

Inhaltsverzeichnis

Reflexion und Dank.....	v
Inhaltsverzeichnis.....	vii
Abbildungsverzeichnis.....	xi
Tabellenverzeichnis.....	xii
Abkürzungsverzeichnis.....	xiii

1 EINLEITUNG	1
1.1 Die HIV-Therapie.....	1
1.2 Rationale für das Therapeutische Drug Monitoring in der HIV-Therapie	3
1.3 Wirkmechanismus der Nukleosidalen Reverse Transkriptase Inhibitoren (NRTI).....	4
1.4 Pharmakokinetik der Nukleosidalen Reverse Transkriptase Inhibitoren (NRTI).....	5
1.4.1 Thymidinanaloga	5
1.4.1.1 Zidovudin, ZDV - Retrovir®	6
1.4.1.2 Stavudin, d4T – Zerit®	6
1.4.2 Cytidinanaloga.....	7
1.4.2.1 Zalcitabin, ddC- Hivid®	7
1.4.2.2 Lamivudin, 3TC - Epivir®	7
1.4.2.3 Emtricitabin, FTC- Emtriva®	8
1.4.3 Guanosinanaloga.....	8
1.4.3.1 Abacavir, ABC - Ziagen®.....	8
1.4.4 Adenosinanaloga.....	9
1.4.4.1 Didanosin, ddI - Zerit®	10
1.4.4.2 Tenofovir, TDF-Viread®	10
1.5 Methoden zur extrazellulären Messung von NRTI in Plasma unter besonderer Berücksichtigung des Tenofovir	10

1.6 Methoden zur intrazellulären Bestimmung von NRTI-Triphosphaten in peripheren mononukleären Zellen (PBMC).....	11
1.7 Bisherige Resultate der intrazellulären Bestimmung von NRTI-Triphosphaten an Probenmaterial von HIV-infizierten Patienten oder Probanden.....	13
1.8 Fragestellungen und Ziele der Arbeit.....	19
2 MATERIAL UND METHODEN	21
2.1 Blutproben	21
2.2 Methodenentwicklung zur extrazellulären Analytik der NRTI.....	21
2.2.1 Die möglichst quantitative Extraktion der Wirkstoffe aus Patientenplasma.....	22
2.2.1.1 Blutentnahme.....	22
2.2.1.2 Plasmaaufbereitung	22
2.2.1.3 Aufbereitung der Plasmaproben zur simultanen Messung von Protease Inhibitoren und NRTI.....	23
2.2.2 Die Umwandlung der Probe in eine in das HPLC System applizierbare Form.....	24
2.2.3 Entwicklung einer chromatographischen Methode zur Trennung der Analyte von endogenen Substanzen und anderen Störfaktoren.....	24
2.2.4 Entwicklung der Detektionsmethode aller NRTI durch das Massenspektrometer.....	25
2.2.5 Validierung der Tenofovir-Methode aus Plasma.....	26
2.3 Methodenentwicklung zur intrazellulären Analytik der NRTI	30
2.3.1 Die möglichst quantitative Extraktion der NRTI-Triphosphate aus PMBC unter Vermeidung von Abbauvorgängen.....	31
2.3.1.1 Blutentnahme.....	31
2.3.1.2 Präparation von mononukleären Zellen zur Herstellung von Leerproben aus peripherem Blut	31
2.3.1.3 Waschen der Zellen	32

2.3.1.4	Zählen der PBMC, Bestimmung der Zelldichte und Zellvitalität.....	32
2.3.1.5	Gewinnung von PBMC zur Herstellung von Eichgeraden und Qualitätskontrollen	33
2.3.1.6	PBMC-Gewinnung und Probenaufbereitung zur Messung von NRTI-TP	34
2.3.2	Die Umwandlung der Probe in eine in das HPLC System applizierbare Form	36
2.3.2.1	Versuche zur Extraktion der NRTI-Triphosphate aus PBMC.....	36
2.3.2.2	Arbeitsanweisung	39
2.3.3	Entwicklung einer chromatographischen Methode zur Trennung der NRTI-TP von endogenen Substanzen und anderen Störfaktoren.....	40
2.3.3.1	Versuche zur Optimierung der Lösungsmittel (LSM)	40
2.3.4	Entwicklung einer massenspektroskopischen Methode zur Analyse von NRTI-Triphosphaten	41
2.3.4.1	Gruppenspezifische Einstellungen des Massenspektrometers	43
2.3.4.2	Einstellungen des Probenaufgebers und der Probenschleife	46
2.3.4.3	Herstellung von Eichgeraden und Qualitätskontrollproben zur Bestimmung der NRTI-TP.....	47
2.3.4.4	Abbildungen der Chromatogramme	48
2.3.4.5	Addendum.....	53
2.3.5	Validierung der NRTI-TP Methode.....	55
3	ERGEBNISSE	61
3.1	Ergebnisse der Anwendung der Methode zur extrazellulären Analytik der NRTI.....	61
3.1.1	Tenofovir-Nelfinavir Interaktionsstudie	61
3.1.2	Tenofovir-Fosamprenavir Interaktionsstudie	63

3.2 Ergebnisse der Anwendung der Methode zur intrazellulären Analytik der NRTI-Triphosphate.....	67
3.2.1 NRTI-TP Konzentrationen bei HIV-infizierten Patienten des Vivantes Auguste-Viktoria-Klinikums, Berlin	67
3.2.2 NRTI-TP Messungen bei HIV-infizierten Patienten der CAT-Studie.....	68
3.2.3 NRTI-TP Messungen bei HIV-infizierten Patienten der Kinderklinik der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt/Main.....	70
4 DISKUSSION	71
4.1 Entwicklung, Validierung und Anwendung einer Methode zur extrazellulären Bestimmung der NRTI in Plasma unter besonderer Berücksichtigung des Tenofovir	71
4.2 Entwicklung, Validierung und Anwendung einer Methode zur intrazellulären Bestimmung der NRTI in peripheren mononukleären Zellen (PBMC).....	74
4.3 Ausblick.....	81
5 ZUSAMMENFASSUNG.....	83
Literaturverzeichnis.....	85
Publikationsliste	95
Anhang A: Material und Geräteliste.....	101
Anhang B: Reagenzienliste	103
Anhang C: Stoffliste	106
Anhang D: Physikalisch-chemische und pharmakokinetische Eigenschaften der NRTI	109



Quelle:

Guido Kruse: *Therapeutisches Drug Monitoring von Nukleosidalen Reverse Transkriptase Inhibitoren*, Kölner Wissenschaftsverlag, Köln, 2006.

© 2006 Kölner Wissenschaftsverlag und Guido Kruse