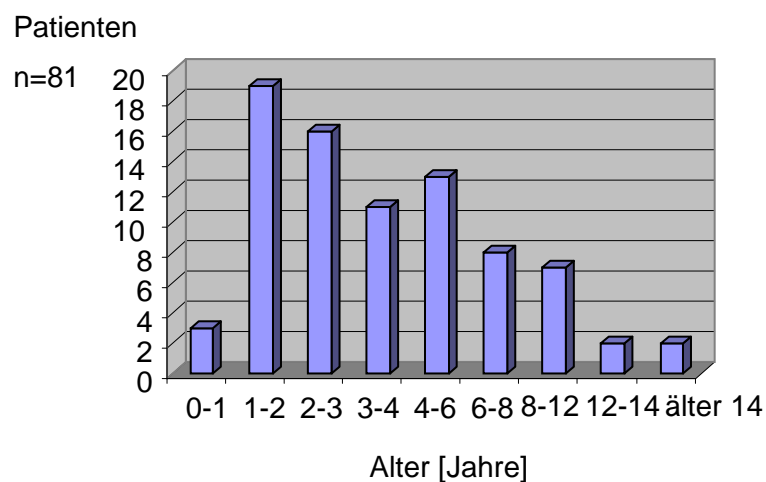
8.2.1 Altersverteilung bei Probenentnahme (alle DM-Proben)

Das Patientenalter zum Zeitpunkt aller dokumentierten Probenentnahme lag überwiegend zwischen 13 und 36 Monaten (Beginn 2. Lebensjahr bis einschließlich Ende 3. Lebensjahr).

Tabelle 2.3: Altersverteilung/ 81 Patienten

Alter [Jahre]	Patienten $n_{\text{ges}} = 81$
0-1=1. LJ	3
1-2	19
2-3	16
3-4	11
4-6	13
6-8	8
8-12	7
12-14	2
älter 14	2

Abbildung 3.2: Altersverteilung/ 81 Patienten



8.2.2 Alle in der Datenbank erfassten Neuroblastom DM-Proben

Die DM-Proben der folgenden Medikamente wurden im Rahmen des NB 97 Protokolls in der Datenbank in Münster erfasst (Tabelle 2.4 und 2.5).

Tabelle 2.4: Probenanzahl der Chemotherapeutika für die weitere Auswertung in dieser Arbeit

Proben-Einträge in der Neuroblastom-Datenbank (n= 619)	
Carboplatin	36
Cisplatin	183
Doxorubicin	150
Etoposid + Ephosphamid (VP 16)	250

Tabelle 2.5: Weitere DM-Medikamente der Datenbank

weitere Proben/ andere Medikamente des DM (n= 307)	
Busulfan	9
Daunorubicin	1
Brivudin	2
Idarubicin	4
Ifosfamid	133
Paracetamol	17
Retinoid	113
Topotecan	28

8.3 Relevante DM-Proben für die Auswertung dieser Arbeit

Der DM-Datensatz, der der Fragestellung dieser Arbeit zu Grunde liegt, stützt sich auf insgesamt 477 DM-Proben der Medikamente Carboplatin, Cisplatin, Etoposid und Doxorubicin, die bei 69 Patienten entnommen wurden (Einschlusskriterien der Proben siehe Methodenteil, Seite 34).

Pro Patient wurde eine unterschiedliche Probenanzahl entnommen und in der Datenbank dokumentiert- minimal eine Probe/Patient, maximal 22 Proben/Patient. Tabelle 2.6 und 2.7 zeigen die Verteilung der Proben.

Tabelle 2.6: Gemessene Proben/Medikament

Carboplatin	25
Cisplatin	122
Doxorubicin	141
Etoposid/ Etopophos	189
n Proben	477

Tabelle 2.7: Entnommene Proben/Patient

Median	6
Mittelwert	6,96
Min	1
Max	22
n Patienten	69

8.3.1 Altersverteilung Carboplatin, Cisplatin, Etoposid, Doxorubicin

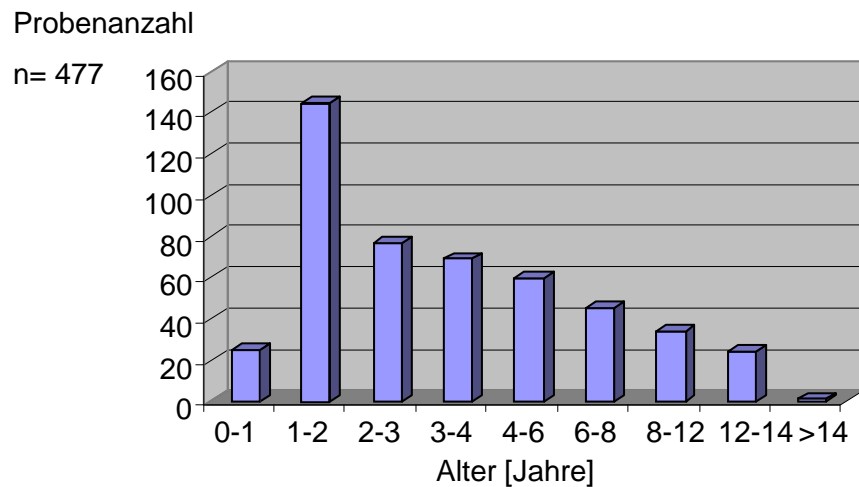
Zur Darstellung der Altersverteilung wird das Patientenalter zum Zeitpunkt der Probenentnahme betrachtet (Probenanzahl innerhalb einer entsprechenden Altersklasse).

Die Patienten waren zum Zeitpunkt der Probenentnahmen zwischen 6 Monaten und 21 Jahren alt. 31% der Proben wurden zwischen dem 12. und 24. Lebensmonat entnommen. Der Altersmedian zum Zeitpunkt der Probenentnahme liegt bei 3 Jahren. Tabelle 2.8 und Abbildung 3.3 zeigen die Altersverteilung bei Probenentnahme während eines Therapiezyklus mit Carboplatin, Cisplatin, Etoposid oder Doxorubicin.

Tabelle 2.8: Altersverteilung 69 Patienten

Alter [Jahre]	Proben [n=477]
0-1	25
1-2	145
2-3	77
3-4	69
4-6	60
6-8	45
8-12	34
12-14	24
älter 14	1

Abbildung 3.3: Altersverteilung/ 69 Patienten



9. Probenkollektiv und DM-Messergebnisse

In pharmakokinetischen Simulationsmodellen, die die zu erwartenden Plasmakonzentrationsverläufe der Chemotherapeutika zeigen, werden die DM-Messergebnisse von Carboplatin, Cisplatin, Etoposid und Doxorubicin graphisch dargestellt. Der Zeitpunkt „0 Stunden“ markiert den Beginn eines Therapiezyklus.

Die durch die Chemotherapie tatsächlich erzielten Plasmakonzentrationen werden so graphisch mit den Erwartungswerten verglichen (siehe auch Methodenteil, Seite 35).

9.1 Carboplatinproben

Die Carboplatinprobenauswertung stützt sich auf einen Datensatz von 25 dokumentierten Carboplatin Datenbankeinträgen von 6 Patienten (Einschlusskriterien siehe Methodenteil, Seite 34).

19 der Probenmesswerte wurden während einer 1h Infusion mit einer Dosierung von 500 mg/m² erhoben. 2 der 25 Proben wurden während einer 72h Dauerinfusion, auch hier mit einer Dosis von 500 mg/m², entnommen.

4 der 25 Proben stammen von einem Patienten mit nur einer Nierenanlage, bzw. mit Z.n. Nephrektomie (exakte Diagnose aus der Datenbank nicht ersichtlich). Die verabreichte Dosis war hier auf 218 mg/ m² verringert worden. Die Infusion lief über 1h. Diese Messwerte sind in der Simulationsgraphik als rotes Dreieckssymbol gekennzeichnet.

Tabelle 3.1: Carboplatin: Dosierungen und Infusionszeiten

Dosis [mg/m ²]	Infusionszeit [h]	Proben n=
500	1	19
500	72	2
218	1	4

9.1.1 Simulation für Carboplatin

Die Berechnungen für die Pharmakokinetik von Carboplatin und das Simulationsmodell wurde von Herrn Prof. Allan Boddy/ Newcastle erstellt (siehe auch Seite XVIII).

Bei Verabreichung einer Carboplatininfusion an drei aufeinander folgenden Tagen mit einer Dosis von 500 mg/m²/Tag, ist demnach folgender Verlauf der Carboplatinkonzentration zu erwarten (Abbildung 4.1.).

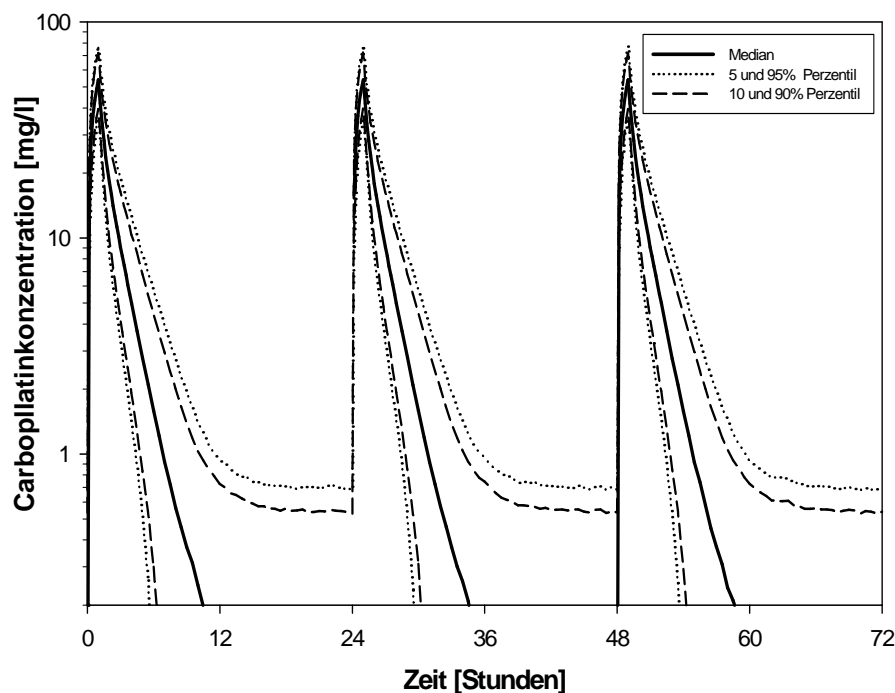


Abbildung 4.1: Carboplatinsimulation der Erwartungswerte

Carboplatinkonzentrationsverlauf bei einer 1h Infusion an drei aufeinander folgenden Tagen mit einer Dosis von 500 mg/m² KOF

Im NB 97 Protokoll fand sich keine genaue Angabe zum vorgesehenen Zeitpunkt der Carboplatin Probenentnahme, die meisten Proben wurden zur Bestimmung der Tal- und Spitzenspiegel entnommen (ca. 1h und 12h – 24h nach Infusionsbeginn).

Den Percentilenkurven der Graphik liegen zu diesen Entnahmezeitpunkten folgende simulierte Zytostatikakonzentrationen zugrunde (durchschnittliche Konzentrations-Messwerte 0-1,5h und 12h-23,5h nach Infusionsbeginn= Spitzen (Peak)- und Talspiegel).

Tabelle 3.2: Carboplatinmesswerte der Simulations-Percentilen

0-1,5h nach Gabe				
	5. Perzentile	10. Perzentile	90. Perzentile	95. Perzentile
Mittelwert der Konzentration der Erwartungswerte [mg/l]	21	23	45	50
12 -23,5h nach Gabe				
	5. Perzentile	10. Perzentile	90. Perzentile	95. Perzentile
Mittelwert der Konzentration der Erwartungswerte [mg/l]	0	0	0,6	0,7

9.1.2 Gemessene Carboplatinkonzentrationen

Carboplatin wird im Rahmen der Hochdosis Therapie (Megatherapie, siehe auch Therapieplan Seite 23) an drei aufeinander folgenden Tagen verabreicht (zeitlicher Abstand 24h). Es liegen Probenmessergebnisse vor, die „vor einer Gabe“ und zu unterschiedlichen Zeitpunkten während der Gaben 1, 2 oder 3 entnommen wurden (Tabelle 3.3). 11 Proben wurden zur Bestimmung der Carboplatin Peakplasmaspiegel, also ca. 0,5 -1 Stunde nach Beginn der jeweiligen 1., 2. oder 3. Infusion entnommen. 3 Proben (3 verschiedene Patienten) wurden vor der Infusion entnommen. 5 Proben wurden 6-8h nach Infusionsbeginn entnommen, 2 Proben nach 15h. 4 weitere Proben wurden am Infusionsende nach 23h entnommen (2 davon während der 72h Dauerinfusion zum Zeitpunkt 48h und 72h).

Tabelle 3.3: Carboplatin: Probenentnahmezeiten

Entnahmezeit	Probenanzahl n=
vor Infusionsbeginn	3
0,5-1h nach Infusionsbeginn	11
6-8 h nach Infusionsbeginn	5
15 h nach Infusionsbeginn	2
am Infusionsende*	4

* davon 2 während der 72h Dauerinfusion

Die höchste gemessene Konzentration von Carboplatin liegt bei 26 mg/l, der Minimalwert bei 0,02 mg/l. Die Standardabweichung beträgt 8,66. Da die Proben wie beschrieben zu unterschiedlichen Zeitpunkten im Rahmen der Infusionen abgenommen wurden und die Messwerte somit auch Tal- bzw. Spitzenspiegel des Carboplatins aufzeigen, gibt es sowohl zu den 1., 2. und 3. Gaben gemessene Konzentrationen von <1 mg/l und > 23 mg/l.

4 der Messwerte, die zu Bestimmung eines Talspiegels entnommen worden waren (16% aller Messwerte) lagen außerhalb des simulierten Verlaufes der Messwerte. Einer dieser Werte entspricht dem Messwert am Ende der 72h Dauerinfusion und ist deutlich zu hoch (quadratisches Symbol in der Abbildung 4.2).

Die restlichen Messwerte, auch die der Spitzenspiegel, entsprechen jedoch zu 84 % dem simulierten Carboplatinkonzentrationsverlauf.

Die Konzentrationsmesswerte des Patienten mit nur einer Nierenanlage, bzw. mit Z.n. unilateraler Nephrektomie (Dosis 218 mg/m²), liegen ebenfalls nah am bzw. im simulierten Plasmaspiegelverlauf. 3 der Konzentrationen wurden je 1h nach Infusionsbeginn an Tag 1, 2 und 3 gemessen (Spitzenspiegel). Eine Konzentration wurde vor Beginn der 3. Carboplatin-gabe (Talspiegel) bestimmt. Nach der ersten Infusion mit einer Dosis von 218 mg/m² liegt der Messwert bei nur 8 mg/l. 1h nach der 2. Carboplatininfusion am 2. Therapietag, liegt die Konzentration schließlich mit 26 mg/l im simulierten Spitzenspiegel Bereich, fällt dann im Verlauf auf 0,8 mg/l vor der 3. Gabe ab und steigt 1h nach Gabe der 3. Infusion auf 24 mg/l. Die Dosisanpassung an die Nierenfunktion des Patienten, welche offenbar in die Berechnung der Carboplatindosis zum Erreichen der Ziel-AUC eingegangen ist, hat hier während des 3 tägigen Therapiezyklus zu beabsichtigten Plasmakonzentrationen geführt. Mit der ersten reduzierten Gabe allein wurde jedoch noch kein Zielplasmaspiegel erreicht.

Abbildung 4.2 zeigt die DM-Probenmessergebnisse von Patienten, die Carboplatin an drei aufeinander folgenden Tagen erhielten (jeweils nach 1h = Peakplasmaspiegel).

Separat dargestellt sind die Messwerte des vierjährigen Kindes, welches eine reduzierte Dosis von 218 mg/m² erhielt (rautenförmiges, rotes Symbol).

Die Messwerte dieser reduzierten Infusion wurden für die Darstellung in der Simulationsgraphik *nicht* auf 500 mg/m² Dosis normalisiert.

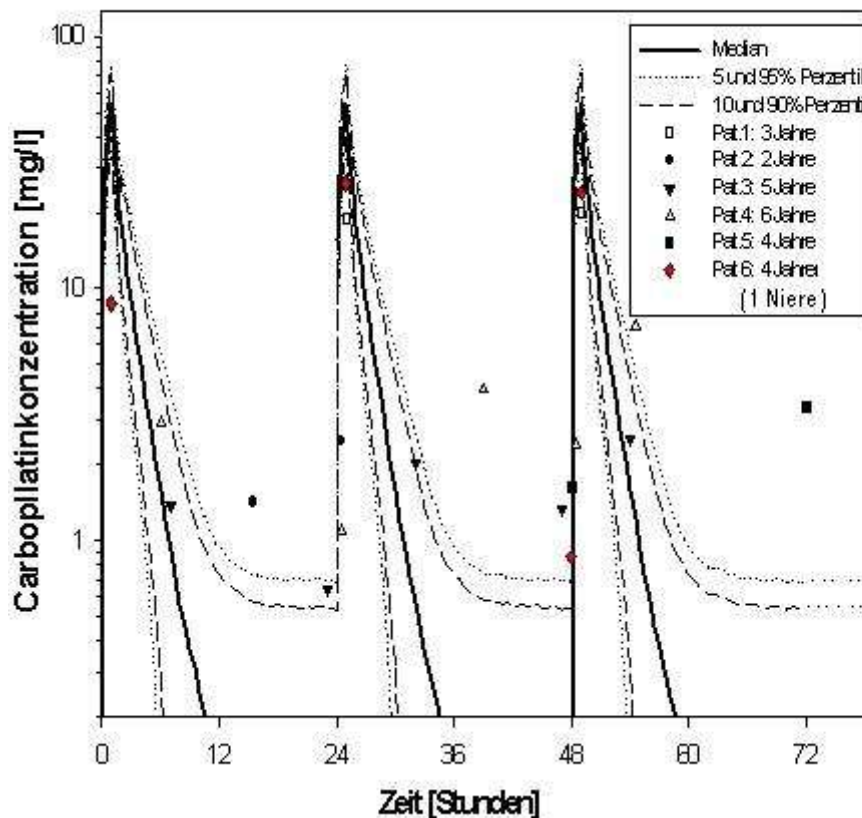


Abbildung 4.2: Carboplatinmesswerte in der Simulation (n= 25)

9.1.3 Altersverteilung der Carboplatinmesswerte

Die Patienten denen Carboplatin im Rahmen der Megatherapie verabreicht wurde waren zwischen 2 und 6 Jahren alt. Die großen Unterschiede in den Messwerten ergeben sich aufgrund der unterschiedlichen Abnahmezeitpunkte während einer Infusion. So wurden bei den 3 und 4 jährigen Patienten (n=10 Proben) allein 6 Proben direkt eine Stunde nach der Gabe entnommen und die Konzentrationen waren demnach, wie auch in der Simulation dargestellt, am höchsten (=Peakplasmaspiegel). Der Patient der die reduzierte Dosis (218 mg/m² KOF) erhielt war 4 Jahre alt.

9.2 Cisplatinproben

Die Cisplatinbewertung stützt sich auf einen Datensatz von 122 dokumentierten Cisplatin Datenbankeinträgen von 33 Patienten (Einschlusskriterien siehe Methodenteil, Seite 34). Bei diesen Proben wurde im DM die Cisplatin_{gesamt}

Konzentration gemessen. Bei 20 der Proben wurden zusätzlich die freie Cisplatinkonzentration gemessen (s.u.).

Der Großteil der Cisplatininfusionen wurde protokollgemäß mit einer Dosis von 40 mg/m²/Tag, oder wie für unter Einjährige im Protokoll festgelegt, körperrgewichtsbasiert mit 1,3 mg/kg/Tag verabreicht.

Tabelle 4.1 zeigt die unterschiedlichen Cisplatin Applikationsmodi (Infusionszeiten und Dosierungen).

Tabelle 4.1: Cisplatin_{gesamt}: Dosierungen und Infusionszeiten

Dosis/ Tag	Proben n _{ges} = 122	verschiedene Infusionszeiten [h]
1,2 mg/kg	1	96h
1,3 mg/kg	6	96h
18 mg/m ²	1	9 h
26 mg/m ²	2	24h und 72h
27 mg/m ²	2	24h und 25h
28 mg/m ²	2	96h
31 mg/m ²	2	96h
40 mg/m ²	103	2h, 24h, 72h, 95h, 96h
400 mg/m ²	1	24h
100 mg/m ²	2	96h

9.2.1 Simulation für Cisplatin_{gesamt}

Nach pharmakokinetischen Daten von Urien und Lokiec wurde von Frau Dr. Gudrun Würthwein eine Simulation für Cisplatin_{gesamt} erstellt (Anhang, Seite XVIII, Urien 2004).

Bei Verabreichung einer Cisplatininfusion mit einer Dosis von 40 mg/m²/Tag (insgesamt =160 mg/m²), die über 96h läuft, ist demnach folgender Verlauf des Cisplatin_{gesamt} zu erwarten (Abbildung 5.1).

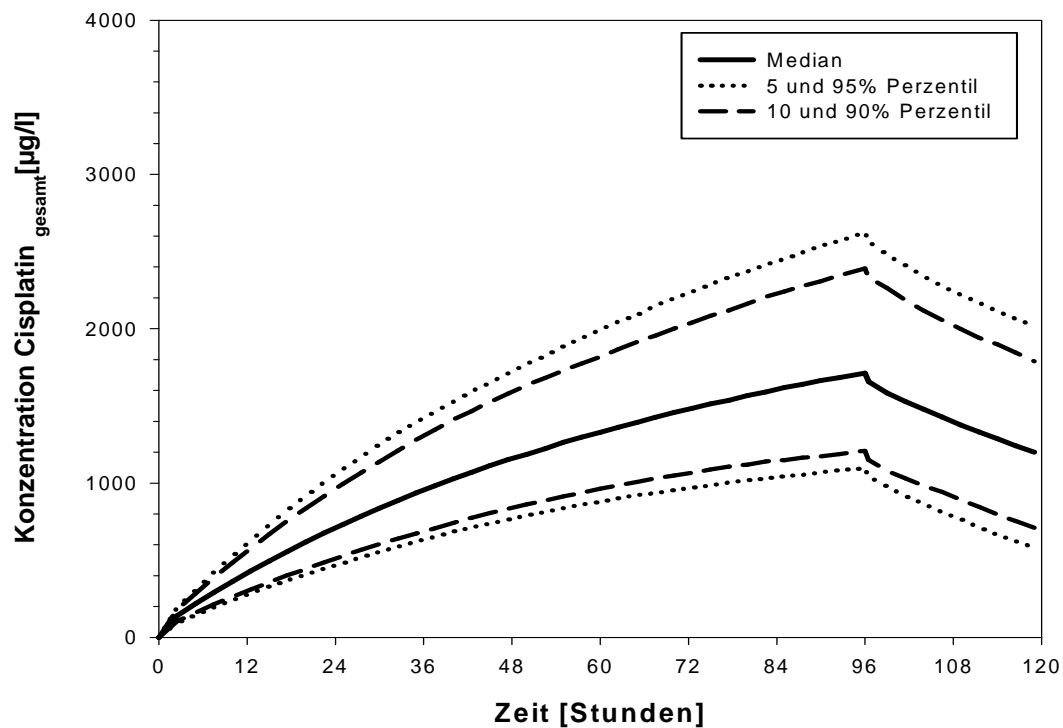


Abbildung 5.1: Cisplatin_{gesamt} Simulation der Erwartungswerte

Cisplatin Konzentrationsverlauf bei einer 96h Infusion mit einer Dosierung von 40mg/m²/Tag

Im NB 97 Protokoll wurden als Entnahmezeitpunkte der Cisplatinproben 24h und 95h nach Infusionsbeginn (= 1h vor Infusionsende) festgelegt (Berthold 1998, NB 97 Protokoll, Seite 111). In der Datenbank waren jedoch auch Proben, die zu anderen Entnahmezeitpunkten entnommen wurden dokumentiert (siehe Simulation, Abbildung 5.2).

Den Perzentilenkurven der simulierten Erwartungswerte liegen zu den definierten Entnahmezeitpunkten (24h und 95h) folgende Plasmakonzentrationen des Cisplatin_{gesamt} zugrunde: Tabelle 4.2 (hier zusammengefasst die Mittelwerte der Konzentrationen 20h – 27h bzw. 90h – 96h nach Infusionsbeginn).

Tabelle 4.2: Cisplatin_{gesamt} Messwerte der Simulations-Perzentilen

20-27h nach Gabe				
	5. Perzentile	10. Perzentile	90. Perzentile	95. Perzentile
Mittelwert der Konzentration der Erwartungswerte [$\mu\text{g/l}$]	462	505	954	1045
90-96h nach Gabe				
	5. Perzentile	10. Perzentile	90. Perzentile	95. Perzentile
Mittelwert der Konzentration der Erwartungswerte [$\mu\text{g/l}$]	1072	1180	2344	2574

9.2.2 Gemessene Konzentrationen Cisplatin_{gesamt}

Die Probenanalysen des Cisplatin_{gesamt} ergaben bei den protokollgemäßen Dosierungen von $40 \text{ mg/m}^2/\text{Tag}$, bzw. den protokollgemäßen körperrgewichtsbasierten Dosierungen ($1,3 \text{ mg/kg}/\text{Tag}$) größtenteils Werte die dem simulierten Verlauf der Cisplatinkonzentration entsprechen. Dies war besonders zu Beginn der Infusion und weniger gegen Ende des Therapiezyklus der Fall (s.u. Tabelle 4.3 und Abbildung 5.3).

24h nach Infusionsbeginn wurden 33 Proben (Dosis $40 \text{ mg/m}^2/\text{Tag}$) entnommen. Die gemessenen Konzentrationen dieser Proben liegen zu 70% innerhalb der 10. - 90. Perzentile der für Cisplatin simulierten, zu erwartenden Konzentrationen. Der Mittelwert der Proben, beträgt zum Zeitpunkt 24h nach Cisplatingabe 894 mg/dl und liegt somit innerhalb des simulierten Konzentrationsverlaufes (75. Perzentile).

95h bis 96h nach Beginn der Infusion wurden 37 der Proben entnommen (Dosis von $40 \text{ mg/m}^2/\text{Tag}$), hiervon liegen nur 35% der Messwerte innerhalb der simulierten 10. - 90. Perzentilenkurve der Messwerte. Der Mittelwert der gemessenen Cisplatin-DM-Konzentrationen zum Zeitpunkt 96h nach Infusionsbeginn liegt mit 2627 mg/dl über der 95. Perzentile der Erwartungswerte.

Von den Infusionen deren Dosis körperrgewichtsbasiert berechnet wurde ($1,3$ und $1,2 \text{ mg/kg KG}$) liegen nur 7 Probenmesswerte vor. Diese wurden zu verschiedenen Zeitpunkten entnommen und liegen, wie in der Simulation ersichtlich wird, 3 mal über und 4 mal innerhalb des simulierten Erwartungsbereichs der Cisplatin_{gesamt} Konzentration (Abbildung 5.3, Dreiecksymbol).

9.2.3 Konzentrationen Cisplatin_{gesamt} nach Infusion einer modifizierten Dosis

Reduzierte Cisplatindosis:

Die Analyse der reduzierten Cisplatin-Dosierungen (insgesamt $n_{\text{reduzierte Dosis}} = 9$ Proben, siehe Tabelle 4.1) ergab vor Normalisierung der Messwerte auf die Protokolldosis von 40 mg/m²/Tag (Formel 2) zum Zeitpunkt 24h nach Infusionsbeginn, 2 mal Konzentrationen die dem simulierten Erwartungswerten entsprechen (Dosis: 26 bzw. 27 mg/m²/Tag). Die Dosisreduktion war hier also angemessen.

2 Messwerte (Dosis: 18 bzw. 31 mg/m²/Tag) lagen jedoch über der 95. Percentile der Konzentrationserwartungswerte (Tabelle 4.3). Die Dosisreduktion hat hier demnach nicht ausgereicht um angemessene (nicht zu hohe) Konzentrationen zu erzielen.

Nach 95h fielen die Messwerte der reduzierten Dosierungen, wie auch die der 40 mg/m² Dosierungen, hoch aus. Ein Messwert (27 mg/m²-Dosis) lag zwischen der 90. und 95. Percentile, der andere Messwert (31 mg/m²-Dosis) lag zu diesem Zeitpunkt deutlich über der 95. Percentile. (Tabelle 4.3, Abbildung 5.3).

Erhöhte Cisplatindosis:

Die 3 Messwerte, die nach Infusion einer höheren Cisplatindosis entnommen wurden ($n_{\text{erhöhte Dosis}} = 3$ Proben, siehe Tabelle 4.1) liegen 24h nach Infusionsbeginn höher als der Mittelwert der 40 mg/m²-Dosierungen.

Tabelle 4.3: alle gemessenen Cisplatin_{gesamt} Konzentrationen (µg/ml)

22 - 25 h und 95 - 96 h nach Gabe

*bei mehreren Proben errechnete Mittelwerte, Messwerte gerundet

Dosierung	22 - 24h nach Gabe	95 - 96h nach Gabe
40 mg/m ² Dosis*	894	2627
andere/ m ² Dosierungen		
18 mg/m ²	3606	-
26 mg/m ²	511	-
27 mg/m ²	760	2410
28 mg/m ²	Proben zu andere Zeitpunkten entnommen	
31 mg/m ²	1066	3727
400 mg/m ²	1223	-
100 mg/m ² *	1451	-
körpergewichtsbasiert (mg/kg)	Proben zu andere Zeitpunkten entnommen	

Die gemessenen Konzentrationen der modifizierten Infusionen wurden für die Darstellung in der Simulationsgraphik (Abbildung 5.3) mittels Formel Nr. 2 auf die 40 mg/m²/Tag-Dosis umgerechnet (=normalisiert). Sie werden in der Graphik als „modifizierte Dosierungen“ dargestellt.

9.2.4 Messwerte Cisplatin_{gesamt} für die Simulation

In der graphischen Darstellung werden nur die Cisplatinmesswerte in der pharmakokinetischen Simulation dargestellt, die während der protokollgemäßen Verabreichung einer 96h Infusion erhoben wurden (Abbildung 5.3). Schließlich fußt die Berechnung der Simulation auf diesem Applikationsmodus.

Von den Proben, die während einer m² KOF dosierten Infusion entnommen wurden, waren dies 97 Proben von 28 Patienten (90 Proben der 40 mg/m² Dosierungen und 7 Proben der modifizierte m² Dosierungen/ normalisiert).

Auch die körp ergewichtsbasierten Cisplatininfusionen (von 3 Patienten) liefen über 96h.

Somit liegt ein Probenpool von 104 Proben (von 31 Patienten) vor, deren Messwerte in der Simulation dargestellt werden.

Abbildung 5.2 verdeutlicht die Selektion der graphisch dargestellten Konzentrationsmesswerte.

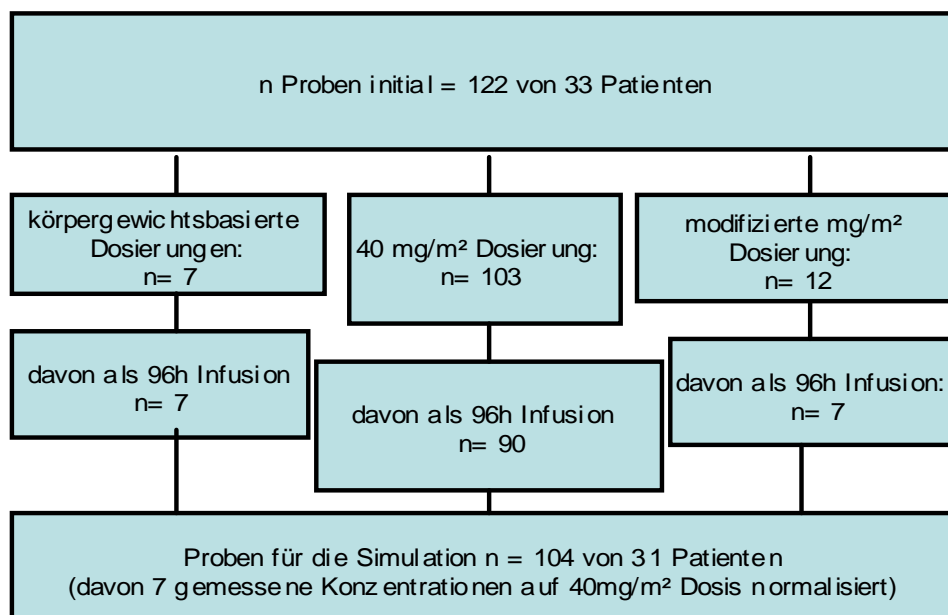


Abbildung 5.2 : Cisplatinprobenselektion für die graphische Darstellung in der Simulation (96h Infusion)

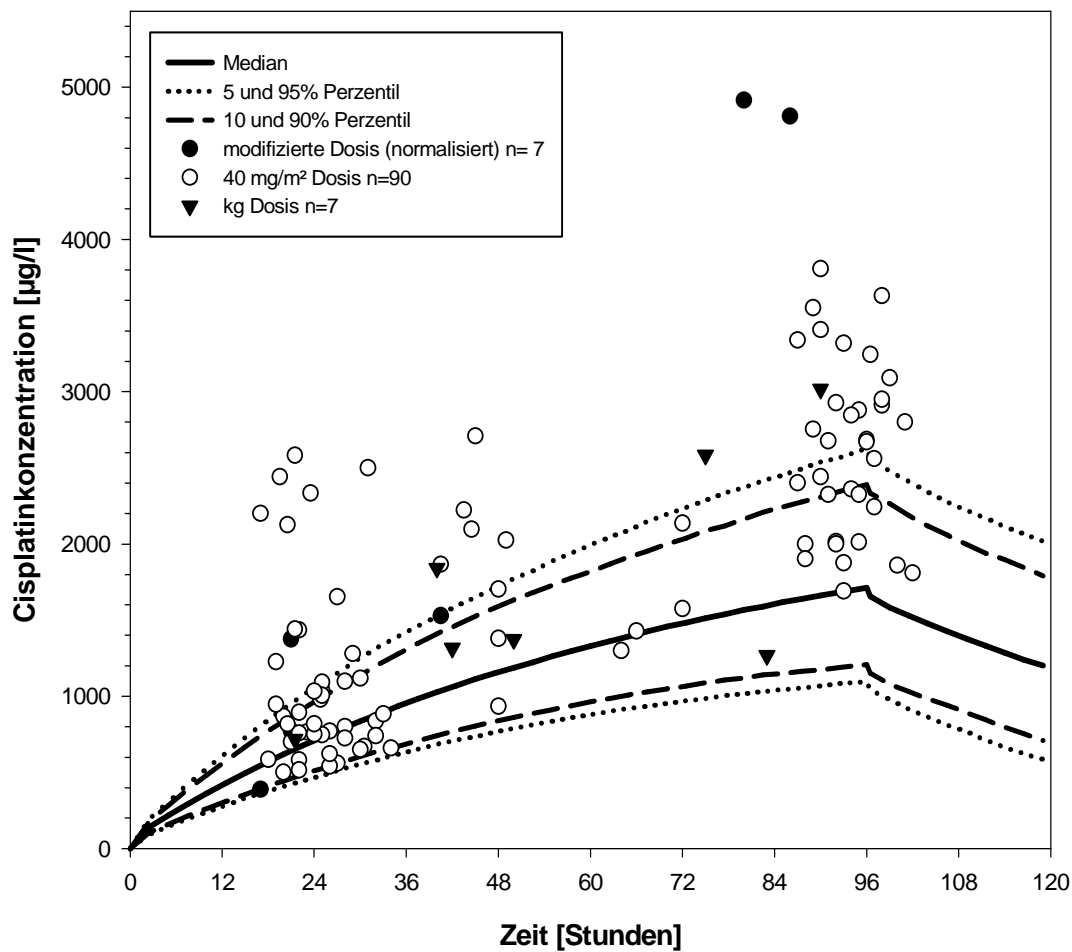
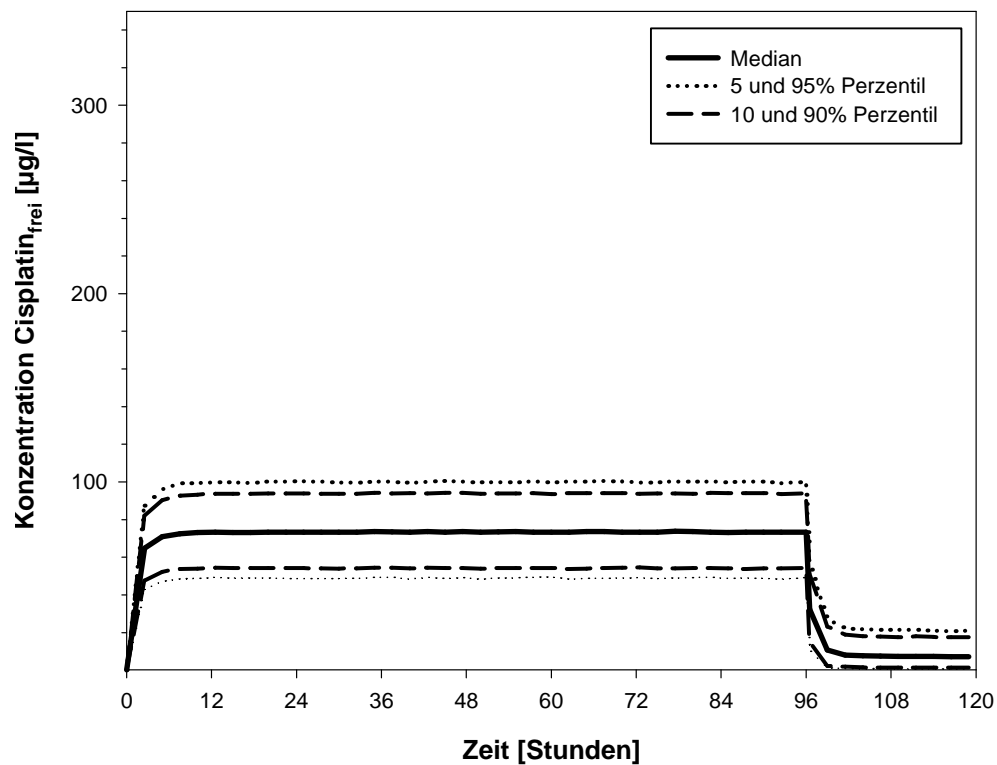


Abbildung 5.3: Cisplatin_{gesamt} Messwerte in der Simulation (n= 104)

7.2.5 Simulation für Cisplatin_{frei}

Nach pharmakokinetischen Daten von Urien und Lokiec wurde von Frau Dr. Gudrun Würthwein eine Simulation für freies Cisplatin erstellt, Anhang Seite XVIII (Urien 2004). Bei Verabreichung einer Cisplatininfusion mit einer Dosis von 40mg/m²/Tag, die über 96h läuft, ist demnach folgender Verlauf der freien Cisplatinkonzentration zu erwarten (Abbildung 5.4).

Abbildung 5.4: Cisplatin_{frei} Simulation der Erwartungswerte

Cisplatin Konzentrationsverlauf bei einer 96 stündigen Infusion mit einer Dosierung von 40 mg/m²/ Tag

Den Perzentilenkurven für Cisplatin_{frei} liegen folgende simulierte Konzentrationen zugrunde (steady state zwischen 12h und 96h, daher Mittelwerte der Konzentrationen).

Tabelle 4.4: Cisplatin_{frei} Messwerte der Simulations-Perzentilen

12-96h nach Gabe				
	5. Perzentile	10. Perzentile	90. Perzentile	95. Perzentile
Mittelwert der Konzentration der Erwartungswerte [µg/l]	48	53	93	99

9.2.6 Gemessene Konzentrationen Cisplatin_{frei}

Die Auswertung der freien Cisplatinproben stützt sich auf einen Datensatz von 20 dokumentierten Cisplatin_{frei} Konzentrationen von 10 Patienten.

In der Annahme, dass zu den Probenentnahmezeitpunkten ein steady state des Cisplatin_{frei} vorlag, werden die Messwerte gemeinsam betrachtet.

Einige sehr hohe Werte, die bei den 40 mg/m²/Tag-Infusionen gemessen wurden, führten zu einem hohen Mittelwert dieser Probengruppe (Mittelwert = 118 µg/l). 35 % der Messwerte liegen oberhalb der 90. Percentile.

Auch die freien Cisplatinmesswerte der körporgewichtsbasierten Infusionen sind sehr hoch, wie im Simulationsmodell deutlich wird (Mittelwerte = 168 µg/l).

Bei den modifizierten Infusionen (abweichende Dosis) waren nur 3 mal die Konzentrationen des freien Cisplatins analysiert worden (bei beiden Infusionen mit einer Dosis von 100 mg/m² und 1 mal bei der Infusion einer 28 mg/m² Cisplatinosis). Es wurden durch die Dosismodifikation jeweils Konzentrationen im Zielbereich erreicht (durch die 100 mg/m² Dosis Cisplatin_{frei} = 79 µg/l und 84 µg/l, durch die 28 mg/m² -Dosis eine Cisplatin_{frei} Konzentration von 56 µg/l).

Für die Darstellung des freien Cisplatins im Simulationsmodell wurden die Messergebnisse der modifizierten m² KOF Infusionen mittels Formel 2 auf die Protokoll dosis (40 mg/m²/Tag) normalisiert. Dies führt dazu, dass die Messwerte der 100 mg/m² Infusion (beide bei ca. 24h als dunkles Kreissymbol erkennbar) in der Graphik niedriger und der Messwert der 28 mg/m² Infusion (bei ca. 40h) höher imponiert.

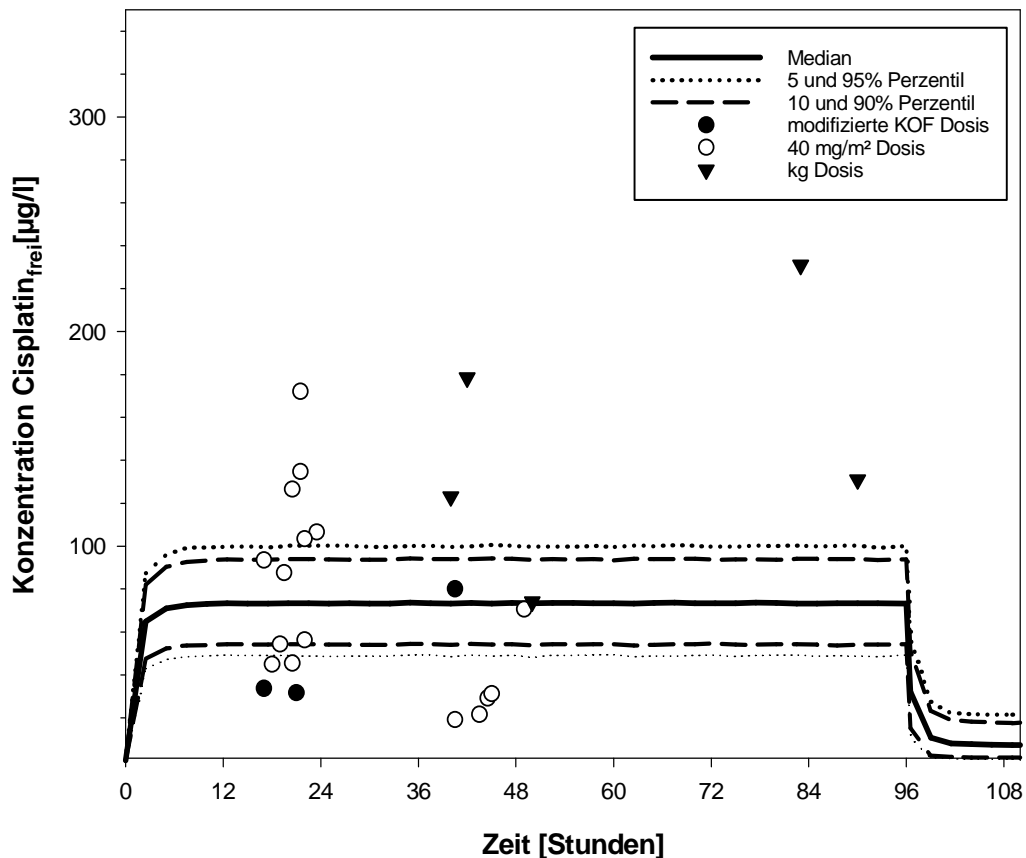


Abbildung 5.5: Cisplatin_{frei} Messwerte in der Simulation (n = 20)
modifizierte Dosis normalisiert

9.2.7 Altersverteilung der Cisplatin_{gesamt} Messwerte

3 Kinder waren während der Cisplatintherapie unter einem Jahr alt. 2 dieser Kinder erhielten, wie im Protokoll für unter Einjährige vorgesehen, eine Cisplatinosis die körperrgewichtsbasiert berechnet wurde (Proben n= 4, unterschiedliche Entnahmezeitpunkte: 2 Messwerte entsprechen dem simulierten Konzentrationsverlauf von Cisplatin_{gesamt}, 2 Messwerte liegen über der 95. Percentile der simulierten Erwartungswerte).

Das dritte der Kinder erhielt eine Infusion, deren Dosis nach m² KOF berechnet worden war (Proben n= 2, Mittelwert dieser Cisplatin_{gesamt} Konzentrationen 66h nach Infusionsbeginn= 1364 µg/l). Die Konzentrationen dieser Proben liegen sehr nah am Median der simulierten Erwartungswerte. Auch wenn eine Dosierung nach m² KOF für dieses Kind nicht im Protokoll vorgesehen war, wurden durch diesen Applikationsweg, der sonst nur für ältere Kinder gilt, Konzentrationen im Erwartungsbereich erzielt.

Zusammenfassend lässt sich anhand des hier analysierten Probenpools demnach kein Vorteil der körpergewichtsbasierten Dosierung für unter Einjährige gegenüber einer m^2 KOF Dosis festmachen.

Tabelle 4.5: Altersverteilung der Cisplatinmesswerte

Altersklasse [Jahre]	bis 1	1-2	2-3	3-4	4-6	6-8	11-13
Patientenanzahl (n= 31)	3	12	6	3	1	3	3
Proben $n_{\text{gesamt}} = 104$	6*	39**	19	14	3	9	14

* 4 Proben (2 Patienten) einer körpergewichtsbasierten Infusion, 2 Proben (1 Patient) 40 mg/m^2 Infusion

** 3 Proben (1 Patient) einer körpergewichtsbasierten Infusion

Da die Proben der 96h Infusionen auch innerhalb der Altersklassen zu unterschiedlichen Zeitpunkten entnommen wurden, können bezogen auf die Altersklassen keine korrekten Mittelwerte der Konzentrationen errechnet werden. Orientierend wird in Abbildung 5.6 jedoch der Range aller 104 Messwerte innerhalb der Altersklassen dargestellt, um so zu verdeutlichen, dass die Messwerte in allen Altersklassen einer annähernd gleich großen Schwankungsbreite unterliegen.

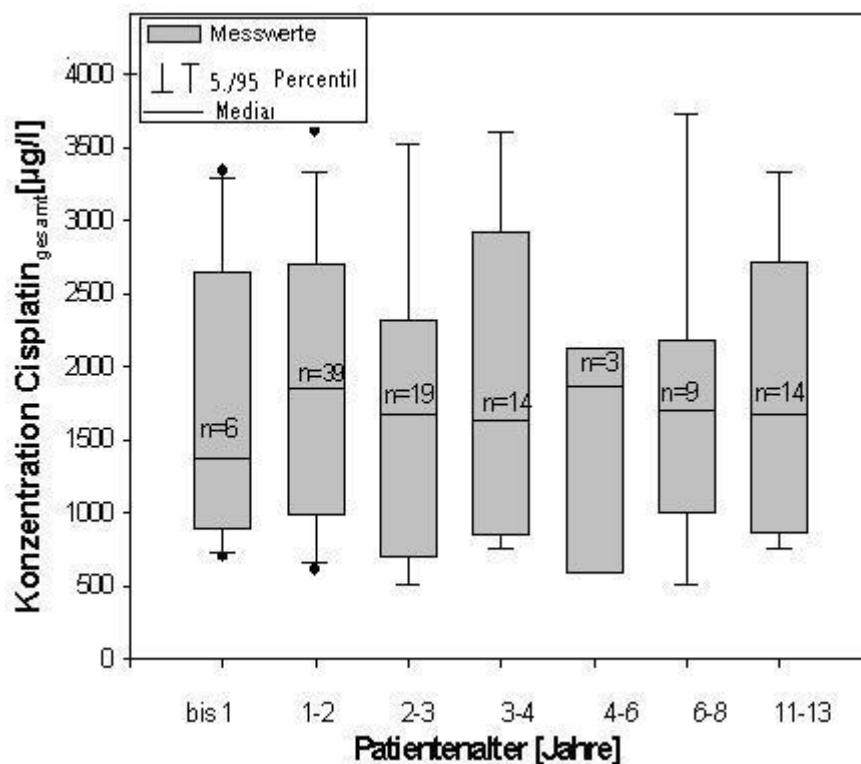


Abbildung 5.6: Altersverteilung der Cisplatin_{gesamt} Messwerte (Range)

9.3 Etoposid Proben

Die Auswertung der Etoposidproben stützt sich auf einen Datensatz von 189 Proben von 53 Patienten (Selektion und Einschlusskriterien siehe im Methodenteil, Seite 34). Die Patienten waren zwischen 6 Monaten und 21 Jahren alt, 44% der Proben stammen von 12 bis 36 Monate alten Kindern.

10 der Proben stammen von 4 Patienten, die eine körpergewichtsbasierte Etoposiddosisberechnung erhielten. Im NB 97 Protokoll ist für diese Kinder eine Dosis von 4,2 mg/kg/Tag vorgesehen- diese Säuglingsdosierung entspricht der Dosis des alten NB 90 Protokolls (bei Toxizität 3,2 mg/kg/Tag, siehe Einleitung, Seite 29).

Für Kinder die älter als 1 Jahr sind, ist im NB 97 Protokoll eine neue Dosis von 100 mg/m² KOF Etoposid/Tag vorgesehen. Im NB 90 Protokoll betrug diese nach m² KOF berechnete Dosis noch 125 mg/m²/Tag.

Als DM Probenentnahmezeitpunkte während einer Etoposidchemotherapie werden im NB 97 Protokoll 24h und 95h nach Infusionsbeginn definiert.

9.3.1 Gemessene Etoposidkonzentrationen aller Infusionen

Die hier analysierten Etoposidproben wurden überwiegend 24h und 96h nach Beginn der Etoposiddauerinfusion entnommen. In der Annahme, dass zu beiden Entnahmezeitpunkten ein steady state vorliegt, werden die Messwerte beider Entnahmezeitpunkte gemeinsam betrachtet. Tabelle 5.1 zeigt die in der Datenbank dokumentierten Infusionszeiten und Dosierungen.

Tabelle 5.1: Etoposid: Dosierungen und Infusionszeiten aller Proben

Dosis /Tag	Proben n= 189	Infusionszeiten [h]
3,2 mg/kg	1	96h
3,3 mg/kg	3	96h
4 mg/kg	3	96h
4,2 mg/kg	2	96h
13 mg/kg	1	24h
40 mg/m ²	2	96h
62 mg/m ²	2	96h
66 mg/m ²	3	24h, 26h, 96h
67 mg/m ²	4	24h
80 mg/m ²	9	24h, 72h, 96h
81 mg/m ²	1	96h
85 mg/m ²	2	24h, 72h
88 mg/m ²	1	96h
95 mg/m ²	1	96h
99 mg/m ²	2	96h
100 mg/m ²	122	24h, 72h, 96h
101 mg/m ²	2	96h
102 mg/m ²	6	24h, 96h
103 mg/m ²	3	24h, 96h
104 mg/m ²	3	96h
108 mg/m ²	1	96h
208 mg/m ²	4	96h
400 mg/m ²	1	96h
947 mg/m ²	8	96h
972 mg/m ²	2	96h

Die Messwerte aller Etoposidproben (Protokolldosis 100 mg/m², modifizierte m² Dosis und körperlsgewichtsbaſierte Dosis) zeigen eine groſe Streuung. 38% der Messwerte entsprechen dem simulierten Erwartungswerten, ſie liegen zwischen 2 und 4 mg/l (10. - 90. Percentile in der Simulation). Weitere 11% der Probenmessungen ergaben Etoposidkonzentrationen zwischen 4 und 5 mg/l und waren demnach nur leicht erhöht. Deutlich über 5 mg/l lagen inſgesamt 25% der Messwerte, wobei 11% der geſamten Proben (n=21) sogar höher als 12 mg/l lagen. Unter 2 mg/l, also zu niedrig, lagen 25% der Messwerte.

Zusammenfassend entsprachen annähernd 50% den simulierten Etoposid Konzentrationsverläufen, 25% waren zu hoch und 25 % zu niedrig.

Der „neue Zielplasmaspiegel“ für Etoposid, der zwischen 2 und 3 mg/l liegen soll, wurde bei insgesamt 42 der 189 Proben erreicht, was 22% *aller* Messwerte entspricht. Von den Messwerten, die innerhalb der 10. - 90. Percentile der simulierten Erwartungswerte liegen (2-4 mg/l = 38%, s. o.), machen die Konzentrationen im neuen Zielbereich (2-3 mg/l) den größten Anteil aus (58%).

Die modifizierten, nach m^2 KOF berechneten Dosierungen, führten aufgrund der großen Unterscheide der Dosisintensitäten (11 Proben einer Hochdosistherapie, Tabelle 5.1) folglich zu einer deutlichen Variabilität der gemessene Etoposidkonzentrationen. Für die Darstellung im Simulationsmodell wurden diese modifizierten Dosierungen daher mittels Formel 2, Seite 36 auf die Protokoll Etoposiddosis von $100 \text{ mg}/m^2$ umgerechnet. In der Simulation werden diese Messwerte gesondert dargestellt.

5 der Messwerte, die oberhalb des simulierten Konzentrationsverlaufes liegen (>95. Percentile) wurden während der Infusion einer körporgewichtsbasierten Etoposiddosis entnommen (3,2 - 4,2 mg/kg-Dosis = 9 Proben).

Die körporgewichtsbasierte Etoposiddosis von $13 \text{ mg}/\text{kg KG}$ (Hochdosistherapie) führte ebenfalls zu einer weit oberhalb der 95. Percentile liegenden Konzentration.

9.3.2 Simulation für Etoposid

Die Pharmakokinetik von Etoposid wurde anhand pharmakokinetischer Parameter und Daten von Würthwein und Boos simuliert, Anhang Seite XIX (Würthwein 2001). Bei Verabreichung einer Etoposidinfusion mit einer Dosis von 100 mg/m^2 , die über 96h läuft, ist folgender Verlauf der Etoposidkonzentration zu erwarten (Abbildung 6.1).

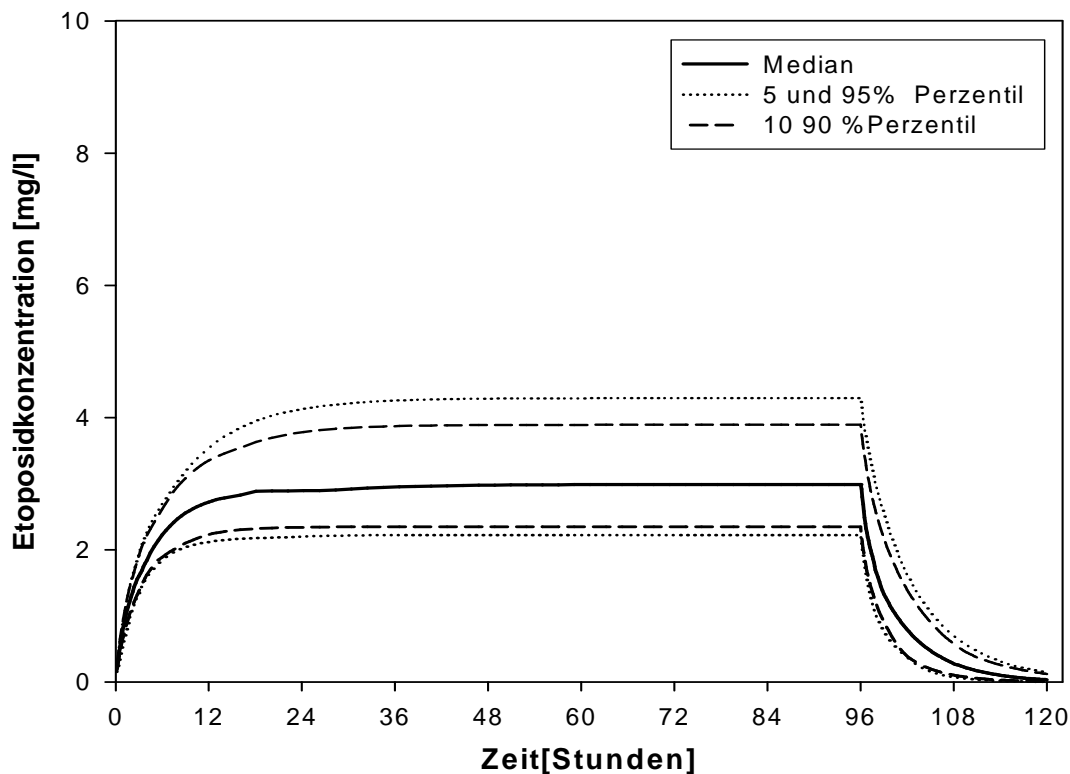


Abbildung 6.1: Etoposidsimulation der Erwartungswerte

Etoposidkonzentrationsverlauf bei einer 96h Infusion mit einer Dosierung von 100 mg/m^2

Den Perzentilenkurven der Erwartungswerte liegen folgende simulierte Konzentrationen zugrunde (zwischen 24h und 96h „steady state“):

Tabelle 5.2: Etoposidmesswerte der Simulations-Perzentilen

Probenentnahme 24-96h nach Gabe	5. Perzentile	10. Perzentile	90. Perzentile	95. Perzentile
Mittelwert der Konzentration der Erwartungswerte (mg/l)	2,1	2,2	3,8	4,2

9.3.3 Gemessene Etoposidkonzentrationen der 96h Infusionen

Die DM-Auswertung der 96h Etoposidinfusionen stützt sich auf 146 dokumentierte DM Konzentrationen (137 Proben der nach m^2 KOF dosierten Infusionen und 9 Proben körperlsgewichtsbasierter Dosierungen).

Etoposidkonzentrationen die über 12 mg/l lagen (z.B. Hochdosistherapien, s.o.) werden nicht in die weitere Berechnung mit einbezogen (n=21), Tabelle 5.3.

Die Messwerte werden in Abbildung 6.2 und 6.3 den simulierten Konzentrationserwartungswerten gegenübergestellt.

Unabhängig davon ob eine Infusion mit 100 mg/m^2 KOF oder mit einer modifizierten m^2 KOF Dosis verabreicht worden war, wurden sehr ähnliche Etoposidkonzentrationen im DM gemessen (auch vor Normalisierung der Messwerte der modifizierten Infusionen mittels Formel 2). Der Konzentrationsmittelwert beträgt bei allen nach m^2 KOF dosierten Infusionen 3 mg/l (=ca. 75. Percentile) und entspricht somit dem neu angestrebten Etoposidzielwert der Neuroblastomtherapie (2-3 mg/l).

Der Konzentrationsmittelwert der körperlsgewichtsbasierter Etoposiddosierungen fällt höher aus (Berechnung ohne die Hochdosistherapieprobe). Er beträgt 5 mg/l und liegt demnach über der 95. Percentile.

In der Simulation, in der die DM-Konzentrationen der körperlsgewichtsbasierter Etoposidinfusionen graphisch dargestellt werden, wird der Hochdosiswert (Dosis 13 mg/kg KG) als helles Kreissymbol gesondert dargestellt (Abbildung 6.4).

Tabelle 5.3: Etoposidkonzentrationen der 96h Infusionen (mg/l)

Dosis	100 mg/m^2	modifizierte mg/m^2 (62-972 mg/m^2)	modifizierte mg/m^2 normalisiert**	mg/kg KG
Proben (Infusionszeit 96 h, n = 146)	103	34		9
Mittelwert*	3	3	3	5
Median	5	3	3	5
Maximum	11	11	12	10
Minimum	0	0	0	2
Standardabweichung	2	2	2	1

* Messwerte gerundet

** Umrechnung auf Standarddosis laut Formel 2, Seite 37

(Messwerte der 96h Infusionen (n=137 Proben einer Dosierung nach m^2/KOF und n=9 Proben einer körperlsgewichtsbasierter Dosierung). Nicht eingegangen sind Konzentrationen $>12 \text{ mg/l}$, n= 21 Proben)

Abbildung 6.2 zeigt die Etoposid DM-Messwerte aller 137 Proben, die während einer nach m^2 KOF dosierten Infusion entnommen wurden. Graphisch nicht dargestellt werden die Messwerte, deren Konzentration >12 mg/l lag ($n=21$). In Abbildung 6.3 werden diese Messwerte, um die Häufigkeiten der gleichen und ähnlichen Konzentrationen besser darzustellen, gespreizt dargestellt.

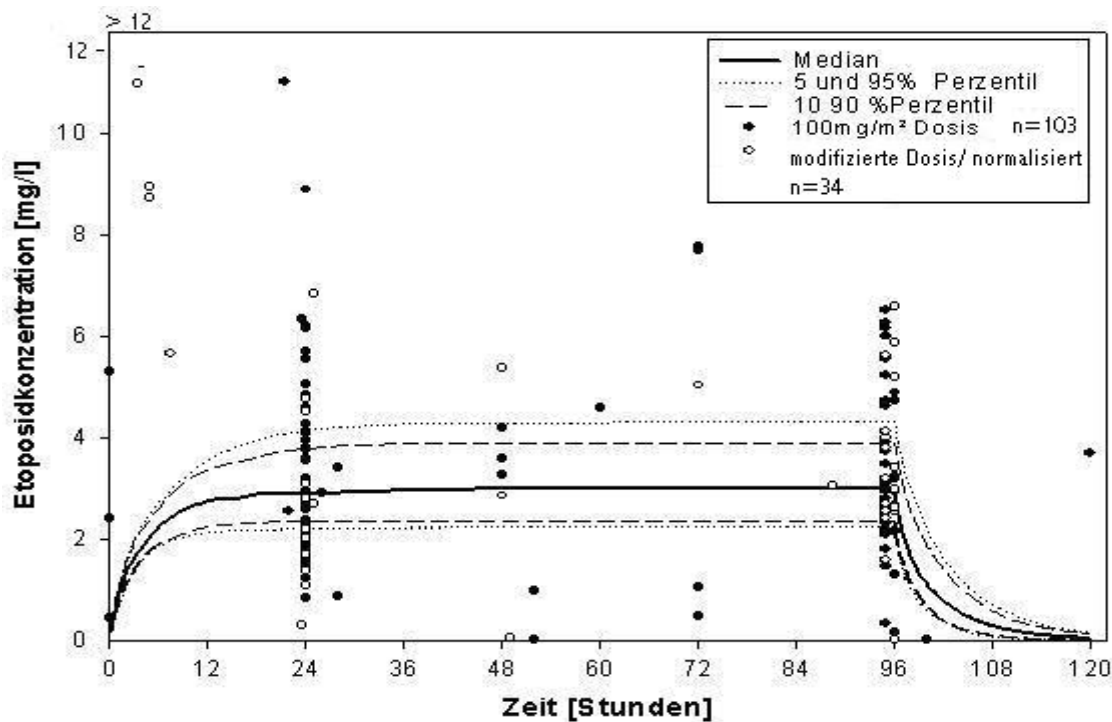


Abbildung 6.2: Etoposidmesswerte in der Simulation ($n=137$)
(100 mg/m²-Dosis und modifizierte m²-Dosierungen (normalisiert) Infusionszeit 96 h)

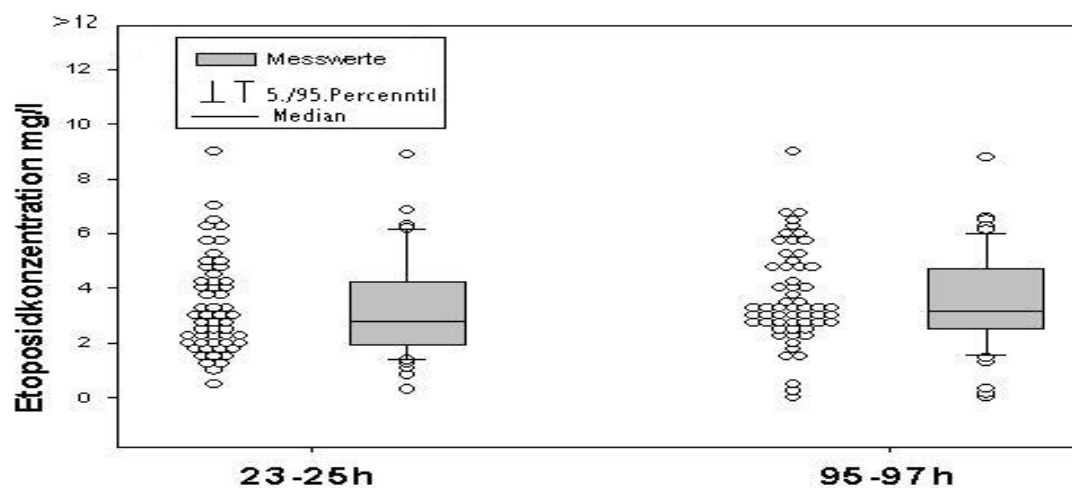


Abbildung 6.3: Etoposidmesswerte gespreizt dargestellt
(100 mg/m² Dosis und modifizierte m² Dosierungen (modifizierte Dosierung normalisiert, Infusionszeit 96h)

Abbildung 6.4 zeigt die 9 DM-Messwerte, die bei einer Infusion mit körpergewichtsbasierter Etoposiddosierung erhoben wurden (mg/kg KG).

Gesondert dargestellt wird der Messwert der Hochdosisinfusion 13 mg/kg KG.

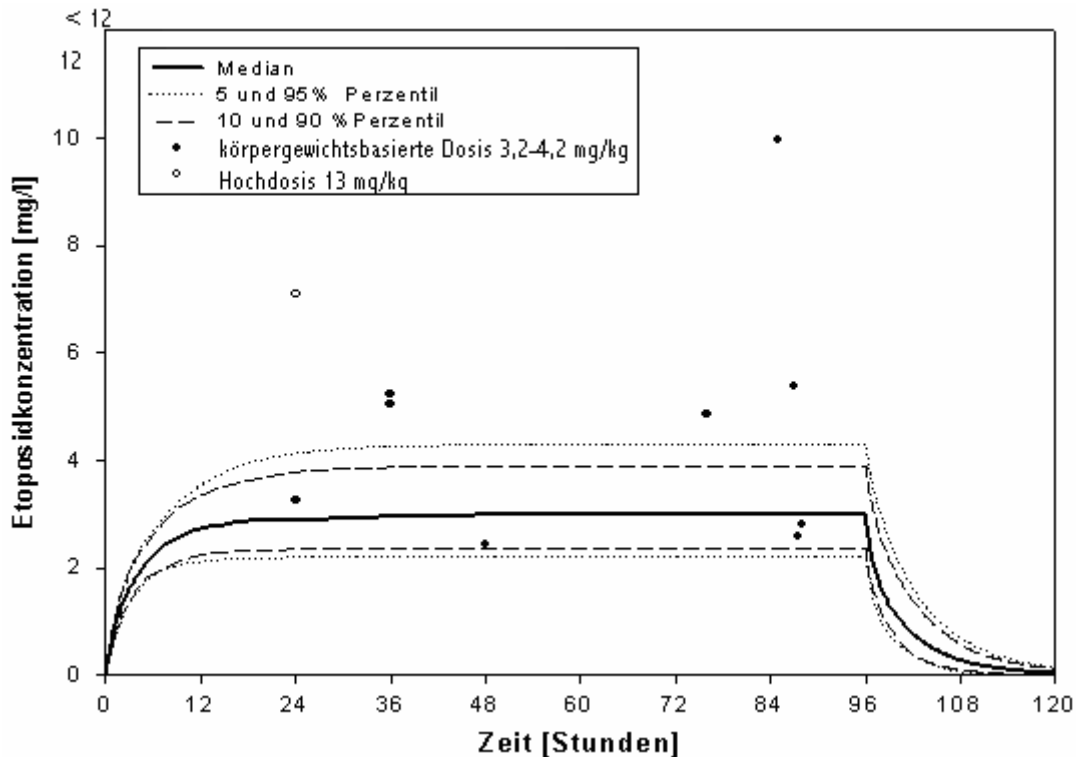


Abbildung 6.4: Etoposidmesswerte der körpergewichtsbasierten Dosierungen (n=10)

(Das helle Kreissymbol entspricht dem Messwert der 13 mg/kg Hochdosis-Therapie, nicht normalisiert)

9.3.4 Altersverteilung der Etoposidmesswerte

3 Patienten von denen Proben entnommen wurden, waren unter einem Jahr alt. Nur einer dieser Patienten (4 DM-Etoposidproben), erhielt eine im Protokoll für unter Einjährige vorgesehene körpergewichtsbasierte Dosierung. Die anderen beiden unter Einjährigen hatten eine nach m^2 KOF berechnete Dosis erhalten (3 DM-Proben). Einer dieser Patienten erhielt eine reduzierte Dosis von $95 \text{ mg}/m^2$ KOF.

In der Berechnung und der Graphik zeigt sich, dass der Konzentrationsmittelwert in der Altersgruppe der unter Einjährigen höher liegt als in den anderen Altersgruppen. Er überschreitet mit $5 \text{ mg}/l$ den neu angestrebten Konzentrationszielbereich von $2\text{-}3 \text{ mg}$ Etoposid/l.

5 weitere DM-Proben, die nach Verabreichung einer körpergewichtsbasierten Dosierung entnommen wurden, stammen von 2 Patienten die älter als 1 Jahr waren.

In Tabelle 5.4 und Abbildung 6.5 sind die Etoposidmesswerte (m^2 KOF Dosierungen alle normalisiert) in den entsprechenden Altersklassen dargestellt.

Nicht in die Berechnung eingegangen sind für diese Auswertung die deutlich zu hohen Konzentrationen >12 mg/l (n=21 Proben).

Tabelle 5.4: Altersverteilung der Etoposidmesswerte

(96 h Infusionen (n= 146 Proben), alle Etoposidkonzentrationen bis 12 mg/l)

Altersklasse [Jahre]	bis 1	1	2	3	4-8	ab 9
Proben n _{gesamt} = 146	7**	30***	21	32	37	19
Mittelwert	5	3	3	3	4	4
Median	5	3	3	2	3	3
Minimum	1	1	0	0	0	1
Maximum	10	7	6	6	11	9
Standardabweichung	3	1	2	2	2	2

* Messwerte gerundet

** 4 Proben (von 1 Patienten) nach Verabreichung einer körpergewichtsbasierten Dosis

*** 5 Proben (von 2 Patienten) nach Verabreichung einer körpergewichtsbasierten Dosis, obwohl > 1 Jahr

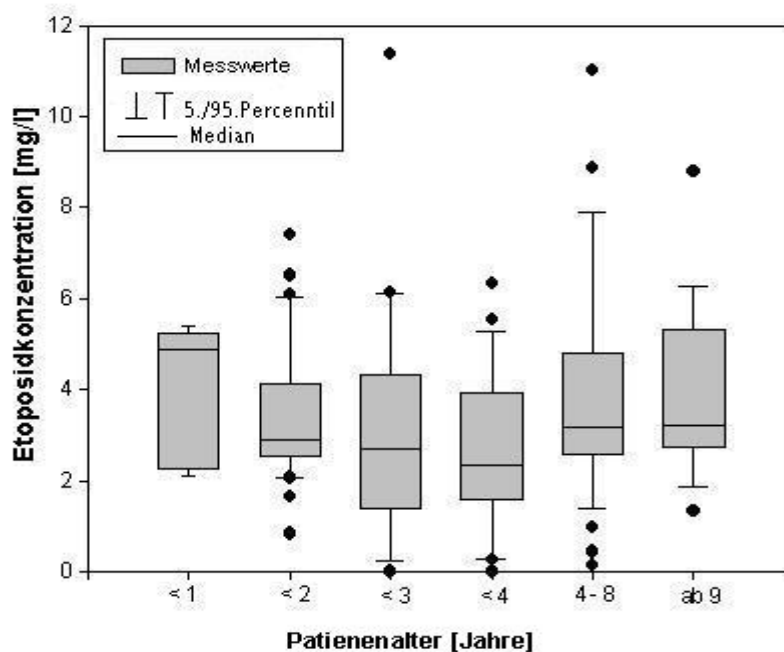


Abbildung 6.5: Altersverteilung Etoposidmesswerte

(alle Messwerte bis 12 mg/l, 96h Infusionen (n= 146 Proben), modifizierte Dosierungen normalisiert)

9.3.5 Vergleich der modifizierten, individuellen Dosierungen vor und nach Normalisierung am Beispiel einzelner Etoposidproben

Am Beispiel einzelner Etoposidproben, die nach Verabreichung einer vom Protokoll abweichenden Dosierung, also nicht 100 mg/m^2 , entnommen wurden, wird dargestellt inwieweit die individuellen Dosierungen zu Konzentrationen im Erwartungsbereich führten und wie sich die Messwerte nach Normalisierung auf die 100 mg/m^2 Dosis verändern. Eine Normalisierung der Dosis und Umrechnung der gemessenen Konzentrationen wurde immer dann durchgeführt, wenn die Messwerte in der Simulationsgraphik dargestellt werden, siehe hierzu auch Kapitel 7.5, Seite 36.

In der folgenden Simulation werden Messwerte dargestellt, die nach Infusion von modifizierten Etoposiddosierungen von $80 - 90 \text{ mg/m}^2$ KOF, sowie $40 - 66 \text{ mg/m}^2$ KOF gemessen wurden (Abbildung 6.6). Warum eine Modifikation der Dosis vorgenommen worden war, wurde nur in einem Fall in der Datenbank vermerkt („Dosisreduktion auf 66% aufgrund einer Knochenmarkstoxizität“).

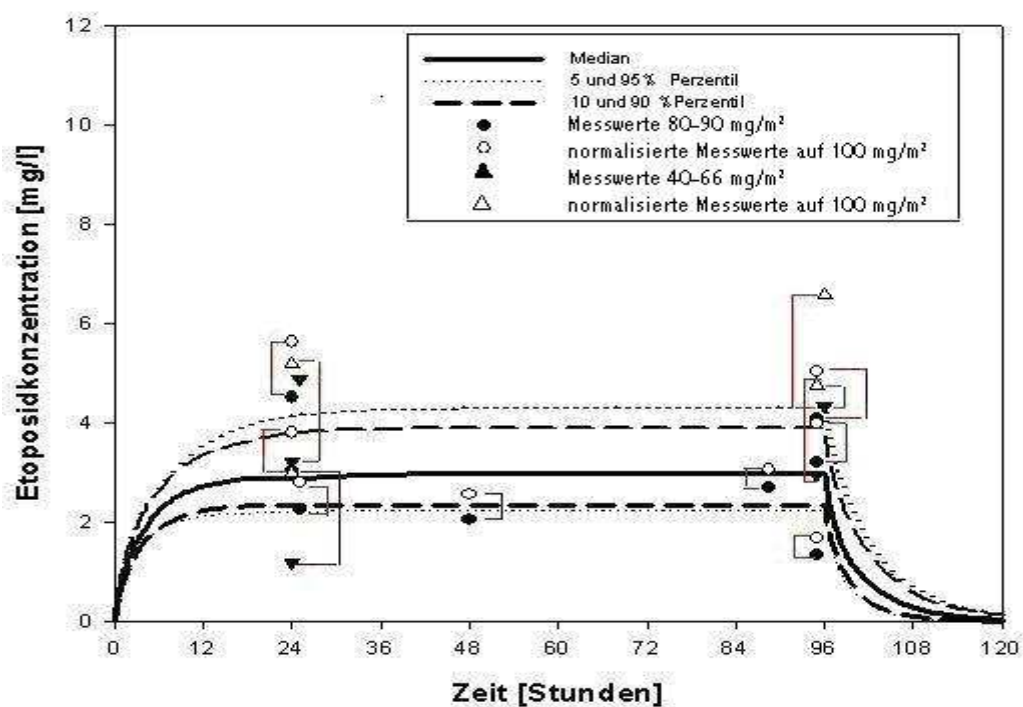


Abbildung 6.6: Etoposid: Vergleich Messwerte vor/nach Normalisierung

(verglichen werden real erzielten Konzentrationen durch Infusion einer modifizierten, individuellen Dosis mit den Konzentrationen, die durch Normalisierung der Dosis (auf 100 mg/m^2) erzielt wurden)

Nach Verabreichung der modifizierten Dosierungen (dunkel dargestellt) wurden größtenteils Etoposidkonzentrationen, die im oder sehr dicht am Erwartungsbereich liegen, erreicht. 3 der hier dargestellten tatsächlich gemessenen Etoposidkonzentrationen nach Gabe der modifizierten Dosis liegen etwas unterhalb der 5. Percentile der simulierten Erwartungswerte, also niedriger als beabsichtigt (Etoposidexposition zu gering). 3 Messwerte liegen etwas über der 95. Percentile, also höher als beabsichtigt (Etoposidexposition zu hoch).

Die hellen Symbole zeigen die Messwerte nach Umrechnung gemäß Formel 2 auf 100 mg/m² (Kapitel 7.5, Seite 36).

9.3.6 Etoposidproben aus Münster vs. Proben anderer Einsendekliniken

(m² KOF Dosis Proben)

Im Folgenden werden beispielhaft die gemessenen Etoposidkonzentrationen der in Münster entnommenen Proben mit den gemessenen Konzentrationen nach Probenentnahme in anderen Kliniken verglichen (Tabelle 5.5, Abbildung 6.7).

Es soll somit dargestellt werden, ob das präanalytische Probenmanagement, also Probenentnahme, -handling und -versand bzw. orts- und zeitnahe Analyse der Proben in Münster, zu deutlichen Messunterschieden der Etoposidkonzentrationen führte.

6 der 21 Proben aus Münster wurden während einer Hochdosis-Etoposidtherapie entnommen (5 Proben/1 Patient: 947 mg/m² KOF und 1 Probe/1 Patient 400 mg/m² KOF). Ebenso 5 der 137 Proben der anderen Kliniken (2 Proben/1 Patient 972 mg/m² KOF und 3 Proben/2 Patienten 947 mg/m² KOF). Die Messwerte der Hochdosistherapien gehen nicht in die Berechnung in Tabelle 5.5 ein.

In der Simulation werden alle Messwerte im Bezug zu den simulierten Erwartungswerten des Etoposidkonzentrationsverlaufs dargestellt (rotes Quadrat: 6 Messwerte nach Verabreichung der Hochdosistherapie in Münster, grünes Quadrat: 5 Messwerte nach Verabreichung der Hochdosistherapie in anderen Kliniken).

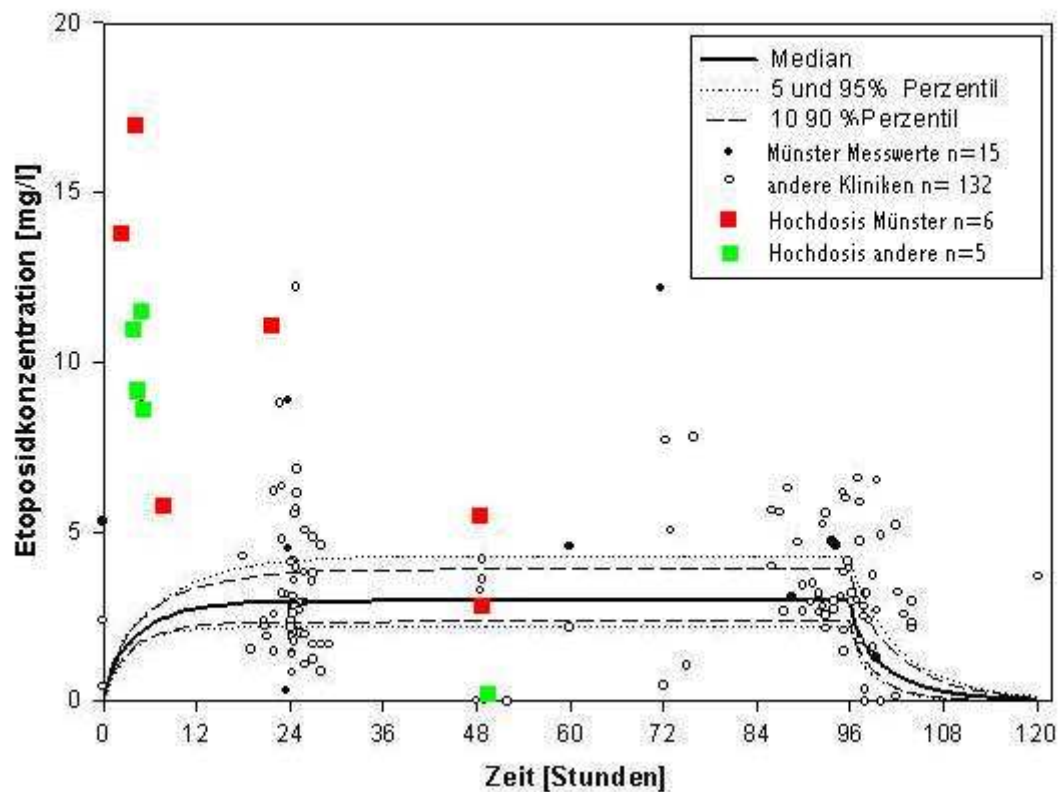


Abbildung 6.7: Etoposidmesswerte der Proben aus Münster vs. andere Kliniken im Vergleich zu den simulierten Konzentrationserwartungswerten einer Etoposidinfusion von 100 mg/m² über 96h, modifizierte m² KOF Dosierungen normalisiert

Tabelle 5.5: Vergleich Etoposidmesswerte Münster/andere Kliniken (n= 147)

(Dosis 100 mg/m² über 96h, modifizierte Dosierungen normalisiert, hier ohne Hochdosis Proben n=11)

Vergleich Messwerte Münster/ andere Kliniken n _{gesamt} = 147 (ohne Hochdosis Proben n=11)	Etoposidproben aus Münster n=15 (10% der Proben)	Etoposidproben anderer Kliniken n=132 (90% der Proben)
Etoposidkonzentration deutlich zu hoch (> 5 mg/l) in %	n= 8 53 %	n=31 23 %
Etoposidkonzentration zu niedrig < 2 mg/l in %	n=1 7 %	n=28 22%
Messwerte im simulierten Bereich 2- max. 5 mg/dl in %	n=6 40 %	n=73 55%

Die Streuung der Werte ist in beiden Gruppen groß, der Unterschied der Messwerte ist jedoch nicht signifikant ($p > 0,05$).

Die gemessenen Konzentrationen der in Münster entnommenen Proben liegen, unter Auslassung der Hochdosismessergebnisse, prozentual seltener als die der anderen Proben im simulierten Erwartungsbereich. In 40% der Proben aus Münster, jedoch 55% der Proben anderer Kliniken wurden Konzentrationen zwischen 2 und 5 mg/l gemessen.

Die Etoposidkonzentrationen der Münster-Proben lagen zu 53 % deutlich über der 95. Percentile der Erwartungswerte, wohingegen bei den Proben der anderen Kliniken nur bei 23 % der Proben, Konzentrationen > 5 mg/l gemessen wurden.

Bei 21% der Proben aus anderen Kliniken wurden zu niedrige Etoposidkonzentrationen gemessen, in Münster war dies nur in 7% der Proben der Fall.

9.4 Doxorubicin Proben

Die Auswertung der Doxorubicin-DM-Proben stützt sich auf 141 Datenbankeinträge von 31 Patienten im Alter zwischen 6 Monaten und 14 Jahren.

124 der Doxorubicinproben (von 30 Patienten) wurden während einer protokollgemäßen 4h-Infusion entnommen (Tabelle 6.1). Diese Infusionszeit ist gegenüber dem NB 90 Protokoll, in dem Doxorubicin als 48h-Dauerinfusion verabreicht wurde, neu. Infusionszeiten von 3h 50 min bis 4h 50 min werden in die weitere Auswertung einbezogen. Die NB 97 Doxorubicindosis beträgt $30 \text{ mg/m}^2/\text{Tag}$.

10 der 124 Doxorubicinproben (von 2 Patienten) wurden während einer Infusion mit körperrgewichtsbasierter Dosierung entnommen. 10 Proben (3 Patienten) wurden nach Verabreichung einer modifizierten m^2 KOF Dosis ($20\text{-}27 \text{ mg/m}^2$) untersucht.

Der Großteil der hier analysierten Proben wurde, wie im Protokoll vorgesehen, nach 30min und 3,5h - 4h entnommen (Berthold 1998, NB 97 Protokoll, Seite 116).

Tabelle 6.1: Doxorubicin: Dosierungen/ Patienten

Dosis	Patienten $n_{\text{gesamt}} = 30$	Proben* $n_{\text{gesamt}} = 124$
30 mg/m^2	25	104
modifizierte m^2 Dosis ($20\text{-}27 \text{ mg/m}^2$)	3	10
körperrgewichtsbasiert (mg/kg)	2	10

* alle Proben während einer 4h Infusion entnommen

9.4.1 Doxorubicin Simulation

Die Doxorubicinmesswerte werden in einer Simulation für Doxorubicin, die auf den veröffentlichten pharmakokinetischen Parametern von Eksborg et al. fußt, dargestellt (Anhang, Seite XX, Eksborg 1985).

Bei Verabreichung einer Doxorubicininfusion mit einer Dosis von 30 mg/m²/Tag, die über 4h läuft, ist demnach folgender Verlauf der Doxorubicinkonzentration zu erwarten.

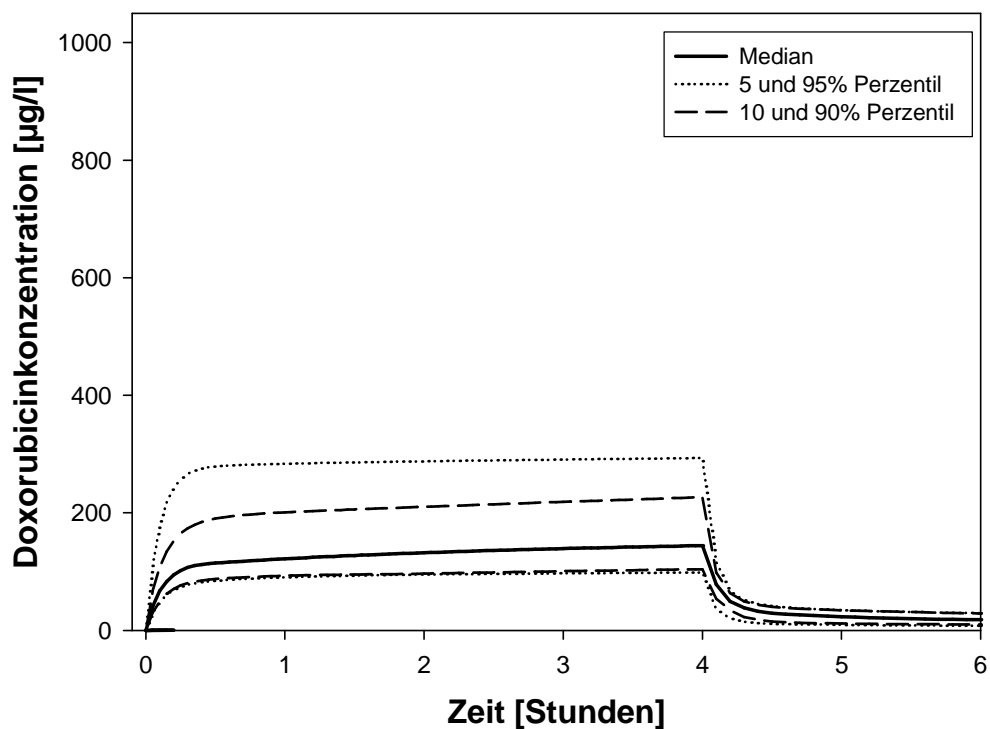


Abbildung 7.1: Doxorubicinsimulation der Erwartungswerte

Doxorubicinkonzentrationsverlauf bei einer 4h Infusion mit einer Dosierung von 30 mg/m²

Den Percentilenkurven liegen folgende simulierte Doxorubicinkonzentrationen zugrunde („steady state“ zwischen 0,5h und 4h).

Tabelle 6.2: Doxorubicinmesswerte der Simulations-Percentilen

Probenentnahme nach Gabe	0,5-4h				
		5. Perzentile	10. Perzentile	90. Perzentile	95. Perzentile
Mittelwert der Konzentration der Erwartungswerte [µg/l]		95	98	212	288

9.4.2 Gemessene Doxorubicin Konzentrationen

In der Annahme, dass sowohl 0,5h als auch 4h nach Infusionsbeginn ein steady state vorliegt, werden die Messwerte beider Entnahmezeitpunkte gemeinsam betrachtet.

Die Messwerte der Doxorubicinproben entsprechen bei den nach m^2 KOF dosierten Infusionen (30 mg/m^2 KOF Dosis und modifizierte mg/m^2 KOF Dosis) größtenteils dem laut Simulation zu erwartenden Doxorubicinkonzentrationsverlauf, auch wenn einige Ausreißer zu verzeichnen sind.

Die Messwerte, die bei einer körpertgewichtsbasierten Infusion erhoben wurden, zeigen keine so hohen Ausreißer, sodass deren Mittelwert geringer ausfällt als der Mittelwert der Probenmesswerte der m^2 KOF Dosierungen. Wie in der Simulation deutlich wird, liegen alle Probenmesswerte der körpertgewichtsbasierten Infusionen sehr nah am Median des simulierten Konzentrationsverlaufs.

In der Probengruppe der 30 mg/m^2 KOF Dosierungen (n=104 Proben) waren die Messwerte am inhomogensten (Tabelle 6.3).

Insgesamt 43% aller Messwerte liegen bei der Probenentnahme 0,5h und 4h nach Infusionsbeginn innerhalb der 10. und 90. Percentile des simulierten Bereichs (90 und 200 $\mu g/l$). 29% der Messwert liegen über 200 $\mu g/l$, 28% unter 90 $\mu g/l$.

Abbildung 7.2 zeigt die Messwerte im Simulationsmodell des für Doxorubicin anzunehmenden Konzentrationsverlaufs (bei einer 4h Infusion mit der Dosis von 30 mg/m^2).

Um die Verteilung der einzelnen Messwerte (DM-Probenentnahmen 0,5h und 3,5h – 4h nach Beginn einer Infusion) besser darzustellen zu können, werden in Abbildung 7.3 die Doxorubicinmesswerte als Box-Plot gezeigt. Hervorgehoben werden die Probenmesswerte, die während einer Infusion mit körpertgewichtsbasierter Dosierung erhoben wurden (rotes Quadrat).

Tabelle 6.3: Messwerte Doxorubicin ($\mu\text{g/l}$)

Dosis	30 mg/m^2	andere m^2 -Dosis range: 20-27 mg/m^2 **	andere m^2 Dosis auf 30 mg/m^2 normalisiert	mg/kg
Probenanzahl n =124	104	10		10
Mittelwert*	173	182	248	119
Median	142	146	195	118
Min	0	98	118	26
Max	1013	312	468	206
Standardabweichung	175	84	130	51

* Messwerte gerundet

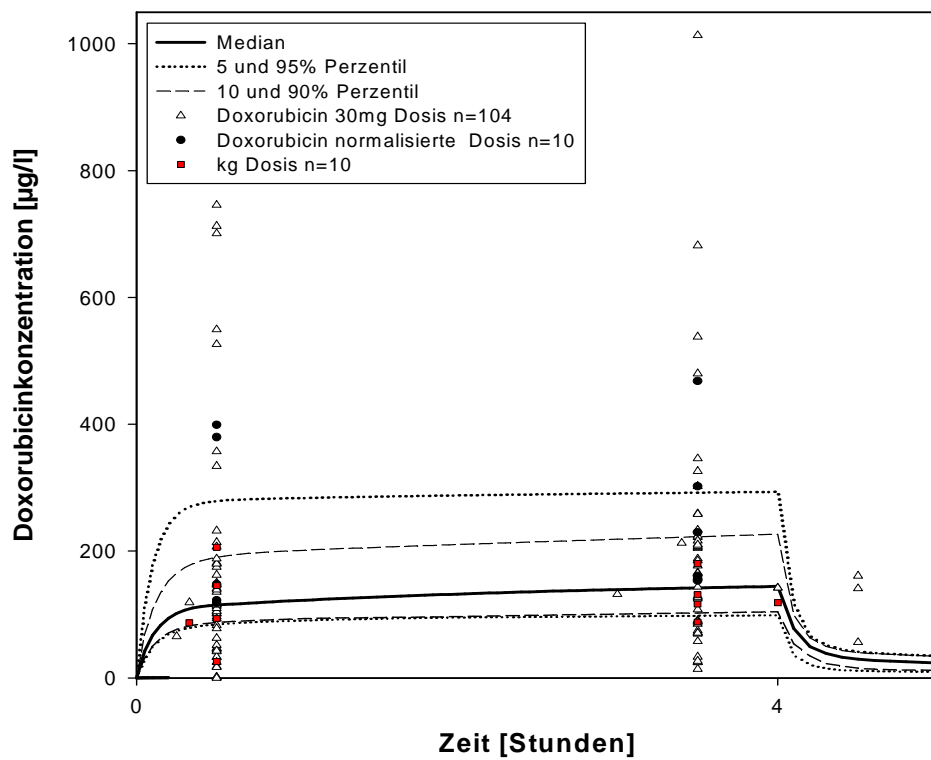
** Umrechnung auf die Protokollstandarddosis von 30 mg/m^2 gemäß Formel 2, Seite 36

Abbildung 7.2: Doxorubicinmesswerte der Simulation (n= 124)

30 mg/m^2 Dosis, modifizierte m^2 Dosis (normalisiert) und körpergewichtsbasierte Dosis, Infusionszeit 4h

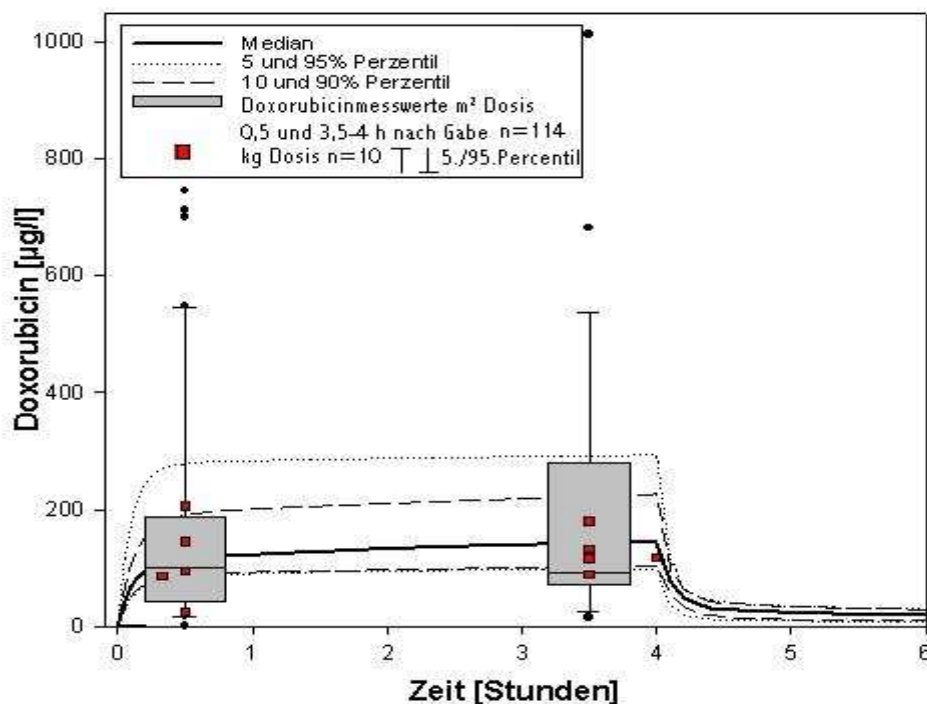


Abbildung 7.3: Doxorubicinmesswerte als Box-Plot

(30 mg/m² Dosis, modifizierte m² Dosis (normalisiert) und körpergewichtsbasierte Dosis, Infusionszeit 4h)

9.4.3 Altersverteilung aller Doxorubicinmesswerte

Ein Großteil der analysierten Proben wurde bei einjährigen Kindern entnommen.

Die Standardabweichung der Messwerte ist in der Gruppe der dreijährigen Patienten am größten. In dieser Alterklasse zeigten sich vermehrt Messwerte, die deutlich über der 95. Perzentile der Erwartungswerte liegen.

Eine körpergewichtsbasierte Dosierung hatten nur 2 Patienten erhalten. Einer dieser Patienten war unter einem Jahr alt, bzw. wurde er im Laufe der Therapie ein Jahr. Die körpergewichtsbasierte Dosierung wurde trotz Vollendung des 1. Lebensjahres beibehalten. Der zweite Patient war genau ein Jahr alt.

4 Proben stammen von einem Patienten der, obwohl er unter einem Jahr alt war, eine nach m² KOF dosierte Infusion erhielt.

Die Messwerte der Probengruppe „bis 1 Jahr“ (körpergewichtsbasierten Dosierungen und nach m² KOF berechnete Dosierungen) liegen sehr dicht beieinander und entsprechen den simulierten Erwartungswerten von Doxorubicin (Tabelle 6.4 und Abbildung 7.4).

Tabelle 6.4: Altersverteilung der Doxorubicinmesswerte

Altersklasse [Jahre]	bis 1	1	2	3	4-8	ab 9
Proben _{gesamt} = 124	8**	47***	11	15	22	21
Mittelwert	86	94	104	389	297	94
Median	71	119	216	746	307	144
Minimum	1	1	42	47	0	17
Maximum	206	526	216	1013	713	213
Standardabweichung	65	99	61	365	200	66

* Messwerte gerundet

** 4 Proben davon nach körperlsgewichtsbasierter Dosierung entnommen

*** 6 Proben davon nach körperlsgewichtsbasierter Dosierung entnommen

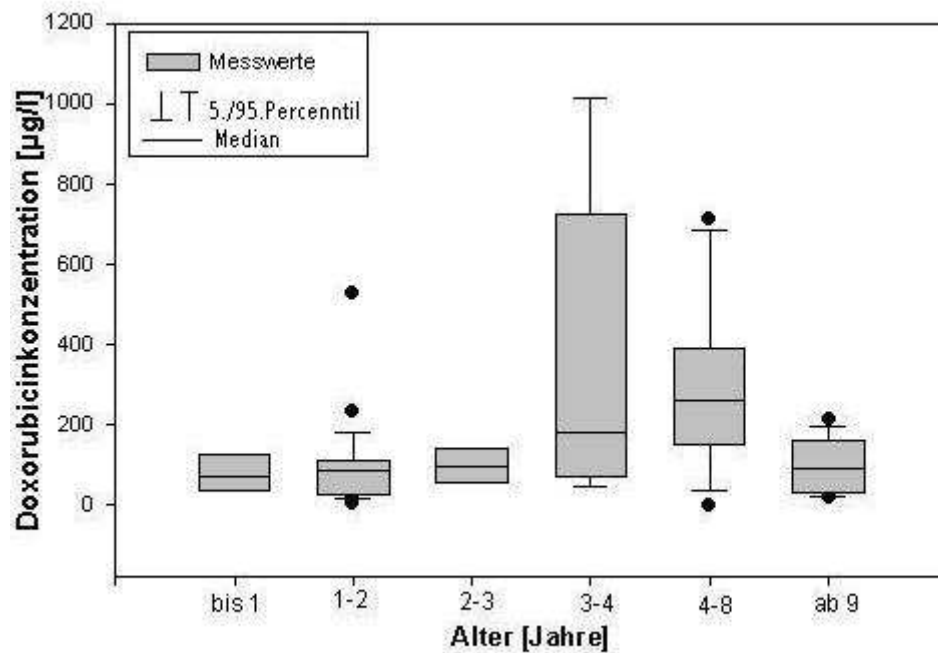


Abbildung 7.4: Altersverteilung der Doxorubicinmesswerte

Diskussion

10.1 Indikation für ein DM in der Pädiatrie

Um Kindern, deren Pharmakokinetik einer hohen Variabilität unterliegt, eine sicherere Arzneimitteltherapie zu ermöglichen, wird vielfach gefordert, die Pharmakotherapie durch ein DM zu überwachen. Nicht zuletzt durch die stetigen Fortschritte der Computer- und Labortechnologie, ist es auch bei einer Chemotherapie möglich, durch ein DM in populations-pharmakokinetischen Studien mehr valide Informationen bezüglich der großen Variabilität von Effektivität und Toxizität zu erhalten. Dies kann dazu beitragen, die pädiatrische Pharmakotherapie perspektivisch zu optimieren (Panetta 2003, Leeder 1997). Inwieweit die Sicherheit und Effektivität einer Pharmakotherapie durch engmaschige Laborkontrollen tatsächlich vorhersehbarer und ggf. kalkulierbarer wird, welche Konsequenzen und welcher wissenschaftliche Nutzen sich aus dem DM ergeben, ist jedoch zu hinterfragen (Groninger 2004).

In einigen Fällen, auch bei der Pharmakotherapie von Erwachsenen, scheint die Durchführung eines DM für eine direkte Therapieüberwachung ratsam. So zum Beispiel bei stark schwankenden physiologischen Bedingungen, wie sie durch eingeschränkte Organfunktionen und kritische Zustände eines Patienten entstehen können. Hier kann eine Dosismodifikation notwendig werden und folglich der dadurch erzielte Plasmaspiegel durch ein DM erfasst werden.

Veal et al. erläutern diese Notwendigkeit eines DM am Beispiel von nephrektomierten Patienten. Sie stellen diesbezüglich heraus, dass „eine allein auf dem Körpergewicht basierende oder fixe Dosis zu einer unbefriedigenden Exposition von Medikamenten führt“ (Veal 2004). Da durch die kindliche Entwicklung die Mechanismen für Resorption, Distribution und Ausscheidung stark beeinflusst werden, besteht bei Kindern eine besonders hohe Variabilität der Pharmakokinetik. Fixe Dosierungen, die aus den für Erwachsene konzipierten Therapieregimen abgeleitet werden, können bei Kindern zu Über- und Unterdosierungen führen (Kearns 1995), was besonders bei der Zytostatikatherapie fatale Folgen haben kann. Die Forderung nach einem DM bei Kindern liegt auf den ersten Blick also besonders nahe.

Marquet et al. stellen jedoch heraus, dass der Aufwand und die Kosten eines generellen Routine-DM ohne gezielte Indikation nicht zu rechtfertigen sind. Das DM bedarf eines teils sehr aufwendigen präanalytischen Managements, seine Aussagekraft und Sicherheit ist durch die daraus resultierende präanalytische Fehleranfälligkeit und durch die technischen Analysegeräte limitiert (Marquet 1999).

Einige der möglichen Limitationen und Störgrößen eines DM zeigen sich auch in dieser Auswertung des NB 97 DM. Die retrospektive Aussagekraft der analysierten Datenbankeinträge ist insofern eingeschränkt, als dass die Einträge sehr inhomogen waren, was die zusammenfassende Auswertung der Daten erschwert. Die Datenbankdokumentation der wichtigen Parameter, wie Art und Weise der Zytostatikaapplikation und der Probengewinnung, unterschieden sich vielfach in ihrer Genauigkeit. Das Alter, die Körpergröße und das Gewicht der Patienten waren immer in der Datenbank vermerkt. Doch weitere Angaben zu Laborparametern, wie dem aktuellen Kreatinin oder den Transaminasen, die Rückschlüsse auf die individuelle Pharmakokinetik ermöglicht hätten, wurden nicht erhoben oder dokumentiert. Diese Angaben fehlten bereits auf den Probenbegleitscheinen, so dass bei der Eingabe der Daten in der Datenbank viele Freitextfelder entstanden.

Die für die Wirkstoffanalyse notwendigen Informationen auf den Anforderungsscheinen, die mit den Proben zusammen in das Labor nach Münster eingeschickt wurden, reichten jedoch offenbar für die Interpretation der Messwerte und die Befundübermittlung an die Kliniken aus.

Die Teilnahme an dem hier beschriebenen DM im Rahmen des NB 97 Neuroblastomprotokolls war für die Kliniken, die nach diesem Protokoll therapieren, nicht verpflichtend. Das DM wird im NB 97 Protokoll jedoch als ein „wichtiges Studienziel“ definiert (Berthold 1998). Durch das DM sollte optional eine Kontrolle der Therapieintensität und Dosierung der Chemotherapie ermöglicht werden. Die Möglichkeit der Erfassung der real erzielten Wirkstoffexposition durch das DM soll die „individuellen Schwankungsbreiten der Wirkstoffexpositionen“ aufzeigen (Berthold 1998), um folglich, wie vielfach gefordert, eine bessere, individuelle Arzneimitteltherapie zu ermöglichen (Cole 2006, Panetta 2003, Leeder 1997). Dies stützt sich auf die Annahme, dass sich das Prinzip der „maximal tolerierten Dosis“ einer Zytostatikadosierung (MTD), aufgrund der hohen interindividuellen Variabilität der Pharmakokinetik, nicht auf alle Patienten anwenden lässt (Crom 1994).

Doch nur 22% der an der NB 97 Studie teilnehmenden Kliniken verschickten im betrachteten Zeitraum von 1997-2004 DM-Proben zur Analyse der Zytostatikakonzentrationen nach Münster. Der Abgleich der NB 97 DM Daten mit den Neuroblastominzidenzen des deutschen Kinderkrebsregisters zeigt, dass bei nur 7% der Neuroblastompatienten während einer Chemotherapie ein DM durchgeführt wurde. Offensichtlich fühlten sich die behandelnden Ärzte bei dem Großteil der

Chemotherapien und Dosisberechnungen auch ohne das DM sicher genug und konnten auf diese Kontrollmöglichkeit der tatsächlich erzielten Wirkstoffexposition verzichten.

Die DM Probenanzahl variierte zudem sehr stark. Sowohl die Anzahl der insgesamt von einer Klinik verschickten Proben, als auch die Anzahl der Proben, welche pro Patient während einer Therapie entnommen und verschickt wurden.

Es konnte allerdings gezeigt werden, dass die meisten Proben bei sehr jungen Patienten (Altersgruppe 13 bis 36 Monate) entnommen wurden - bei diesen Patienten war der Bedarf für eine Therapiekontrolle durch ein DM offenbar höher als bei älteren Kindern.

Deutlich zu erkennen ist zudem, dass der Großteil der DM-Proben (32%) in der Universitätsklinik Münster entnommen wurden. Allein aufgrund der Nähe zum Labor bestand hier der geringste logistische Aufwand und die Befundübermittlung war innerhalb eines kürzeren Zeitraums möglich. Auch wenn das DM nicht als ein therapeutisches DM (TDM) angelegt war, konnten in Münster mögliche therapeutische Konsequenzen für folgende Therapiezyklen besonders zeitnah gezogen werden.

Die Zeit zwischen der Probenentnahme in einer anderen Klinik und des Probeneingangs im Labor in Münster variierte hingegen stark. Teils dauerte die Ergebnismitteilung der Zytostatikakonzentration länger als eine Woche, sodass diese Befunde für die aktuelle Durchführung der Therapie wenig relevant waren.

Die DM-Ergebnisse können allenfalls Hinweise auf die individuelle Zytostatikaexposition in folgenden Chemotherapiezyklen liefern und zum besseren Verständnis der pädiatrischen Pharmakokinetik und -dynamik beitragen.

Im Folgenden wird anhand des Patienten, der Carboplatin im Rahmen der NB 97 Chemotherapie in einer reduzierten Dosierung erhielt, betrachtet, inwieweit das DM in diesem Fall zu einer Optimierung der Therapie führte. Genauer, ob die Therapiesicherheit und deren Effektivität (= Erreichen von Zielplasmakonzentrationen) durch das DM tatsächlich unterstützt wurde. Der Patient erhielt sowohl Carboplatin als auch Etoposid im Rahmen einer Megatherapie. Das Carboplatintherapieregime wurde vor Beginn der Chemotherapie aufgrund der nur einseitig angelegten Niere dahingehend geändert, dass der Patient eine reduzierte Carboplatindosis erhielt. Es existieren vier Carboplatinmesswerte von diesem Patienten. Die Dosierung einer Carboplatintherapie wird, basierend auf der aktuellen GFR des Patienten, mittels der

Gleichung von Calvert berechnet (Calvert 1989, siehe auch Seite 25). Mit Calverts Formel soll eine individuellere Dosierung möglich sein, die besser mit den therapeutischen und toxischen Effekten des Zytostatikums korreliert. Allerdings berücksichtigt diese Dosierungsgrundlage keine anderen Faktoren wie zum Beispiel vorangegangene Chemotherapien (Busse 2003). Auch andere Berechnungen wurden für die Dosisanpassungen aufgestellt, unter anderem von Chatelut, mit der die Carboplatin-clearance direkt berechnet werden kann. Nagao et al. stellten diese unterschiedlichen Formeln 2005 gegenüber und forderten aufgrund der doch großen Variabilität betreffend der berechneten Clearance eine Standardisierung der Formeln (Nagao 2005).

Wird durch die Anwendung der genannten Formeln das Ziel der adäquaten Dosierung also nur eingeschränkt zuverlässig erreicht? Vor allem für Patienten, deren renale Funktion eingeschränkt ist, forderten bereits mehrere Autoren anstelle der Dosisberechnung mithilfe der o.g. Formel von Calvert, eine DM kontrollierte Dosierung vorzunehmen (Koren 1993, Kintzel 1995, English 1996, Veal 2004). Auch Rubie et al. erachteten die Kontrollmöglichkeit der Ziel-AUC durch ein DM als effizienter als die durch Calverts Formel (Rubie 2003).

Die Darstellung der vier gemessenen Plasmakonzentrationen des o.g. Patienten im Carboplatinsimulationsmodell zeigt, dass nach Verabreichung der reduzierten Dosis Konzentrationen im therapeutischen Bereich erreicht wurden. Der Messwert fiel nach der ersten Gabe noch gering aus und lag nach der zweiten und dritten Carboplatininfusion im hochnormalen Bereich. Die Berechnung der Dosis war in diesem Fall korrekt vorgenommen worden, die intraindividuellen Schwankungen der Messwerte waren gering. Das DM hat hier im Nachhinein die Richtigkeit der Dosierung aufgezeigt.

Die klinische Relevanz des DM ist hier jedoch insofern in Frage zu stellen, als dass der aktuelle Zytostatikaspiegel nicht unmittelbar angefordert wurde, sondern erst Tage nach der Blutabnahme im Labor bestimmt wurde. Zudem lagen „starke physiologische Schwankungen“, die ein DM rechtfertigen würden, in diesem Fall offensichtlich nicht vor. Die Dosis wurde nur ein einziges Mal berechnet, betrug bei allen Gaben 218 mg/m² und wurde somit nicht täglich an die aktuelle GFR des Patienten angepasst. Weitere potentielle Gründe, warum bei diesem Patienten ein DM durchgeführt wurde, waren aus dem hier betrachteten Datensatz nicht zu entnehmen.

Die 25 Carboplatinmessergebnisse entsprechen zu 84% den simulierten Plasmaspiegelverläufen, nur vier Messwerte fielen zu hoch aus. Eine Überschreitung der anzunehmenden Peakplasmaspiegel trat gar nicht auf, ebenso kam es zu keiner Unterdosierung. Die Therapie bzw. die Dosisberechnung wurde beim Carboplatin demnach, auch wenn hier nur 25 Messwerte zur Beurteilung herangezogen werden können, korrekt durchgeführt. Die durch das DM erfassten Carboplatinkonzentrationen werden den Erwartungswerten gerecht.

Bei einer Cisplatintherapie stellt die potentielle Nephrotoxizität eine große Schwierigkeit der Therapie dar. Eine kontrollierte, durch ein DM überwachte Dosierung, wird von Bin und Rubie bei jeder Verabreichung von Platinkomplexen an Kinder gefordert. Die Forderung stützt sich auf die Tatsache, dass die „interindividuelle Variabilität der Pharmakokinetik sehr groß ist“ (Bin 1994, Rubie 2003). Ein DM scheint laut diesen Autoren in bestimmten Fällen, wie möglich auftretenden Nebenwirkungen oder bei Organschäden, indiziert zu sein. Doch zeigen andere Studien, dass das individuelle Risiko, zum Beispiel der Grad der Myelosuppression (Veal 2001), bei einer Cisplatintherapie nicht nur von der Pharmakokinetik allein, sondern von vielen anderen Faktoren abhängt. Der individuelle Wirk- und Eliminationsprozess wird auch von anderen Wegen als ausschließlich der renalen Elimination bestimmt (Peng 1997, Veal 2001).

Warum hier bei einigen Cisplatintherapien (n= 7 Proben) eine andere als die Protokolldosis von 40 mg/m²/Tag verabreicht wurde, war in der Datenbank (und auf den Laboranforderungsscheinen) nicht dokumentiert. Es ist anzunehmen, dass eine Verringerung der Dosis in den während der Therapie aufgetretenen Nebenwirkungen begründet liegt (z.B. potentielle Verminderung des Hörvermögens durch die Ototoxizität oder eine beginnende Niereninsuffizienz).

Eine aus diesem Grund modifizierte Therapie durch ein DM zu kontrollieren, scheint ratsam. Die potentielle Nephrotoxizität kann selber eine nicht zu vernachlässigende Einflussgröße auf die Pharmakokinetik darstellen. Um diese Einflussgröße einschätzen und auf sie reagieren zu können, müsste die Cisplatinapplikation demnach stetig mit dem aktuellen Kreatinin abgeglichen werden. Eine solche Vorgehensweise kann durch die Auswertung des NB 97 DM jedoch nicht belegt werden.

Insgesamt ist festzustellen, dass die gemessenen Cisplatinmesswerte am Ende der 96h Dauerinfusion weitaus öfter über dem simulierten Konzentrationserwartungsbereich liegen als 24h nach Beginn der Therapie (nach 24h

lagen 70% der Messwerte, nach 96h nur noch 35% der Messwerte innerhalb der 10. - 90. Perzentile). Die gemessenen freien Cisplatinkonzentrationen fielen ebenfalls bei 33% der Proben zu hoch aus (Messwerte >95. Perzentile), was sich durch die herabgesetzte Proteinbindungsfähigkeit bei Kindern erklären lässt (Ginsberg 2002).

Die Clearance des Cisplatins korreliert zwar positiv mit dem Alter der Patienten (Murakami 1990), doch ist in dieser Auswertung nicht zu erkennen, dass bei den älteren Patienten durchschnittlich geringere Plasmaspiegel erzielt wurden.

Auch für Etoposid wurden mehrfach DM kontrollierte Therapien gefordert. Lowis beschrieb 1993, dass eine Etoposidtherapie, die nur auf einer pauschalen m^2 KOF Dosierung basiert, zu Über- und Unterdosierungen führen kann. Das DM der Etoposidchemotherapie kann in vielen Fällen eine Modifizierung der Dosis ermöglichen und somit eine adäquatere Dosisexposition gewährleisten (Lowis 1993).

In dieser DM Auswertung zeigt sich, dass die Probenmesswerte des Etoposids zu 42% innerhalb der 10. - 90. Perzentilenkurve (= 2,1 - 3,8 mg/l) des simulierten Konzentrationsverlaufs lagen. Weitere 13% der Messwerte lagen nur gering darüber. Die entsprechenden Dosierungen des Protokolls (Dosis: 100 mg/ m^2 /Tag) und die Annahme der pharmakokinetischen Eigenschaften für Etoposid waren also bei 55% der Therapien korrekt.

Mehr als die Hälfte der Messwerte die im simulierten Verlauf der Erwartungswerte lagen (58 %), entsprechen dem neu definierten, therapeutischen Etoposidzielbereich von 2 - 3 mg/dl. Die NB 97 Protokollmodifikation der Etoposiddosis, die im Vergleich zum alten Neuroblastomprotokoll eine um 25 mg/ m^2 geringere Dosierung des Etoposids vorsieht, ist demnach als überwiegend richtig zu beurteilen. Die Dosisänderung auf 100 mg/ m^2 /Tag im NB 97 Protokoll hat zur gewünschten Optimierung der Plasmaspiegel geführt. Diese wurde durch das durchgeführte DM erfasst.

Die Variabilität der Etoposidpharmakokinetik, und somit eine mögliche Ursache der inhomogenen Messergebnisse, lässt sich unter anderem durch eine vorherige oder gleichzeitige Therapie mit Cisplatin erklären (N5 Block im NB 97 Protokoll). Die Etoposidclearance wird durch die potentielle Nephrotoxizität des Cisplatins vermindert, so dass höhere Etoposidplasmakonzentrationen resultieren. Die Metabolisierung des Etoposids durch die CYP-Enzym-Systeme der Leber, die in den unterschiedlichen Entwicklungsstufen der Kinder in ihrer Potenz stark variieren, erklärt ebenfalls die breite Streuung und eher schwierige Vorhersagbarkeit der Etoposidpharmakokinetik.

Angaben zu einer weiteren möglichen Komedikation, die durch eine CYP-Interaktion direkten Einfluss auf die Pharmakokinetik nehmen kann (z.B. durch Prednison), fehlten bei dem hier betrachteten Datensatz, so dass diesbezüglich im Einzelfall keine Erklärung für stark abweichende Messwerte vom Zielwert ableitbar ist.

Die geringere Quantität und ggf. andere Qualität von P-Glycoproteinen (Transmembranproteinen) bei Kindern, die auch in den Membranen von Tumorzellen gefunden wurden, könnten einen weiteren bedeutenden Unterschied des Metabolismus von Zytostatika erklären, hier besonders auch bei Etoposid und Doxorubicin (Brosi 2004). Somit stellen diese eine weitere Einflussgröße auf die zytostatische Potenz eines Medikamentes dar und können notwendige Dosierungsmodifikationen erfordern. Diesbezügliche Erkenntnisse sind jedoch noch rar und es bedarf weiterer Studien um diese Einflussgröße besser einschätzen zu können (Kearns 2003).

Auch die Auswertung der Doxorubicinproben zeigt eine breite Streuung der gemessenen Plasmakonzentrationen. Die Verabreichung des Doxorubicins als 4h-Infusion an zwei aufeinander folgenden Tagen ist im Vergleich zu den vorherigen Neuroblastomprotokollen neu. Diese Änderung soll eine Reduzierung der Schleimhauttoxizität ermöglichen, ohne dabei die Kardiotoxizität durch Doxorubicin zu erhöhen (Berthold 1998). Diese neue Infusionszeit von 4h führte zu Konzentrationen, die zu ca. 30% über der 90. und zu ca. 30% unter der 10. Percentile der simulierten Erwartungswerte lagen. Inwieweit dadurch auch die angestrebte Reduktion der Toxizität erreicht werden kann, welche besonders von der Peakplasmakonzentration des Doxorubicins abhängt (Li 2003, Hempel 2002), muss durch weiterführende klinische Betrachtungen gezeigt werden. Eine Steuerung der Doxorubicindosis über die erzielte Plasmakonzentration scheint schwierig.

Interessanterweise korrelierten die Messwerte der körperrgewichtsbasierten Doxorubicindosierungen am besten mit den simulierten Konzentrationserwartungswerten. Die Messwerte der unter Einjährigen, der Zwei-Dreijährigen und der Kinder ab 9 Jahren, ähneln sich zudem am meisten. Sie fallen auch nicht, wie viele Messwerte der Kinder zwischen drei und acht Jahren, zu hoch aus. Die Altersabhängigkeit der Doxorubicinclearance hatte auch Li gezeigt (Li 2003). Da der Großteil des Doxorubicins (bis zu 80%) in der Leber metabolisiert wird und die Enzymsysteme (CYPs, Glucuronidierungsenzyme) wie anfangs beschrieben, einer

großen altersabhängigen Variabilität unterliegen, ist die altersabhängige Streuung der Messwerte nachvollziehbar.

Zusammenfassend ergibt sich unabhängig von den Altersklassen bei allen vier betrachteten Chemotherapeutika ein großer Schwankungsbereich der Messwerte. Die Carboplatinmesswerte korrelieren am besten mit dem simulierten Konzentrationsverlauf (Messwerte zwischen der 10. - 90. Percentile: Carboplatin 84%, Cisplatin 70%/35% (24h/96h Wert), Doxorubicin 43%, Etoposid 38% (davon 58% in neuen Zielbereich der Plasmakonzentration)).

Die Zytostatikadosierungen des Chemotherapieprotokolls NB 97 führten retrospektiv betrachtet überwiegend zu gewünschten Plasmakonzentrationen der Medikamente im Zielbereich und waren demnach richtig.

Nur bei den Etoposid-DM-Proben der Säuglingsdosierung (körpergewichtsbasiert, mg/kg KG), die anders als die m² KOF Dosierungen im NB 97 Protokoll nicht reduziert worden war, zeigten sich verhältnismäßig hohe Plasmakonzentrationen. Die hieraus resultierende Annahme, dass auch die Etoposidsäuglingsdosis reduziert werden sollte, müsste mit einem größeren Patienten- und Probenkollektiv überprüft werden.

Aufgrund des inhomogenen Probenkollektivs der Datenbank und der großen Variabilität der Messwerte, lassen sich aus diesen DM-Ergebnissen keine neuen eindeutigen Dosierungsempfehlungen ableiten.

Ein Vergleich der Etoposidkonzentrationen aus Münster mit den Etoposidmessergebnissen aus anderen Kliniken ist nur bedingt möglich, da die Anzahl der Hochdosistherapieproben differierte. Berücksichtigt man die Hochdosistherapiemessergebnisse nicht, zeigt sich kein signifikanter Unterschied der Etoposidkonzentrationen. Die Konzentrationen, die dem simulierten Verlauf des Etoposids entsprechen, machen bei den Proben aus Münster 40%, bei den Proben der anderen Kliniken 53% aus. Offensichtlich stellt die Ortsnähe zum Labor in dem die Proben untersucht werden demnach keinen begünstigenden Einflussfaktor auf die Messwerte dar.

Betrachtet man die hohe Anzahl aller Medikamentenproben die aus der Universitätsklinik Münster stammen (32% aller in der Datenbank eingetragenen Proben), wird jedoch deutlich, dass die Ortsnähe zum Labor die Quantität der DM-Durchführung positiv beeinflusst.

Die Gegenüberstellung der „tatsächlich erzielten Etoposidkonzentrationen“ mit den für die Simulation auf die 100 mg/m²-Dosis umgerechneten Messwerten (bei der Therapie mit einer reduzierten Etoposiddosis) zeigt, dass die verabreichten modifizierten Dosierungen überwiegend zu Konzentrationen im Zielbereich geführt haben. Der Konzentrationsmittelwert der DM-Proben einer m² KOF Dosierung liegt sowohl bei den Proben einer 100 mg/m²-Dosis als auch bei den reduzierten m² KOF Dosierungen mit 3 mg/l im neuen Etoposidkonzentrationszielbereich. Erst nach Umrechnung/Normalisierung auf die 100 mg/m² KOF Dosis imponieren die Etoposidkonzentrationen in der Simulation als höher. Dies verdeutlicht, dass bei einer fehlenden Dosisreduktion zu hohe Etoposidkonzentrationen erzielt worden wären. Das DM konnte hier zeigen, dass durch eine Dosisimodifikation eine gewünschte Plasmakonzentration erreicht wurde und die Dosisanpassung demnach berechtigt war. Diese Information kann für die Dosisberechnung eines zweiten Therapiezyklus hilfreich sein. Es darf dabei jedoch nicht außer Acht gelassen werden, dass zum Zeitpunkt des zweiten Zyklus bereits andere pharmakokinetische Bedingungen vorliegen können als zum Entnahmezeitpunkt der ersten DM-Probe.

Das DM darf nicht als eine Art alleiniger Sicherheitsgarant betrachtet werden oder eine aktuelle, klinische Therapieeinschätzung weniger wichtig erscheinen lassen.

10.2 Körpergewichtsbasierte Dosierungen für unter Einjährige

Eine weitere Frage war, inwieweit eine körpergewichtsbasierte Dosierung einer Zytostatikatherapie bei unter Einjährigen sinnvoll ist. Die interindividuelle Variabilität der Pharmakokinetik und die Proteinbindungsfähigkeit von Medikamenten ist bei Kindern und besonders bei sehr jungen Kindern ausgeprägt, zudem fällt bei ihnen die KOF verhältnismäßig größer aus (Ginsberg 2002). In der Annahme, dass eine Dosisberechnung über die verhältnismäßig größere KOF bei diesen Kindern potentiell zu Überdosierungen führen kann, wird bei vielen Pharmakotherapien nach wie vor an der körpergewichtsbasierten Dosierung für unter Einjährige festgehalten, die geringer als eine m² KOF Dosierung ausfällt. Doch teilweise laufen Wirkstoffeliminationsprozesse bei Säuglingen sogar schneller ab als bei älteren Kindern und ihr Verteilungsvolumen ist größer, was folglich zu niedrigeren Wirkstoffkonzentrationen führen kann (Kearns 2003). Demnach wird die Indikation für eine körpergewichtsbasierte Dosierung, die allein aufgrund des Alters der Patienten gestellt wird, kritisch gesehen (Boos 1993, Palle 2006). Boos konnte in einer Untersuchung von Etoposidkurzinfusionen diesbezüglich zeigen, dass sich die

dosisunabhängigen pharmakokinetischen Parameter von unter Zweijährigen nicht von Älteren unterscheiden und unterstützt mit seiner Untersuchung die körperrgewichtsbasierte Dosierung bei Säuglingen nicht (Boos 1993).

Der DM-Datensatz der körperrgewichtsbasierten Dosierung stützt sich auf sieben Cisplatinproben, zehn Etoposidproben und zehn Doxorubicinproben. Aufgrund dieses kleinen Kollektivs ist die Aussagekraft der Daten eingeschränkt. Nicht alle dieser Dosisberechnungen, basierend auf dem Körpergewicht der Patienten, wurden an unter Einjährige verabreicht. Auch einjährige Kinder hatten teils eine körperrgewichtsbasierte Dosierung erhalten, genauso wie unter Einjährige eine mg/m^2 KOF Dosis erhalten hatten. Eine Begründung für diese Abweichung vom NB 97 Therapieplan wurde in der Datenbank nicht dokumentiert.

Da die durchschnittliche DM-Etoposidkonzentration der körperrgewichtsbasierten Dosierungen weniger mit den simulierten Konzentrationsverläufen korreliert als die der nach m^2 KOF dosierten Infusionen (s.o.), kann auch mit dieser Auswertung kein Vorteil einer körperrgewichtsbasierten Etoposiddosierung für Säuglinge festgestellt werden.

Die Doxorubicintherapie führte bei körperrgewichtsbasierter Dosisberechnung zwar zu Konzentrationen, die sehr nah am Median der simulierten Erwachsenenmesswerte lagen. Ebenso aber auch die Konzentrationen, die nach Verabreichung einer m^2 KOF Dosis bei unter Einjährigen und Einjährigen gemessen worden waren. Ein Unterschied oder Vorteil der körperrgewichtsbasierten Dosisberechnung zeigt sich also auch für Doxorubicin nicht.

Insgesamt ist festzustellen, dass Therapien mit einer körperrgewichtsbasierten Dosierung, ebenfalls eine große Variabilität der erzielten Zytostatikakonzentrationen zur Folge haben können und diese in allen Altersklassen vorliegt. Der körperrgewichtsbasierte Applikationsweg ist zudem nicht stringent protokollkonform umgesetzt worden, sondern wurde auch bei älteren Kindern angewandt. Dies unterstützt die Vermutung, dass Empfehlungen bezüglich der Applikation und Dosierung besonders bei Kindern nicht absolut und allgemeingültig sein können. Die Therapieregime werden offensichtlich und notwendigerweise von den behandelnden Ärzten an individuelle Faktoren und Einflussgrößen angepasst.

10.3 Klinische Konsequenzen und Grenzen des NB 97 DM

Für viele Autoren ist die beschriebene Variabilität der Pharmakinetik und -dynamik Grund genug ein therapeutisches DM zu fordern, um dadurch den einzelnen Patienten und deren physiologischen Bedingungen, die durch „Unterschiede des Geschlechts, Alters, der Organfunktion und nicht zuletzt durch mögliche genetische Polymorphismen des Stoffwechsels bestehen“, gerecht werden zu können (Leeder 1997, Panetta 2003).

Die klinischen, therapeutischen Konsequenzen, die sich aus zu hoch oder zu niedrig gemessenen Plasmakonzentrationen ergeben, waren im hier betrachteten Datensatz nicht aufgeführt. Es handelte sich nicht um ein therapeutisches Drugmonitoring (TDM). Die klinische Relevanz des DM und somit mögliche Vorteile während der Therapie sind somit retrospektiv betrachtet nicht ersichtlich (z.B. Reduktion möglicher Toxizitäten durch einen Sicherheitsgewinn durch das DM, oder ein besseres Outcome durch eine Effektivitätssteigerung der Therapie).

Doch würde ein intensiveres DM oder ein TDM der Therapie tatsächlich Vorteile bringen? Die Individuelle Schwankungsbreite der Wirkstoffexposition zu erfassen und mögliche toxische Konzentrationen aufzudecken, kann durch die Entnahme von einigen wenigen DM-Proben erreicht werden. Ein TDM, welches primär zur DosisEinstellung und der Kontrolle von Wirkstoffkonzentrationen im therapeutischen Bereich angewandt wird, erfordert hingegen noch regelmäßige Probenentnahmen. Im Hinblick auf die schon jetzt geringe Teilnahme am NB 97 DM ist eher fraglich, ob ein zeitaufwendiges Konzept wie das TDM in der pädiatrischen Onkologie tatsächlich nachhaltig und etablierbar wäre. Vinks stellte zum TDM 2007 klar: „Ein korrekt angewendetes TDM besitzt insbesondere bei pädiatrischen Patienten einen hohen Nutzen. Damit das volle Potenzial ausgeschöpft wird, müssen jedoch viele Defizite im Wissensstand und in der Anwendung des TDM beseitigt werden. Ein einfaches „reaktionäres“ TDM kann nutzlos, ja sogar gefährlich sein“ (Vinks 2007). Zudem ist ein TDM oder DM in der Durchführbarkeit oftmals gerade bei Kindern schwieriger als bei Erwachsenen (auch aufgrund der oft notwendigen invasiven Materialgewinnung), wie Pichini unlängst in einer Analyse zum TDM bei der Therapie mit psychotropen Substanzen in der Pädiatrie zusammenfasste (Pichini 2009).

Es müssten vermehrt neue, weniger invasive, effiziente und standardisierte Maßnahmen und praktikable Konzepte für ein DM und auch für dessen Dokumentation entwickelt werden. So könnte es besser in der Pharmakotherapie etabliert werden und

folglich einen wissenschaftlichen und therapeutischen Nutzen liefern, der den Aufwand des DM rechtfertigt.

Die Variabilität der erfassten DM-Messwerte erklärt sich zudem nicht nur durch schwankende physiologische Bedingungen, sondern auch durch präanalytische Fehler, die im Rahmen eines DM auftreten können (Marquet 1999). Diese möglichen Fehler in der Präanalytik sind multifaktoriell und machen den größten Anteil der Fehler bei Laboruntersuchungen aus (Stankovic 2004). Die Art und Weise wie eine Infusion verabreicht wird, welches Volumen und welche Infusion parallel appliziert wird, führt dazu, dass eine Therapie nie komplett standardisiert abläuft. Diese Einflussgrößen wirken sich auf die Plasmakonzentrationen, die durch ein DM erfasst werden, aus (Stephan 2006). Auch die Materialgewinnung ist fehleranfällig. Selbst wenn Standards für die Entnahme der Zytostatikaproben existieren, ist es allein durch das wechselnde Personal und die möglichen Unterschiede bei Infusionssystemen und Blutentnahmematerialien nicht möglich, von genau gleichen Bedingungen auszugehen. Die weitere Handhabung und schließlich der Versand der Proben kann ebenfalls vielfach variieren und stellt mögliche Fehlerquellen bei der späteren Analyse und Interpretation der Messwerte dar.

Nicht zu vergessen ist auch, dass ein DM eine invasive Maßnahme darstellt, die eine zusätzliche Belastung für die Kinder bedeutet, sofern es nicht im Rahmen einer regulär vorgesehenen Blutentnahme erfolgt. Es müssten demnach auch weniger invasive Maßnahmen für das Monitoring entwickelt und angestrebt werden (Cole 2006, Bailey 1997).

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass ein DM besonders dann sinnvoll ist, wenn sich physiologische Veränderungen einstellen, oder bereits vor einer Therapie Einflussgrößen vorhanden sind (z.B. Niereninsuffizienz oder eine bestimmte Komedikation), die eine potentielle Auswirkung auf die Pharmakodynamik und -kinetik eines Medikamentes haben können. Die durch eine individuell modifizierte Dosierung erreichten realen Wirkstoffkonzentrationen können durch ein DM kontrolliert werden.

Das DM bleibt jedoch eine Momentaufnahme während einer Therapie und ignoriert die Pharmakodynamik, die Therapieeffekte vor und nach einer Probenentnahme. Somit kann ein DM nur ein eingeschränktes Hilfsinstrument bei der Durchführung und Effektivitätsbeurteilung einer Pharmakotherapie sein. Die große Variabilität der Pharmakodynamik und -kinetik stellt, besonders in der Pädiatrie, nach wie vor eine große Herausforderung dar. Weitere Einflussgrößen, sowie besonders die klinische,

individuelle Einschätzung durch den behandelnden Arzt, müssen stets in ein Therapiekonzept miteinbezogen werden.

10.4 Ausblick

Durch das hier durchgeführte DM konnte die Richtigkeit der Chemotherapie im Rahmen des NB 97 Protokolls aufgezeigt werden. Es gibt interindividuelle Schwankungen der Messwerte aller vier betrachteten Medikamente, doch wurden keine therapeutischen Konsequenzen dokumentiert und es lassen sich keine weiteren Dosierungsempfehlungen ableiten.

Ein DM kann anhand dieser Daten nicht generell empfohlen werden, auch wenn dies vielfach gefordert wird, um einer pädiatrischen Pharmakotherapie besser gerecht zu werden.

Für Carboplatin existieren inzwischen sehr viele Publikationen und Kenntnisse zu Pharmakodynamik und -kinetik, so dass auch in der Pädiatrie ein recht kalkulierbarer und sicherer Einsatz des Zytostatikums möglich ist (Cole 2006).

Die Cisplatintherapie würde durch einen regelmäßigen Abgleich mit dem aktuellen Serumkreatinin kalkulierbarer werden.

Um perspektivisch auch für Doxorubicin die Chemotherapie bei Kindern zu optimieren, wird derzeit ein neues EU-Forschungsprojekt zur Doxorubicin-Säuglingspharmakokinetik auf den Weg gebracht.

Bei komplexen und schwer invasiven Therapien wie der Chemotherapie ist zunächst jedoch noch nicht davon auszugehen, dass durch Studien und eine offizielle Zulassung der Medikamente für Kinder ganz vom off-label-use Abstand genommen werden kann. Fraglich bleibt, inwieweit neue Gesetze und Anreize die Pharmaindustrie tatsächlich zu Kinderstudien anregen und wie viel Verbesserung dadurch wirklich eintritt. So bleibt es vorerst weiterhin in den Händen der behandelnden Ärzte und Kompetenzzentren eine möglichst effektive, jedoch wenig schädliche Chemotherapie bei Kindern durchzuführen und diese zu verantworten.

Literaturverzeichnis

- 1 Alcorn J, McNamara PJ (2003) Review: "Pharmacokinetics in the newborn"
Advanced Drug Delivery Review 55: 667-686
- 2 Ambros IM, Zellner A, Roald B, Amann G, Ladenstein R, Printz D, Gadner H,
Ambros PF (1996) "Role of ploidy, chromosome 1p, and Schwann cells in the
maturation of neuroblastoma" N Engl J Med 334(23): 1505-11
- 3 Anderson GD and Lynn AM (2009) "Optimizing pediatric dosing: a
developmental pharmacologic approach" Pharmacotherapy 29(6): 680-90
- 4 Bailey B, Klein J, Koren G (1997) "Noninvasive methods for drug measurement
in pediatrics" Pediatr. Clin. North Am 44(1): 15-26
- 5 Benjamin DK, Smith PB, Murphy MD, Roberts R, Mathis L, Avant D, Califf RM,
Li JS (2006) "Peerreviewes publication of clinical trials completed for pediatric
exclusivity" JAMA 2006; 296 (10): 1266-1273
- 6 Benninger-Döring G, Boos J (2006): „Arzneimittelentwicklung in der
Kinderonkologie“ Klin. Pädiatrie 2006; 218:152-156
- 7 Berthold F (1998) "Kooperative multizentrische Therapieoptimierungsstudie für
die Behandlung von Säuglingen, Kindern und Jugendlichen mit Neuroblastom
(Neuroblastomstudie NB 97)" Studienprotokoll, Stand 30.09.1998, Köln
- 8 Bertolini P, Mercier G, Raquin MA, Izzi G, Corradini N, Hartmann O (2004)
"Platinum compound-related ototoxicity in children: long-term follow-up reveals
continuous worsening of hearing loss" J Pediatr Hematol Oncol 26(10): 649-55
- 9 Bin P, Boddy AV, English MW, Pearson AD, Price L, Tilby MJ, Newell DR
(1994) "The comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of cisplatin
and carboplatin in paediatric patients: a review" Anticancer Res 14(6A): 2279-
83

- 10 Blumer J (2007) in „Drug research in children“
<http://www.fda.gov/Drugs/ResourcesForYou/Consumers/ucm143565.htm>,
Abfrage Mai 2009
- 11 Bode-Böger SM (2003) "Therapeutisch Drugmonitoring- Indikation und Interpretation" In: Fröhlich, Kirch: Praktische Arzneimitteltherapie (4) 34-38
- 12 Boos J (2005) "Quality requirements governing non-commercial clinical trials within the framework of clinical drug development in humans in the EU- Challenges, opportunities, and questions experienced by treatment centres" Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 48(2):196-203
- 13 Boos J, Real E, Schulze-Westhoff P, Pröbsting B, Wolff J, Jürgens H (1993) "Pharmacokinetics of etoposide short-term infusions within the scope of the GPOH therapy protocol" Klin Padiatr 205(4): 288-94
- 14 Brock PR, Yeomans EC, Bellman SC, Pritchard J (1992) "Cisplatin therapy in infants: short and long-term morbidity" Br J Cancer Suppl 18: S36-40
- 15 Brodeur GM, Pritchard J, Berthold F, Carlsen NL, Castel V, Castelberry RP, De Bernardi B, Evans AE, Favrot M, Hedborg F (1993) "Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment" J Clin Oncol 11(8): 1466-77
- 16 Brosi A (2004) "Interaktionen mit P-Glykoprotein" PZ Prisma 11, 133-139
- 17 Busse T (2003) "Carboplatin dosing accounting for the renal and hematologic status of patients" Clin J Oncol Nurs 7(1): 104-5
- 18 Calvert AH, Newell DR, Gumbrell LA, O'Reilly S, Burnell M, Boxall FE, Siddik ZH, Judson IR, Gore ME, Wiltshaw E (1989) "Carboplatin dosage: prospective evaluation of a simple formula based on renal function" J Clin Oncol 7(11): 1748-56

- 19 Carboplatin-Fachinfo, <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch?praep>, Abfrage
23.05.2009
- 20 Cisplatin-Fachinfo, <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch?praep>, Abfrage
23.05.2009
- 21 Cole M, Boddy AV, Kearns P, Kok HT, Price L, Parry A, Pearson ADJ, Veal GJ
(2006) Review: „Potential clinical impact of taking multiple blood samples for
research studies in pediatric oncology: how much do we really know?“ Pediatric
Blood Cancer 46: 723-272
- 22 Crom WR, Evans WE, Pratt CB, Senzer N, Denison M, Green AA, Hayes FA,
Yee GC (1981) "Cisplatin disposition in children and adolescents with cancer"
Cancer Chemother Pharmacol 6(1): 95-9
- 23 Crom WR (1994) "Pharmacokinetics in the child" Environ Health Perspect 102
(11): 111-118
- 24 D'Angio GJ, Evans AE, Koop CE (1971) "Special pattern of widespread
neuroblastoma with a favourable prognosis" Lancet 1(7708): 1046-9
- 25 Deutschen Kinderkrebsregister (2008) „periphere Nervenzelltumore/ Stand
09/2008“, <http://www.kinderkrebsregister.de>
- 26 D'Incalci M, Farina P, Sessa C, Mangioni C, Conter V, Masera G, Rocchetti M,
Pisoni MB, Piazza E, Beer M, Cavalli F (1982) "Pharmacokinetics of VP16-213
given by different administration methods" Cancer Chemother Pharmacol 7(2-
3): 141-5
- 27 Doxorubicin-Fachinfo, <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch?praep>, Abfrage
23.05.2009
- 28 Doz F, Pinkerton R. (1994) "What is the place of carboplatin in paediatric
oncology?" Eur J Cancer 30A(2): 194-20

- 29 Eksborg S, Strandler HS, Edsmyr F, Näslund I, Tahvanainen P (1985)
"Pharmacokinetic study of i.v. infusions of adriamycin" Eur J Clin Pharmacol
28(2): 205-12
- 30 EMEA (2004) "Evidence of harm from off-label or unlicensed medicines in
children", EMEA/126327/2004, http://www.cabrnoch.cz/media/emea_statement_harmfull_drugs.pdf, letzte Abfrage 08.03.2008
- 31 EMEA (2006) "Richtlinie zur Rolle der Pharmakokinetischen Studien in der
Entwicklung von Medizinprodukten in der Pädiatrie"
EMEA/CHMP/EWP/147013/2004, <http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/ewp/14701304en.pdf>, letzte Abfrage 08.03.2008
- 32 EMEA (2008) „Ethical considerations for clinical trials performed on medicinal
products conducted with the paediatric population“,
http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/eudralex/vol-10/ethical_considerations.pdf, letzte Abfrage 20.10.2009
- 33 English MW, Skinner R, Pearson AD, Price L, Wyllie R, Craft AW (1999)
"Dose-related nephrotoxicity of carboplatin in children" Br J Cancer 81(2): 336-41
- 34 English MW, Lewis SP, Peng B, Boddy A, Newell DR, Price L, Pearson AD
(1996) "Pharmacokinetically guided dosing of carboplatin and etoposide during
peritoneal dialysis and haemodialysis" Br J Cancer 73(6): 776-80
- 35 Etoposid-Fachinfo, <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch?praep>, Abfrage
23.05.2009
- 36 Evans AE, D'Angio GJ (2005) "Age at Diagnosis and Prognosis in Children with
Neuroblastoma" Journal of Clinical Oncology 23: pp. 6443-6444

- 37 FDA (1998) "Guidance for industrie- general consideratons for pediatric pharmacokinetic studies for drugs and biological products", US department of health and human services, <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM072114.pdf>, letzte Abfrage 13.10.2009
- 38 Ginsberg G, Hattis D, Sonawane B, Russ A, Banati P, Kozlak M, Smolenski S, Goble R (2002) "Evaluation of child/adult pharmacokinetic differences from a database derived from the therapeutic drug literature" *Toxicol Sci* 66(2): 185-200
- 39 Gorodischer R, Jusko WJ, Yaffe SJ (1976) "Tissue and erythrocytes distribution of Digitoxin in infants" *Clin. Pharmacol Ther* (3)256-63
- 40 Groninger E, Proost JH, de Graaf SSN (2004) "Pharmacokinetic studies in children with cancer" *Crit Rev Oncol Hematol* 52(3): 173-97
- 41 Hempel G, Schulze-Westhoff P, Flege S, Laubrock N, Boos J (1998) "Therapeutic drug monitoring of doxorubicin in paediatric oncology using capillary electrophoresis" *Electrophoresis* 19:2939–2943
- 42 Hempel G, Flege S, Würthwein G, Boos J (2002) "Peak plasma concentrations of doxorubicin in children with acute lymphoblastic leukemia or non-Hodgkin lymphoma" *Cancer Chemother Pharmacol* 49(2): 133-41
- 43 Huw T, Boddy AV, English MW, Hobson R, Imeson J, Lewis I, Morland B, Pearson AD, Pinkerton R, Price L, Stevens M, Newell DR (2000) "Prospective validation of renal function-based carboplatin dosing in children with cancer: A United Kingdom Children's Cancer Study Group Trial" *J Clin Oncol* 18(21): 3614-21
- 44 Imbach P (2006) „Neuroblastoma“. In: Imbach, Kühne, Arceci (Hrsg): "Pediatric Oncology- A comprehensive Guide" Springer Verlag Berlin, Heidelberg, Kapitle 10, 120-128

- 45 Kager L, Langebrake C, Kastner U (2006) „Chemotherapie“. In: Gadner, Gaedicke, Niemeyer, Ritter (Hrsg): „Pädiatrische Hämatologie und Onkologie“, Springer Berlin Heidelberg, Kapitel 50, 560-577
- 46 Kearns GL and Reed MD (1989) "Clinical pharmacokinetics in infants and children-. A reappraisal" Clin Pharmacokinet 17 ,1: 29-67
- 47 Kearns GL (1995) "Pharmacogenetics and development: are infants and children at increased risk for adverse outcomes?" Curr Opin Pediatr 7(2):220-33
- 48 Kearns GL, Abdel-Rahman SM, Alander SW, Blowey DL, Leeder JS, Kauffman RE (2003) "Developmental pharmacology--drug disposition, action, and therapy in infants and children" N Engl J Med 349(12): 1157-67
- 49 Kintzel PE, Dorr RT (1995). "Anticancer drug renal toxicity and elimination: dosing guidelines for altered renal function" Cancer Treat Rev 21(1): 33-64
- 50 Kloft C, Appelius H, Siegert W, Schunack W, Jaehde U (1999) "Determination of platinum complexes in clinical samples by a rapid flameless atomic absorption spectrometry assay" Ther Drug Monit 21(6): 631-7
- 51 Kolling S und Hempel G (2008) „Arzneimitteltherapie im Kindesalter – Die sichere und effektive Dosis finden“ PZ-Prisma 15, 68
- 52 Koren G, Weitzman S, Klein J, Moselhy G (1993) "Comparison of carboplatin pharmacokinetics between an anephric child and two children with normal renal function" Med Pediatr Oncol 21(5): 368-72
- 53 Ladenstein R, Berthold F, Ambros I, Ambros P (2006) „Neuroblastome“. In: Gadner, Gaedicke, Niemeyer, Ritter (Hrsg) „Pädiatrische Hämatologie und Onkologie“ Springer Berlin Heidelberg, Kapitel 68, 829-846
- 54 Leeder JS, Kearns GL (1997) "Pharmacogenetics in pediatrics. Implications for practice" Pediatr Clin North Am 44(1): 55-77

- 55 Li J and Gwilt PR (2003) "The effect of age on the early disposition of doxorubicin" *Cancer Chemother Pharmacol* 51(5): 395-402
- 56 Lowis SP, Pearson AD, Newell DR, Cole M (1993) "Etoposide pharmacokinetics in children: the development and prospective validation of a dosing equation" *Cancer Res* 53(20): 4881-9
- 57 Madden T, Sunderland M, Santana VM, Rodman JH (1992) "The pharmacokinetics of high-dose carboplatin in pediatric patients with cancer" *Clin Pharmacol Ther* 51(6): 701-7
- 58 Magnus D (2006) „Medizinische Forschung an Kindern, Studien zum ausländischen und internationalen Privatrecht“, Mohr Siebeck Verlag, Tübingen, 50-51, 130-152
- 59 Marina NM, Rodman J, Shema SJ, Bowman LC, Douglass E, Furman W, Santana VM, Hudson M, Wilimas J, Meyer W(1993) "Phase I study of escalating targeted doses of carboplatin combined with ifosfamide and etoposide in children with relapsed solid tumors" *J Clin Oncol* 11(3): 554-60
- 60 Marquet P (1999) "Therapeutic monitoring: analytic, pharmacokinetic and clinical aspects", *acta. clin. Belg.* 1:2-12
- 61 Mathis L, Rodriguez W (2009) "drug therapy in pediatrics: a developing field" *Dermatologic Therapy*, Vol. 22, 257-261
- 62 McKinzie JP, Wright SW, Wrenn KD (1997) "Pediatric drug therapy in the emergency department: does it meet FDA-approved prescribing guidelines?" *Am J Emerg Med* 15(2): 118-21
- 63 Mosteller RD (1987) "Simplified calculation of body-surface area" *N Engl J Med.* 317:1098

- 64 Mühlbauer B, Janhsen K, Pichler J, Schoettler P (2009) „Off-label-Gebrauch von Arzneimitteln im Kindes- und Jugendalter, eine Versorgungsanalyse für Deutschland“, Deutsches Ärzteblatt, Jg 106, 3, 16. Januar 2009, 25-31
- 65 Murakami T, Inoue S, Sasaki K, Fujimoto T (1990) "Studies on age-dependent plasma platinum pharmacokinetics and ototoxicity of cisplatin" *Sel Cancer Ther* 6(3): 145-51
- 66 Murphy D (2007) in "Drug research in children" <http://www.fda.gov/Drugs/ResourcesForYou/Consumers/ucm143565.htm>, Abfrage Mai 2009
- 67 Nagao S, Fujiwara K, Imafuku N, Kagawa R, Kozuko Y, Oda T, Maehata K, Ashikawa H, Koike H, Aotani E, Kohno I (2005) "Difference of carboplatin clearance estimated by the Cockroft-Gault, Jelliffe, Modified-Jelliffe, Wright or Chatelut formula" *Gynecol Oncol* 99(2): 327-33
- 68 Nguyen L, Chatelut E, Chevreau C, TRanchand B, Lochon I, Bachaud JM, Pujol A, Houin G, Bugat R, Canal P (1998): "Population Pharmokokinetiks of total and unbound etoposide" *Cancer Chemother Pharmacol* 41: 125-132
- 69 Palle J, Britt-Marie F, Goran G, Marit H, Jukka K, Eva L, Kjeld S, Gudmar L (2006) "Etoposide pharmacokinetics in children treated for acute myeloid leukemia" *Anticancer Drugs* 17(9): 1087-94
- 70 Panetta JC, Lacono LC, Adamson PC, Clinton FS (2003) "The importance of pharmacokinetic limited sampling models for childhood cancer drug development" *Clin Cancer Res* 9(14): 5068-77
- 71 Peng B, Boddy AV, Cole M, Pearson AD, Chatelut E, Rubie H, Newell DR (1995) "Comparison of methods for the estimation of carboplatin pharmacokinetics in paediatric cancer patients" *European journal of cancer*, October 1995, Pages 1804-1810

- 72 Peng B, Tilby MJ, English MW, Price L, Pearson AD, Boddy AV, Newell DR (1997) "Platinum-DNA adduct formation in leucocytes of children in relation to pharmacokinetics after cisplatin and carboplatin therapy" Br J Cancer 76(11): 1466-73
- 73 Peng B, English MW, Boddy AV, Price L, Wyllie R, Pearson AD, Tilby MJ, Newell DR (1997) "Cisplatin pharmacokinetics in children with cancer" Eur J Cancer 33(11): 1823-8
- 74 Pichini S, Papaseit E, Joya X, Vall O, Farré M, Garcia-Algar O, de laTorre R (2009) "pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring of psychotropic drugs in pediatrics", Ther Drug Monit, 31(3):283-318
- 75 Pommier YG, Goldwasser F, Strumberg D (2001): "Topoisomerase II-Inhibitors" In: Chamber BA, Longo DL (eds) Cancer Chemotherapy and biotherapy: Principles and practice, 3rd edition, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, 538-578
- 76 Rane A, Hojer B, Wilson, JT (1976) "Kinetics of carbamazepine and its 10,11-epoxide metabolite in children" Clin Pharmacol Ther 19(3): 276-83
- 77 Reed E (2001): "Cisplatin and analogs" In: Chamber BA, Longo DL (HRsg) Cancer Chemotherapy and biotherapy: Principles and practice, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, 14: 447-465
- 78 Regulation (EC)/ EMEA (No 1901/2006) of the european parliament and the council (2006), Official Journal of the European Union http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/eudralex/vol-1/reg_2006_1901/reg_2006_1901_en.pdf, letzte Abfrage Oktober 2009
- 79 Riccardi R, Riccardi A, Lasorella A, Di Rocco C, Carelli G, Tornesello A, Servidei T, Iavarone A, Mastrangelo R (1994) "Clinical pharmacokinetics of carboplatin in children" Cancer Chemother Pharmacol 33(6): 477-83

- 80 Rubie H, Doz F, Vassal G, Chastagner P, Gentet JC, Urien S, Bastian G, Drouard-Troalen L, Barberi-Heyob M, Catalin J, Chatelut E (2003). "Individual dosing of carboplatin based on drug monitoring in children receiving high-dose chemotherapy" *Eur J Cancer* 39(10): 1433-8
- 81 Shirkey H (1968) "Therapeutic orphans" *J Pediatr* 72(1): 119-20
- 82 Stankovic AK (2004) "The laboratory is a key partner in assuring patient safety" *Clin Lab Med* 24(4): 1023-35
- 83 Stephan PL, Etzensberger M, Jaquenoud Sirot E (2006) "[Therapeutic drug monitoring: A pharmacotherapeutic tool in psychiatry]" *Schweiz Rundsch Med Prax* 95(17):671-8
- 84 Stewart CF, Hampton EM (1987) "Effect of maturation on drug disposition in pediatric patients" *Clin Pharm.* 1987 ;6(7):548-64
- 85 Tateishi T, Nakura H, Asoh M, Watanabe M, Tanaka M, Kumai T, Takashima S, Imaoka S, Funae Y, Yabusaki Y, Kamataki T, Kobayashi S (1997) "A comparison of hepatic cytochrome P450 protein expression between infancy and postinfancy" *Life Sci* 61(26): 2567-74
- 86 Teicher BA, Holden SA, Rose CM (1985) "Effect of oxygen on the cytotoxicity and antitumor activity of etoposide" *J Natl Cancer Inst* 75(6): 1129-33
- 87 Thiessen H, Jacobsen J (1972) "Displacement of albumin-bound bilirubin by fatty acids" *Acta Paediatr Scand* 61(3): 285-8
- 88 Tilmann B, Krümpelmann S (1998) "Pharmacokinetic aspects of oral administration of etoposide" *Klin. Padiatr.* 210 (4):159-64
- 89 Turner S, Nunn AJ, Fielding K, Choonara I (1999). "Adverse drug reactions to unlicensed and off-label drugs on paediatric wards: a prospective study." *Acta Paediatr* 88(9): 965-8.

- 90 Urien S and Lokiec F (2004) "Population pharmacokinetics of total and unbound plasma cisplatin in adult patients" *Br J Clin Pharmacol* 57(6): 756-63
- 91 Veal GJ, Dias C, Price L, Parry A, Errington J, Hale J, Pearson AD, Boddy AV, Newell DR, Tilby MJ (2001). "Influence of cellular factors and pharmacokinetics on the formation of platinum-DNA adducts in leukocytes of children receiving cisplatin therapy" *Clin Cancer Res* 7(8): 2205-12
- 92 Veal GJ, English MW, Grundy RG, Shakespeare C, Glaser A, Waters F, Holden V, O'Meara A, Michalski A, Howe K, Cole S, Boddy AV (2004) "Pharmacokinetically guided dosing of carboplatin in paediatric cancer patients with bilateral nephrectomy" *Cancer Chemother Pharmacol* 54(4): 295-300.
- 93 Vinks A (2007) "Therapeutisches Drug Monitoring in der Pädiatrie" *Laboratoriumsmedizin* (31) 1, 24–37
- 94 Wagner JG (1976) "Linear pharmacokinetic equations allowing direct calculation of many needed pharmacokinetic parameters from the coefficients and exponents of polyexponential equations which have been fitted to the data" *J Pharm Biopharm* 4, 443-467
- 95 Wilson JT (1999) "An update on the therapeutic orphan" *Pediatrics* 1999: 104 (3): 585-590
- 96 Wurthwein G, Boos J (2001). "Simulation tool for schedule-dependent etoposide exposure based on pharmacokinetic findings published in the literature" *Anticancer Drugs* 12(2): 151-8

Danksagung

Herzlich bedanken für Ihre fachliche Unterstützung, ihre Anregungen und Ermutigungen möchte ich mich bei Dr. Gudrun Würthwein, Prof. Dr. Joachim Boos und PD Dr. Georg Hempel.

Bei Ellen Koch bedanke ich mich für ihre herzliche administrative Hilfe und somit gefühlte Verkürzung der Wege zwischen Münster und Berlin.

Rudi und Astrid danke ich für unser schönes Zuhause in Berlin, für die Suche nach Tippfehlern und ihre Toleranz für einen wochenlang mit Papierstapeln gefüllten Wohnzimmertisch.

Tim und Dennis danke ich für ihre Hilfe bei meinen Kämpfen mit dem Computer.

Meiner Familie und Thomas danke ich für den liebevollen Rückhalt, ihre Ermutigung und Unterstützung in allen Lebenslagen.

Lebenslauf

Anhang

Glossar

ADR	Adriamycin = Doxorubicin
AUC	„Area under the curve“ = Fläche unter der “Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve“/ = Medikamentenexposition (Wirkstoffmenge, die den Kreislauf erreicht, geteilt durch die Gesamtkörperclearance D/ Cl in (mg x h) /l)
CARBO	Carboplatin
CIS	Cisplatin
Clearance	Maß für die Effizienz der Elimination eines Arzneimittels (pro Zeiteinheit gereinigtes Volumen: ml/min/m ²)
d	Tage
DDP	Cisplatin
DM	Drugmonitoring
DOXO	Doxorubicin
DTIC	Dacarbacin
EMEA	European medicine agency
ETO	Etoposid
FDA	food and drug administration
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate in ml/min
G-CSF	zur Granulozytenproliferation und deren Funktionssteigerung eingesetzte Medikamente hier: Filgrastim, Lenograstim
h	Stunden
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human use
IEC	Independent Ethics Committies
IFO	Ifosfamid
IRB	Institutional Review Board
KG	Körpergewicht
KKS	Koordinierungszentrum für Klinische Studien
KOF	Körperoberfläche
Körpergewichts- basierte Dosis	Die Berechnung der Dosis eines Medikamentes erfolgte pro kg Körpergewicht des Patienten (mg/kg KG)

MEL	Melphalan
min	Minuten
m ² KOF Dosis	Die Berechnung der Dosis eines Medikamentes erfolgte pro m ² Körperoberfläche des Patienten (mg/m ² KOF)
modifizierte Dosis	Dosierungen die von den im NB 97 empfohlenen Zytostatikadosierungen abweichen/ individuelle Dosierungen
MTD	Maximal tolerierte Dosis eines Medikamentes
NAT 2	N-Acetyltransferase 2
normalisierte Dosis	Die modifizierten Dosierungen wurden für die Darstellung der Messwerte in den Simulationsgraphiken mittels Formel 2 (Seite 36) auf die im Protokoll vorgegebenen Dosierungen umgerechnet
NB 97 Protokoll	Chemotherapieprotokoll für die Therapie des Neuroblastoms bei Kindern, welches seit 1998 angewandt wird
NB 90/95 Protokoll	vorherige Chemotherapieprotokolle für die Therapie des Neuroblastoms bei Kindern
TDM	Therapeutisches Drugmonitoring
UGT	Uridin Diphosphat Glucoronosyltransferase“
VDS	Vindesin
VCR	Vincristin
VP16	Etoposid

Verschlüsselung der teilnehmende Kliniken

Tabelle 7.1: Nummer der Klinik/Klinikname

Klinik-Nr.	Klinik/ Stadt
1	Bayreuth
2	Coburg
3	Detmold
4	Homburg
5	Jena
6	Kassel
7	Kiel
8	Krefeld
9	Lübeck
10	Ludwigshafen
11	Mannheim
12	Münster
13	München
14	Neunkirchen
15	Regensburg
16	Siegen
17	Stuttgart
18	Tübingen
19	Ulm
20	Wilhelmshaven
21	Wuppertal

Deutsches Kinderkrebsregister

(Link: <http://www.kinderkrebsregister.de/>)

Neuroblastome und andere periphere Nervenzelltumoren

Stand: 05/2007

Inzidenzen bezogen auf 100.000 Kinder unter 15 Jahren

Tabelle 7.2: Inzidenzen des Neuroblastoms von 1997-2006

Anzahl der Kinder (Anteil an allen Malignomen)	1433 (7.8 %) (bis 2004: 1159)
---	----------------------------------

Inzidenzen	Alterstand. Inz.	Kumulative Inz.
Jungen	1.4	20.4
Mädchen	1.2	17.1
Insgesamt	1.3	18.8

Inzidenzverhältnis von Jungen zu Mädchen	1.2 : 1
--	---------

Altersspezifische Inzidenzen	Jungen	Mädchen	Insgesamt
unter 1 Jahr	9.3	6.7	8.0
1 bis 4	2.2	2.0	2.1
5 bis 9	0.3	0.3	0.3
10 bis 14	0.1	0.1	0.1

Alter: 25 % - Quantil	5 Monate
Median	15 Monate
75 % - Quantil	38 Monate

Prozentsatz der Studienpatienten	99
----------------------------------	----

Messverfahren der Zytostatika und Arbeitsanweisungen

Quantitative Bestimmung von proteinungebundenem und gesamt vorliegendem Etoposid / Ethopophos im Serum bzw. Plasma durch RP- HPLC

I. Materialien und Geräte

1. Vergleichssubstanz

- Etoposid VEPESID® Bristol Arzneimittel GmbH, München, Deutschland

2. Reagenzien:

- Acetonitril (Ultra Resi- Analyzed) Baker, Heidelberg Deutschland
- Methanol (HPLC grade) Baker Chemicals, Heidelberg Deutschland
- Acetic Acid (HPLC grade) Baker Chemicals, Heidelberg Deutschland
- High purity water (HPLC grade) Milli-Q® UF Millipore, Eschborn Deutschland
- Humanplasma Transfusionsmedizin, Münster
- Natriumdodecylsulfat (cryst.,reinst) SERVA, Heidelberg Deutschland

3. Geräte:

- Reamix 2789 Assistent
- Ultraschallbad Senorex TK 30 Bandelin Electronic, Berlin Deutschland
- Eppendorf Zentrifuge Eppendorf, Hamburg Deutschland

Chromatographisches System:

Das HPLC System (KB; Bromma, Schweden) besteht aus einer Pumpe (Modell 2248) und einem mit einer 20 µl Schleife ausgestatteten Rheodyne-Ventil 7125 (Latek, Eppelheim).

- Detektiert wird mit einem ECD (LKB; Bromma, Schweden)

ECD Einstellungen

Arbeitspotential: 820 V

Zellendichtung: 30 µM

Monitor Output Offset +15 nA

Filter 2 5sec

Rückseite: Oxidation Integrator: on 10 mA

ECD Wartung

1 mal im Monat Spülen der Bezugselektrode und Auffüllen mit 3 M KCL Lsg

2 mal täglich das Potential zwischen Arbeits- und Hilfselektrode(E- work)

überprüfen, es sollte sich im Laufe eines Arbeitstages nicht wesentlich unterscheiden, es sei denn die Elektrode ist gerade frisch aktiviert worden, dann können Schwankungen von bis zu 200 mV auftreten.

Die Elektrode sollte je nach Bedarf, spätestens alle 3 Monate mit gesättigter Chromschwefelsäure 1-2 min aktiviert werden.

Nach einer Aktivierung kann es bis zu drei Tagen dauern, bis das System stabilisiert ist und eine gute Basislinie zeigt.

Es gilt außerdem die Bedienungsanleitung des ECD Detektors!

Die Daten werden von einem Nelson Interface Series 900 aufgezeichnet und mit der Nelson Analytical Software ausgewertet.

- Zur chromatographischen Trennung der Proben dienen eine LiChroCART 250-4 Säule mit LiChrospher 100 RP-18 endcapped 5 µm Kieselgel Merck und die Vorsäule LiChroCART 4-4 (gleiches Kieselgel, Merck).

- Die Flußrate liegt bei 0,9 ml / Minute

II. Durchführung

1. Herstellung der Lösungen:

Standards:

- zur täglichen Kalibrierung werden folgende VP-Konzentrationen hergestellt:

1 µg/ml VP-16 in H₂O für das proteinungebundene und für das gesamt VP-16 zur Überwachung der Empfindlichkeit des Systems von Tag zu Tag.

Herstellen der Stammlösungen

proteinungebundenes VP 16

St 1: 950 µl H₂O oder Extraktionslsg + 50 µl Stammlsg VP [20 mg/ml]

St 2: 900 µl - „ - + 100 µl Stammlsg 1

St 3: 900 µl - „ - + 100 µl Stammlsg 2

St 4: 900 µl - „ - + 100 µl Stammlsg 3

Herstellen der Kalibrationslösungen

900 µl H₂O + 100 µl St 3 ⇒ 1,0 µg/ml

950 µl H₂O + 50 µl St 3 ⇒ 0,5 µg/ml

900 µl H₂O + 100 µl St 4 ⇒ 0,1 µg/ml

950 µl H₂O + 50 µl St 4 ⇒ 0,05 µg/ml

975 µl H₂O + 25 µl St 4 ⇒ 0,025 µg/ml

Herstellen der Stammlösungen

gesamt VP-16

St 1: 950 µl H₂O oder Extraktionslsg. + 50 µl Stammlsg VP [20 mg/ml] ⇒ 1 mg/ml

St 2: 900 µl "-" + 100 µl Stammlsg 1 ⇒ 100 µg/ml

St 3: 900 µl "-" + 100 µl Stammlsg 2 ⇒ 10 µg/ml

St 4: 500 µl "-" + 500 µl Stammlsg 3 ⇒ 5 µg/ml

St 5: 900 µl "-" + 100 µl Stammlsg 3 ⇒ 1 µg/ml

Stammlsg 5 zur Systemkontrolle injizieren.

Lösungen zur Plasmakalibration

465 µl Plasma + 35 µl St 2 ⇒ 7 µg/ml

475 µl Plasma + 25 µl St 2 ⇒ 5 µg/ml

450 µl Plasma + 50 µl St 3 ⇒ 1 µg/ml

475 µl Plasma + 25 µl St 3 ⇒ 0,5 µg/ml

475 µl Plasma + 25 µl St 4 ⇒ 0,25 µg/ml

475 µl Plasma + 50 µl St 5 ⇒ 0,1 µg/ml

andere Lösungen:

SDS - Lösung (1M)

288,4 mg/ml Extraktionslösung

Extraktionslösung

48% H₂O; 42% MeOH; 8% CH₃CN; 2% CH₃COOH

HPLC Mobile Phase

55% H₂O; 35% MeOH; 8% CH₃CN; 2% CH₃COOH

mit Helium entgasen

2. Probenaufarbeitung:

gesamt VP-16:

- Patientenserum und Standards werden identisch aufgearbeitet.
- 190 µl Serum / Standardlösung / Richtigkeitskontrolle
- + 10 µl SDS, eventuell auf 56 C° erwärmen
- + 250 µl Extraktionslösung, Ansatz 30 Sek vortexen
- 10 min Ultraschallbad
- 5 min 13000 UpM zentrifugieren
- Überstand 1:5 mit Extraktionslösung verdünnen
- Injektionsvolumen 50 µl (Schleife 20µL)

proteinungebundenen VP-16:

Microcon TM 10 Filter (Amicon GmbH, Witten Deutschland) mit 200µl Wasser

15 min 13000 UpM spülen

Filter umgekehrt in das Probensammelgefäß stecken und kurz anzentrifugieren um das Restwasser zu entfernen.

Filter in ein neues Probensammelgefäß überführen

200 µl Serum / Standard in den Filter pipettieren

- 10 Min 10000 UpM zentrifugieren
- Standardfiltrat direkt 50 µl injizieren
- Serumfiltrat 1:2 mit Extraktionslösung verdünnen und 50 µl injizieren

III. Auswertung

Berechnung für gesamt-VP-16:

$$\mu\text{g/ml} = m \times \text{Höhe} + b$$

m = Neigung der Kalibrationsgerade

Höhe = Peakhöhe vom VP-16

Berechnung für das proteinungebundene VP-16:

$$\mu\text{g/ml} = m \times \text{Höhe} \quad (\text{Standard})$$

$$\mu\text{g/ml} = m \times \text{Höhe} \times 2 \quad (\text{Serumprobe})$$

m = Neigung der Kalibrationsgeraden

Höhe = Peakhöhe vom VP-16

Bestimmungsgrenze:

Die untere Bestimmungsgrenze liegt bei dem gesamten VP bei 0,1 mg/l VP-16

Die untere Bestimmungsgrenze liegt bei dem freien VP bei 0,025 mg/l VP-16

Reproduzierbarkeit der Methode

Linearität:

gesamt VP-16:

- Der Korrelationskoeffizient r der Kalibrationskurve ist größer als 0.995

proteinungebundenen VP-16

- Der Korrelationskoeffizient r der Kalibrationskurve ist größer als 0.995

Wiederfindung:

gesamt VP-16:

- Serumproben, die mit 5 µg/ml VP-16 gespikt wurden, ergaben eine Wiederfindung von $83 \pm 4\%$ (n=10)

Richtigkeitskontrollen:

In jeder Serie werden Richtigkeitskontrollen gesamt/freies VP 5 µg/ml analysiert

Gesamt VP Sollkonz. 5 µg/ml Istkonz. 5 µg/ml

Freies VP Sollkonz. 5 µg/ml Istkonz. 0,170 µg/ml (Proteinbindung)

Die Richtigkeitskontrollen sollten für das gesamt-VP 10%, für das freie-VP 15% nicht überschreiten

Haltbarkeit: die Serumproben sind bei - 20 C° ≥6 Monate stabil

Zusatz:

Man kann auch zur Bestimmung des gesamt Etoposids zur Detektion einen Fluoreszenz-Detektor verwenden. Es ist nur zu beachten, dass man eine 100µl-Schleife einsetzt und die Proben vor der Injektion nicht 1:5 verdünnt

Ex: 288nm

Em: 328nm

Bestimmung von Doxorubicin und Doxorubicinol in Humanplasma durch Kapillarelektrophorese

I. Materialien und Geräte

1. Referenzsubstanzen

Doxorubicin	CAS Nr.: Pharmacia Farmitalia
Doxorubicinol	CAS Nr.: 23541-50-6 Pharmacia Farmitalia
Idarubicin	CAS Nr.: 57852-57-0 Pharmacia Farmitalia

2. Reagenzien

Acetonitril (HPLC-Grade)	Roth, Karlsruhe
Stickstoff (N ₂), reinst	Westfalen AG, Münster
Phosphorsäure (0,1M)	Merck, Darmstadt
gereinigtes Wasser	hergestellt mit Milli-Q-UF Millipore-Anlage, Eschborn
Chloroform (HPLC-Grade)	Roth, Karlsruhe
Natronlauge (0,1 M)	Kraft GmbH, Duisburg
Natriumdihydrogenphosphat (zur Analyse)	Merck, Darmstadt
Spermintetrahydrochlorid	Aldrich, Steinheim
Dinatriumhydrogenphosphat	Serva, Heidelberg

3. Geräte

Kapillarelektrophorese:	Beckman P/ACE 5510 mit LIF-Detektor Argon Ionen Laser 488nm Meßwellenlänge >520nm Kantenfilter (Fa. Schott)
pH-Meter, pH 530	WTW
Sartorius MC 5	Sartorius AG, Göttingen
Filter: Minisart RC 15, 0,45 µm	Sartorius AG, Göttingen
Zentrifuge	Hetterich, Rotanta
Probenrüttler	Bender + Hobein, Zürich
Ultraschallbad Senorex TK 30	Bandelin Electronic, Berlin, Deutschland

II. Durchführung

1. Herstellung der Lösungen

Stammlösungen:

<u>Doxorubicin</u>	5,7 mg/l Acetonitril (HPLC-Grade)
<u>Doxorubicinol</u>	5,7 mg/l Acetonitril (HPLC-Grade)
<u>Idarubicin</u>	5,7 mg/l Acetonitril (HPLC-Grade)

Lagerung aller Stammlösungen bei -20°C, bei einer Haltbarkeit von 12 Wochen

Kalibrationslösungen:

Täglich neu herstellen:

Zur Erstellung von Kalibrationslösungen werden Plasmaproben mit folgenden Konzentrationen gespickt und wie unter Punkt II. 3 beschrieben aufgearbeitet:

Konzentration 1:	2 µg/l
Konzentration 2:	5 µg/l
Konzentration 3:	10 µg/l
Konzentration 4:	20 µg/l
Konzentration 5:	30 µg/l
Konzentration 6:	40 µg/l
Konzentration 7:	50 µg/l

Doxo/Doxol Verdg. 1:10 200 µl Doxo+200 µl Doxol+1600µl ACN/H₂O(9T/1T)IS 85µl Ida 1:10 + 9915µl ACN/H₂O(9T/1T)

Endkonzentration	Stammlösung 1:10 verd.	9T ACN + 1 T H ₂ O	I.S. 1:10 verd.
µg/l	µl	µl	µl
50	351	1632	17
40	281	1702	17
30	211	1772	17
20	140	1843	17
10	70	1913	17
5	35	1948	17
2	14	1969	17

Herstellung der Richtigkeitskontrollen:

30 µg/l 105,2 µl Verdg. 1:10 Doxo/Doxol + 1894,8 µl Leerplasma

2 µg/l 133,34 µl RK 30 µg/l + 1866,67 verdünnt

Laufpuffer

Eine Lösung von 100mM Natriumdihydrogenphosphat wird mit 0.1 M NaOH auf pH 5 eingestellt. Anschließend wird Spermin bis zu einer Konzentration von 60µM zugegeben. (6,47 mg Spermin/ 10 ml (ACN 8 Teile/ H₂O 2 Teile);100 µl Spermin auf 10 ml Laufpuffer) Die Lösung wird mit Acetonitril im Verhältnis 3 zu 7 (70% ACN) gemischt, über einen 0,45µm Filter gegeben und im Ultraschallbad entgast.

Phosphatpuffer zur Probenaufarbeitung

Eine Lösung von 100mM Dinatriumhydrogenphosphat wird mit 0.1 M Phosphorsäure auf einen pH 7,4 eingestellt.

2. Probenaufarbeitung

Probe/ Richtigkeitskontrollen

100 µl Probe + 50 µl Interner Standard (IS) Idarubicin (4,85 ng/ml)

+ 100 µl Phosphatpuffer pH 7,40

fl/fl-Extraktion: + 1 ml Chloroform, 5 min. schütteln (Rotationsschüttler)

5 min zentrifugieren bei 13000 U/min

900 µl org. Phase in ein Eppendorfgefäß überführen

eindampfen über N₂, bei 35°C und in 50 µl Acetonitril/Wasser (95:5) aufnehmen

60 sec vortexen und 60 sec ultraschallen

35 µl pro CE-vial

Kalibration: Doxo/Doxol

100 µl Leerplasma + 50 µl Eichlg + 100µl Phosphatpuffer pH 7,40

fl/fl-Extraktion: + 1 ml Chloroform, 5 min. schütteln (Rotationsschüttler)

5 min zentrifugieren bei 13000 U/min

900 µl org. Phase in ein Eppendorfgefäß überführen

eindampfen über N₂, bei 35°C und in 50 µl Acetonitril/Wasser (95:5) aufnehmen

60 sec vortexen und 60 sec ultraschallen

35 µl pro CE-vial

3. Kapillarelektrophorese (CE)

Gerät: Beckman P/ACE 5510 mit LIF -Detektor Argon Ionen Laser 488 nm
Meßwellenlänge > 520 nm

Kapillare: Beckman fused silica, 47 cm Länge, Länge bis
zum Detektionsfenster 40 cm, 50 µm I.D.

Laufpuffer: (täglich frisch ansetzen):
Phosphatpuffer pH 5,0 100mM
70% (v/v) Acetonitril
Sperminetetrahydrochlorid 60 µM (s.o.)

Probenaufgabe: 7 sec elektrokinetische Aufgabe, Spannungsgefälle 10 kV

Trennbedingungen: 6,5 min Laufzeit, Spannungsgefälle 25 kV

Vor jedem Lauf wird 1 min. mit NaOH (0,1M) und 1 min. mit Laufpuffer gespült.

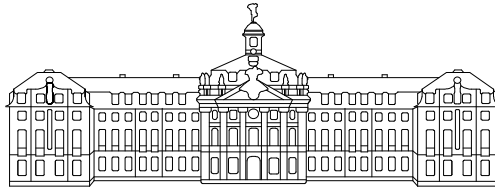
Nach jedem Lauf wird 1 min mit NaOH (0,1M) gespült

Alle Reagenzien werden vor Gebrauch filtriert und anschl. entgast (Ultraschallbad)

Alle Lösungen für die CE werden wöchentlich erneuert.

III. Auswertung:

Die Auswertung erfolgt mit der Beckmann P/ACE Station Version 0.4 Software nach der Internen Standard Methode. Die Kalibrationsgerade wird 1/y gewichtet. In jeder Serie werden Richtigkeitskontrollen mit 2 µg/l und 30 µg/l analysiert, wobei die ermittelte Konzentration nicht mehr als 20% vom tatsächlichen Gehalt abweichen soll.



Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Klinik und Poliklinik für Kinderheilkunde
- Pädiatrische Hämatologie und Onkologie -

Arbeitsgruppe Klinische Pharmakologie PD Dr. J. Boos

Standardarbeitsanweisungen
zur
Probenentnahme & Probenaufarbeitung

Stand 8/1999

Revision 1/2000

verantwortlich: Claudia Lanvers und Paulo Pinheiro

Inhalt

Dokumentation	allgemeiner Dokumentationsbogen
Plasmaspiegelbestimmung - Zytostatika	
Anthracycline	Idarubicin (Zavedos®) Doxorubicin (=Adriamycin) (Adriblastin®) Daunorubicin (Daunoblastin®) liposomales Daunorubicin (Daunoxome®)
Asparaginase	E.coli Asparaginase (Asparaginase Medac®) (Crasnitin®) Erwinia Asparaginase (Erwinase®) PEG Asparaginase (Oncaspar®)
Oxazaphosphorine	Ifosfamid (Holoxan®) Cyclophosphamid (Endoxan®) Trofosfamid (Ixoten®) Busulfan (Myleran®)
Platinverbindungen	Cisplatin (Platinex®) Carboplatin (Carboplat®)
Podophyllotoxine	Etoposid (VP-16®) Etoposidphosphat (Etopophos®) Topotecan (Hycamtin®)
Taxane	Paclitaxel (Taxol®)
Antimetabolite	Methotrexat (MTX Lederle®) Methotrexat nach Carboxypeptidase 6-Mercaptopurin
Retinoide	Vitamin A 13-cis-Retinsäure (Roaccutan®) all-trans-Retinsäure - ATRA (Vesanoid®)
Virustatika	Brivudin (Helpin®)
Antimykotika	liposomales Amphotericin B (Ambisome®)
Analgetika	Paracetamol

Pharmakologische Untersuchungen an Tumorzellen

Ara-CTP Akkumulation in leukämischen Blasten

Asparagin-Synthetase Aktivität in leukämischen Blasten

Retinoide- itamin A, 13-cis-Retinsäure, all-trans-Retinsäure

benötigtes Material: Citrat-Blut (Gerinnungsröhrchen) (venös),
Probenaufarbeitung: unmittelbar nach Entnahme, 5 min bei 1600 g zentrifugieren, Plasma abseren, mind. 600 µl Plasma bei -20°C einfrieren, Lichtschutz (Eppendorfgefäße mit Alufolie umwickeln)
Lagerung: -20°C (Lichtschutz)
Probenversand: auf Trockeneis, lichtgeschützt (Alufolie)

all-trans-Retinsäure

Protokoll: AML-BFM 93 - Therapie der AML-M3
Probenentnahme: Kinetik, 11 Blutentnahmen über 8 h
(siehe: Entnahmeprotokoll und Einverständniserklärung im Anhang)

13-cis-Retinsäure

Protokoll: Neuroblastom,
in palliativer Situation kombiniert mit Interferon
Probenentnahme: nach Bedarf zur Verlaufs- und Compliancekontrolle
Vitamin A und Retinsäuren -physiologische Spiegel
Probenentnahme: bei Diagnosestellung (Ausgangsspiegel),
unter zytostatischer Therapie,
bei septischen Komplikationen (Sepsis)

Anthracycline - Doxorubicin, Idarubicin, Daunorubicin

benötigtes Material: EDTA-/ Heparinblut (kapillär)
oder Blut zur Serumgewinnung (venös)
Probenaufarbeitung: unmittelbar nach Entnahme,
5 min bei 4°C 1600 g zentrifugieren, abseren,
mind. 50 µl Plasma/Serum bei -20°C einfrieren
Lagerung: -20°C
Probenversand: auf Trockeneis

Doxorubicin - Adriamycin

Protokoll: N4-Block, Neuroblastomstudie 97 (3 x 0,5 h)
 N6-Block, Neuroblastomstudie 97 (2 x 4 h)
 COSS 96 (2 -4 x 48 h)
 ALL-BFM 95 Protokoll I (4 x 2 h)

Probenentnahme: am Infusionsende bei Perfusoralarm (=Spitzenspiegel)

Daunorubicin

Protokoll: ALL-BMF 95 Protokoll I (2 - 4 x 2 h)

Probenentnahme: am Infusionsende bei Perfusoralarm (=Spitzenspiegel)

liposomales Daunorubicin

Protokoll: ALL-Rezidiv Protokoll 97

Probenentnahme: folgt

Idarubicin

Protokoll: AIE-Induktions-Pilotprotokoll AML-Studie (3 x 4 h)
 Konsolidierungsphase I (4 x 1 h, in MS 2 h)
 AI-Block (2 x 1 h)

Probenentnahme: am Infusionsende bei Perfusoralarm (=Spitzenspiegel)

Platinverbindungen - Cisplatin, Carboplatin

benötigtes Material: EDTA-Blut (venös),

Probenaufarbeitung: unmittelbar nach Probenentnahme,
 5 min bei 1600 g zentrifugieren, abseren

Gesamtplatin: mind. 300 µl Plasma bei -20°C einfrieren

freies Platin: mind. 600 µl Plasma in das äußere Centrisat® 1Röhrchen
 geben
 (Ultrafiltrat) Innenröhrchen langsam wieder in das
 Außenröhrchen hineingleiten lassen, 5 min stehen
 lassen, 20 min bei 10 000 g zentrifugieren,
 Filtrat (im Innenröhrchen) bei -20°C einfrieren

Lagerung: -20°C

Probenversand: auf Trockeneis

Cisplatin

Protokoll: N5-Block, Neuroblastomstudie 1997 (96 h Dauerinfusion)
Probenentnahme: 24 h nach Infusionsbeginn, 95 h nach Infusionsbeginn,
(= 1 h vor Infusionsende)

Carboplatin

Protokoll: Carboplatin / Taxol Studie (palliatives Therapieprotokoll)
Probenentnahme: Kinetik über 24 h (siehe Entnahmeprotokoll im Anhang)

Podophyllotoxine - Etoposid

benötigtes Material: Blut zur Serumgewinnung (venös)

Probenaufarbeitung: 5 min bei 1600 g zentrifugieren,
abseren
mind. 250 µl Serum bei -20°C einfrieren

Lagerung: bis zum Versand bei -20°C

Probenversand: Raumtemperatur

Protokoll: N5 Block, Neuroblastomstudie 97 (96 h Dauerinfusion)

Probenentnahme: 24 h nach Infusionsbeginn
95 h nach Infusionsbeginn (= 1 h vor Infusionsende)
(identisch mit den Entnahmezeitpunkten für →Cisplatin)

Protokoll: Etoposid / Trofosamid (oral) palliatives Therapieprotokoll

Probenentnahme: Kinetik über 24 h (siehe Entnahmeprotokoll →Trofosamid
im Anhang)

Protokoll: Etoposid / Cyclophosphamid REL-EICESS 96

Probenentnahme: 22 h nach Infusionsbeginn (= 1 h vor Infusionsende) am
Tag 1, 2, 3 und 4

Berechnungsgrundlagen der Simulationsmodelle

von Dr. G. Würthwein

Simulation Carboplatin

Die Simulationen für Carboplatin wurden von Prof. Alan Boddy (Newcastle/England) in NONMEM durchgeführt.

Basierend auf einem 2 Kompartimentmodell:

$$cl = e^{(\theta_1 + \eta_1)}, \quad v_1 = e^{(\theta_2 + \eta_2)}, \quad q = e^{(\theta_3)}, \quad v_2 = e^{(\theta_4 + \eta_4)}$$

und

$$y_{ij} = f_{ij} + (1 + \theta_5^2 f_{ij}^2) \varepsilon_{ij},$$

Hierbei wurde für alle Patienten eine Dosis von 20 mg/kg angenommen, entsprechend einer Dosis von rund 500 mg/m² (Umrechnung dieser Daten bezieht sich auf Kollektiv von A. Boddy). Simuliert wurden jeweils 60 min-Infusionen an 3 aufeinanderfolgenden Tagen.

In dem 2- Kompartiment-Modell wurden interindividuelle Variabilitäten für Clearance (CL), zentrales Verteilungsvolumen (V1) und peripheres Verteilungsvolumen (V2) berücksichtigt, jedoch keine Variabilität von Tag zu Tag.

Simulation Cisplatin

Die Simulation der freien und gebundenen Cisplatin-Konzentrationen wurde nach dem von Urien et al. veröffentlichten pharmakokinetischen Modell für Erwachsene in NONMEM durchgeführt (Urien 2004).

Sowohl das freie als auch das gebundene Cisplatin wurde mit einem Zwei-Kompartiment-Modell und einem additiven Restfehler modelliert. Für 100 Patienten wurde eine 96 h-Infusion von 160 mg Cisplatin absolut simuliert, die Körperoberfläche (KOF) wurde auf 1 m² und die Kreatinin-Clearance (CL_{CR}) auf 81 ml/min festgesetzt. (Beachte: bei Simulation Dosis=160 mg/m² über 4 Tage, in der Arbeit wird die Dosis jeweils mit 40 mg/m²/Tag angegeben).

Pharmakokinetische Parameter für ungebundenes = freies Cisplatin

Für freies Cisplatin wurden im dem Modell von Urien et al. sowohl KOF als auch die CL_{CR} als Kovariate auf CL sowie KOF als Kovariate auf V1 einbezogen. Interindividuelle Variabilität wurden für CL und V1 modelliert, der Restfehler war additiv.

Tabelle 7.3.: Pharmakokinetische Parameter Cisplatin_{frei} für Simulation

Pharmakokinetische Parameter	Struktur- und Kovariaten-Modell	interindividuelle Variabilität [%]
CL [l/h]	$35,5 * (KOF/ 1,7)^{0,83} * (CL_{CR} / 81)^{0,36}$	14,9
V1 [l]	$23,4 * (KOF/ 1,7)^{1,6}$	23,4
Q [l/h]	8,64	
V2 [l]	<u>12,0</u>	
add. Restfehler [µg/l]	116	

Als abgeleitete pharmakokinetische Parameter berechnen sich hieraus $t_{1/2\alpha}$ zu 0,34 h und $t_{1/2\beta}$ zu 1,32 h.

Pharmakokinetische Parameter für gebundenes Cisplatin (Cisplatin_{gesamt})

Für gebundenes Cisplatin wurde in dem Modell von Urien et al. die KOF als Kovariate auf V1 einbezogen. Interindividuelle Variabilitäten wurden für alle 4 kinetische Parameter modelliert, der Restfehler war additiv.

Tabelle 7.4.: Pharmakokinetische Parameter Cisplatin_{gesamt} für Simulation

Pharmakokinetische Parameter	Struktur- und Kovariaten-Modell	interindividuelle Variabilität [%]
CL [l/h]	0,68	27,4
V1 [l]	$21,1 * (KOF/ 1,7)^{2,3}$	39,1
Q [l/h]	22,2	32,5
V2 [l]	42,6	35,0
add. Restfehler [µg/l]	162	

Als abgeleitete pharmakokinetische Parameter berechnen sich hieraus $t_{1/2\alpha}$ zu 0,45 h und $t_{1/2\beta}$ zu 66,8 h.

Simulation Etoposid

Die Simulation der Etoposid-Kinetik wurde mit Hilfe des Simulationstools von Würthwein et al. in Microsoft Excel durchgeführt (Würthwein G, Boos J 2001). Dem Simulationstool liegen individuelle pharmakokinetische Parameter für ein 2-Kompartiment-Modell von 27 Kindern zugrunde; die Parametrisierung erfolgt hierbei über die Koeffizienten A und B sowie die Mikrokonstanten α und β (vgl. Tabelle). Ausgehend von diesen pharmakokinetischen Parametern, der gewünschten Dosierung

und Infusionszeit (hier: 400 mg/m² über 96 h; beachte: in der Arbeit wird die Dosis jeweils mit 100 mg/m²/Tag angegeben) werden in dem Simulationstool zunächst individuelle Konzentrations-Zeit-Verläufe (zugrundeliegende Gleichungen vgl. Derendorff und Wagner et al.) und hieraus dann Median und Perzentile berechnet (Derendorff 1987, Wagner et al. 1976).

Tabelle 7.5.: Pharmakokinetische Parameter Etoposid für Simulation

pharmakokinetische Parameter	Median	Range
α [1/h]	1,07	0,36 – 5,20
β [1/h]	0,18	0,08 – 0,33
A [mg/l] ⁽¹⁾	16,46	9,07 – 29,10
B [mg/l] ⁽¹⁾	9,92	1,13 – 20,90

⁽¹⁾: Koeffizienten bezogen auf 100 mg/m²

Als abgeleitete pharmakokinetische Parameter berechnen sich hieraus $t_{1/2} \alpha$ zu 0.71 ± 0.35 h und $t_{1/2} \beta$ zu 4.13 ± 1.37 h.

Simulation Doxorubicin

Die Simulation der Doxorubicin-Kinetik wurde mit Hilfe eines Simulationstools basierend auf den pharmakokinetischen Parametern von Doxorubicin durchgeführt (Eksborg 1985). Dem Simulationstool liegen individuelle pharmakokinetische Parameter für ein 3-Kompartiment-Modell von 21 Erwachsenen zugrunde; die Parametrisierung erfolgt hierbei über die Koeffizienten A, B und C sowie den Mikrokonstanten α , β und γ (vgl. Tabelle). Ausgehend von diesen pharmakokinetischen Parametern, der gewünschten Dosierung und Infusionszeit (hier: 30 mg/m² über 4h) werden in dem Simulationstool zunächst individuelle Konzentrations-Zeit-Verläufe (zugrundeliegende Gleichungen vgl. Derendorff und Wagner et al.) und hieraus dann Median und Perzentile berechnet.

Tabelle 7.6.: Pharmakokinetische Parameter Doxorubicin für Simulation

<u>pharmakokinetische</u> Parameter	Median	Range
α [1/h]	9.60	7.26 - 15.0
β [1/h]	1.068	0.336 - 4.968
γ [1/h]	0.0516	0.024 - 0.098
A [mg/l] ⁽¹⁾	4.013	2.488 - 18.59
B [mg/l] ⁽¹⁾	0.055	0.018 - 1.515
C [mg/l] ⁽¹⁾	0.020	0.008 - 0.041

⁽¹⁾: Koeffizienten bezogen auf 30 mg/m²

Als abgeleitete pharmakokinetische Parameter berechnen sich hieraus $t_{1/2 \alpha}$ zu 4.3±0.8 min, $t_{1/2 \beta}$ zu 44.5±28.6 min und $t_{1/2 \gamma}$ zu 14.3±4.7 h.