

Aus der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie,
Immunologie und Intensivmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

„Auswirkungen der antiretroviralen Therapie HIV-1-infizierter
schwangerer Frauen auf den Bilirubinmetabolismus der
exponierten Säuglinge“

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Johannah Marie Killing

aus Bielefeld

Datum der Promotion: 17.09.2021

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildungsverzeichnis | 6 |
| Formelverzeichnis | 8 |
| Tabellenverzeichnis | 8 |
| Abkürzungsverzeichnis | 9 |
| Zusammenfassung | 10 |
| Abstract | 12 |
| 1 Einleitung | 14 |
| 1.1 HIV-Behandlung | 16 |
| 1.2 HIV-Medikamente in der Schwangerschaft | 16 |
| 1.3 Stillverzicht bei HIV-infizierten Müttern | 17 |
| 1.4 Therapieregime | 17 |
| 1.5 Bilirubinmetabolismus | 18 |
| 1.6 Hyperbilirubinämie und Ikterus | 18 |
| 1.7 Ikterus neonatorum | 19 |
| 1.8 Schematische Darstellung des physiologischen Bilirubinmetabolismus | 20 |
| 1.9 Ikterus prolongatus | 21 |
| 1.10 Risikofaktoren für Hyperbilirubinämie | 21 |
| 1.11 Auswirkungen antiretroviraler Medikamente auf den Bilirubinmetabolismus | 23 |
| 1.12 Medikamentengruppen | 23 |
| 1.12.1 Integrase-Inhibitoren | 23 |
| 1.12.1.1 Raltegravir | 23 |
| 1.12.1.2 Dolutegravir | 24 |
| 1.12.1.3 Protease-Inhibitoren | 24 |
| 1.12.1.4 Atazanavir | 25 |
| 1.13 Schematische Darstellung des Bilirubinmetabolismus unter Atazanavir-/Integrase-Inhibitor-Einnahme der Mutter während der Schwangerschaft | 26 |
| 1.14 Zielsetzung der Studie | 27 |
| 2 Methoden | 30 |
| 2.1 Studienpopulation | 30 |
| 2.2 Verschlüsselung | 30 |
| 2.3 Ein- und Ausschlusskriterien | 30 |
| 2.3.1 Einschlusskriterien | 30 |
| 2.3.2 Ausschlusskriterien | 31 |
| 2.4 Erfassung klinischer und laborchemischer Daten | 31 |
| 2.4.1 Erfasste Daten der Mütter | 32 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 2.4.2 | Erfasste Daten der Kinder _____ | 32 |
| 2.5 | Messzeitpunkte _____ | 33 |
| 2.6 | Bilirubinkonzentrationen bei gestillten Neugeborenen _____ | 36 |
| 2.7 | Statistische Testverfahren _____ | 37 |
| 2.7.1 | Testung auf Normalverteilung Kolmogorov-Smirnov-Test und Shapiro-Wilk-Test _____ | 38 |
| 2.7.2 | Testverfahren für unabhängige Variablen mit zwei Ausprägungen _____ | 38 |
| 2.7.2.1 | t-Test für unabhängige Stichproben _____ | 38 |
| 2.7.2.1.1 | Testung auf Varianzhomogenität – Der Levene-Test _____ | 39 |
| 2.7.2.2 | Mann-Whitney-U-Test: _____ | 39 |
| 2.7.3 | Testverfahren für unabhängige Variablen mit mehr als zwei Ausprägungen _____ | 40 |
| 2.7.3.1 | Einfaktorielle univariate Varianzanalyse _____ | 40 |
| 2.7.3.2 | Kruskal Wallis-Test _____ | 41 |
| 2.7.4 | Mixed ANOVA _____ | 42 |
| 2.8 | Ergänzung des Datensatzes _____ | 44 |
| 3 | Ergebnisse _____ | 45 |
| 3.1 | Betrachtung der Messzeitpunkte _____ | 45 |
| 3.2 | Baseline-Charakteristika der Studienpopulation _____ | 45 |
| 3.3 | Baseline-Charakteristika verteilt auf die untersuchten Medikamentengruppen _____ | 47 |
| 3.4 | Auswirkungen weiterer genutzter antiretroviraler Medikamente _____ | 50 |
| 3.5 | Hyperbilirubinämie-Grade aufgeteilt nach cART-Gruppen _____ | 51 |
| 3.6 | Icterus prolongatus _____ | 52 |
| 3.7 | Nomogramm von gestillten und nicht gestillten Neugeborenen _____ | 52 |
| 3.8 | Analyse der Auswirkungen der Medikamente auf die Bilirubinkonzentration _____ | 53 |
| 3.8.1 | Medikamentengruppen – ergänzter Datensatz _____ | 54 |
| 3.8.2 | Integrase-Inhibitoren – Original-Datensatz _____ | 55 |
| 3.8.3 | Protease-Inhibitor Atazanavir – Original-Datensatz _____ | 57 |
| 3.9 | Weitere Risikofaktoren für Hyperbilirubinämie _____ | 58 |
| 3.9.1 | Gestationsalter _____ | 59 |
| 3.9.1.1 | Gestationsalter – Original-Datensatz _____ | 59 |
| 3.9.1.2 | Gestationsalter – ergänzter Datensatz _____ | 60 |
| 3.9.2 | Gestationsdiabetes _____ | 62 |
| 3.9.2.1 | Gestationsdiabetes – Original-Datensatz _____ | 62 |
| 3.9.2.2 | Gestationsdiabetes – ergänzter Datensatz _____ | 63 |
| 3.9.3 | Postnatale Prophylaxe _____ | 65 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3.9.3.1 | Postnatale Prophylaxe – Original-Datensatz _____ | 65 |
| 3.9.3.2 | Postnatale Prophylaxe – ergänzter Datensatz _____ | 67 |
| 3.9.4 | Ethnizität der Kinder _____ | 69 |
| 3.9.4.1 | Ethnizität der Kinder – Original-Datensatz _____ | 69 |
| 3.9.4.2 | Ethnizität der Kinder – ergänzter Datensatz _____ | 70 |
| 3.9.5 | APGAR 5 _____ | 72 |
| 3.9.5.1 | APGAR 5 – Original-Datensatz _____ | 72 |
| 3.9.5.2 | APGAR 5 – ergänzter Datensatz _____ | 74 |
| 3.9.6 | Alter der Mutter bei Entbindung _____ | 75 |
| 3.9.7 | Neonatales Drogenentzugssyndrom _____ | 76 |
| 3.9.7.1 | Neonatales Drogenentzugssyndrom – Original-Datensatz _____ | 76 |
| 3.9.7.2 | Neonatales Drogenentzugssyndrom – ergänzter Datensatz _____ | 77 |
| 3.9.8 | Geburtsmodus _____ | 78 |
| 3.9.8.1 | Geburtsmodus – Original-Datensatz _____ | 78 |
| 3.9.8.2 | Geburtsmodus – ergänzter Datensatz _____ | 80 |
| 3.9.9 | Parität _____ | 82 |
| 3.9.9.1 | Parität – Original-Datensatz _____ | 82 |
| 3.9.9.2 | Parität – ergänzter Datensatz _____ | 83 |
| 3.9.10 | Geschlecht _____ | 84 |
| 3.9.10.1 | Geschlecht – Original-Datensatz _____ | 84 |
| 3.9.10.2 | Geschlecht – ergänzter Datensatz _____ | 85 |
| 3.10 | Kurzzusammenfassung der Ergebnisse _____ | 87 |
| 4 | Diskussion _____ | 88 |
| 4.1 | Vergleich mit Maisels <i>et al.</i> _____ | 88 |
| 4.2 | Vergleich der nichtmedikamentösen Risikofaktoren _____ | 89 |
| 4.2.1 | Gestationsalter _____ | 90 |
| 4.2.2 | Gestationsdiabetes _____ | 90 |
| 4.2.3 | Postnatale Prophylaxe _____ | 91 |
| 4.2.4 | Ethnizität _____ | 92 |
| 4.2.5 | APGAR 5 _____ | 93 |
| 4.2.6 | Alter der Mutter _____ | 93 |
| 4.2.7 | Neonataler Drogenentzug _____ | 94 |
| 4.2.8 | Geburtsmodus _____ | 94 |
| 4.2.9 | Parität _____ | 95 |
| 4.2.10 | Geschlecht _____ | 95 |
| 4.2.11 | Abschließende Beurteilung der Risikofaktoren für Hyperbilirubinämie bei exponierten und nicht exponierten Neugeborenen _____ | 96 |

| | | |
|--------|--|-----|
| 4.2.12 | Verteilung der Risikofaktoren auf die unterschiedlichen Medikamentengruppen _____ | 96 |
| 4.3 | Integrase-Inhibitoren _____ | 98 |
| 4.4 | Protease-Inhibitor Atazanavir _____ | 101 |
| 4.5 | Auswirkungen weiterer antiretroviraler Medikamente _____ | 106 |
| 4.6 | Limitationen _____ | 107 |
| 4.7 | Fazit _____ | 108 |
| 4.8 | Perspektiven für zukünftige Forschungsansätze _____ | 109 |
| | Literaturverzeichnis _____ | 111 |
| | Eidesstattliche Versicherung _____ | 118 |
| | Lebenslauf _____ | 119 |
| | Danksagung _____ | 120 |

Abbildungsverzeichnis

| | | |
|--------------|---|----|
| Abbildung 1 | Schematische Darstellung des physiologischen Bilirubinmetabolismus | 20 |
| Abbildung 2 | Schematische Darstellung des Bilirubinmetabolismus unter Atazanavir/Integrase-Inhibitor-Einnahme während der Schwangerschaft | 26 |
| Abbildung 3 | Flussdiagramm Erstellung der verwendeten Datensätze. | 35 |
| Abbildung 4 | Nomogramm mit altersbezogenen Bilirubinkonzentrationen in mg/dl | 36 |
| Abbildung 5 | Nomogramm altersbezogener Bilirubinkonzentrationen gestillter Kinder aus Maisels et al. | 37 |
| Abbildung 6 | Entscheidungsbaum zur Testauswahl für Unterschiede zwischen zwei Variablen. | 38 |
| Abbildung 7 | Bilirubin-Perzentilenkurven Maisels et al. und cART-exponierte Neugeborene | 53 |
| Abbildung 8 | Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Medikamentengruppe auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes. | 55 |
| Abbildung 9 | Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Integrase-Inhibitor und Kontrolle auf Grundlage des Original-Datensatzes. | 56 |
| Abbildung 10 | Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Atazanavir/ Kontrolle auf Grundlage des Original-Datensatzes. | 58 |
| Abbildung 11 | Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Gestationsalter auf Grundlage des Original-Datensatzes. | 60 |
| Abbildung 12 | Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Gestationsalter auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes. | 62 |
| Abbildung 13 | Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Gestationsdiabetes auf Grundlage des Original-Datensatzes. | 63 |
| Abbildung 14 | Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Gestationsdiabetes auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes. | 64 |
| Abbildung 15 | Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach postnataler Therapie auf Grundlage des Original-Datensatzes. | 66 |

| | | |
|--------------|--|----|
| Abbildung 16 | Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach postnataler Therapie auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes. | 68 |
| Abbildung 17 | Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Kindesethnizität auf Grundlage des Original-Datensatzes. | 70 |
| Abbildung 18 | Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Kindesethnizität auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes. | 72 |
| Abbildung 19 | Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach APGAR 5 auf Grundlage des Original-Datensatzes. | 73 |
| Abbildung 20 | Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach APGAR 5 auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes. | 75 |
| Abbildung 21 | Darstellung der Mittelwerte der ersten Messung der Gesamtbilirubinkonzentration in mg/dl aufgeteilt nach Alter der Mutter in Jahren. | 76 |
| Abbildung 22 | Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach neonataler Drogenentzug auf Grundlage des Original-Datensatzes. | 77 |
| Abbildung 23 | Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach neonatalem Drogenentzug auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes. | 78 |
| Abbildung 24 | Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Geburtsmodus auf Grundlage des Original-Datensatzes. | 80 |
| Abbildung 25 | Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Geburtsmodus auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes. | 81 |
| Abbildung 26 | Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Primipara/ Pluripara auf Grundlage des Original-Datensatzes. | 82 |
| Abbildung 27 | Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Primipara/ Pluripara auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes. | 84 |
| Abbildung 28 | Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Geschlecht des Kindes auf Grundlage des Original-Datensatzes. | 85 |
| Abbildung 29 | Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Geschlecht des Kindes auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes. | 86 |

Formelverzeichnis

| | |
|--|----|
| Formel 1 Berechnung der fehlenden Messwerte im ergänzten Datensatz | 44 |
|--|----|

Tabellenverzeichnis

| | | |
|------------|--|----|
| Tabelle 1 | Anzahl der fehlenden Werte vor und nach der Ergänzung | 44 |
| Tabelle 2 | Tatsächliches Alter in Tagen zu den verschiedenen Messzeitpunkten | 45 |
| Tabelle 3 | Verteilung der Risikofaktoren auf die Medikamentengruppen Kontrolle, INI, Atazanavir | 49 |
| Tabelle 4 | Überblick über verwendete antiretrovirale Medikamente während der Schwangerschaft im Patientenkollektiv | 51 |
| Tabelle 5 | Verteilung der Hyperbilirubinämie Grade aufgeteilt in Verdächtige (INI und Atazanavir) und Kontrolle. Grundlage Original-Datensatz | 52 |
| Tabelle 6 | Bilirubinkonzentration in mg/dl Mittelwert, SD, Maximum, Minimum und Anzahl zu den fünf Messzeitpunkten | 52 |
| Tabelle 7 | Gültige N des Original-Datensatzes der Kontroll- und INI-Gruppe zu den Messzeitpunkten | 57 |
| Tabelle 8 | Gültige N des Original-Datensatzes der Kontroll- und Atazanavir-Gruppe zu den Messzeitpunkten | 58 |
| Tabelle 9 | Gültige N des Original-Datensatzes der Gestationsalter-Gruppen zu den Messzeitpunkten | 60 |
| Tabelle 10 | Gültige N des Original-Datensatzes der Gestationsdiabetes-Gruppen zu den Messzeitpunkten | 63 |
| Tabelle 11 | Gültige N des Original-Datensatzes der postnatale Prophylaxe-Gruppen zu den Messzeitpunkten | 66 |
| Tabelle 12 | Gestationsalter aufgeteilt nach postnataler Prophylaxe-Gruppe | 67 |
| Tabelle 13 | Gültige N des Original-Datensatzes der Ethnizität-Gruppen zu den Messzeitpunkten | 70 |
| Tabelle 14 | Verteilung der Gestationsaltergruppen auf die APGAR 5 Gruppen | 73 |
| Tabelle 15 | Gültige N des Original-Datensatzes der APGAR 5 Gruppen zu den Messzeitpunkten | 74 |
| Tabelle 16 | Gültige N des Original-Datensatzes der neonataler Drogenentzug-Gruppen zu den Messzeitpunkten | 77 |

| | | |
|------------|---|----|
| Tabelle 17 | Kreuztabelle Gestationsalter und Kaiserschnitt | 79 |
| Tabelle 18 | Gültige N des Original-Datensatzes der Geburtsmodus-Gruppen zu den Messzeitpunkten | 80 |
| Tabelle 19 | Gültige N des Original-Datensatzes der Primipara- und Pluripara-Gruppe zu den Messzeitpunkten | 83 |
| Tabelle 20 | Gültige N des Original-Datensatzes der Geschlechts-Gruppen zu den Messzeitpunkten | 85 |

Abkürzungsverzeichnis

AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome

ANOVA: englisch: Analysis of variance, Varianzanalyse

ART: antiretrovirale Therapie

ATV: Atazanavir

AWMF: Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften

AZT: Zidovudin

cART: kombinierte antiretrovirale Therapie

GSB: Gesamtbilirubin

HIV: Humanes Immundefizienz-Virus

INI: Integrase-Inhibitor

i. v.: intravenös

NNRTI: Nichtnukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren

NRTI: Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren

PCR: Polymerase-Kettenreaktion

PI: Protease-Inhibitor

RNA: Ribonukleinsäure

SSW: Schwangerschaftswoche

UDP: Uridindiphosphat

UGT1A1: UDP-Glukuronyltransferase-1A1 (Gen)

UGT1A1: UDP-Glukuronyltransferase-1A1 (Enzym)

WHO: Weltgesundheitsorganisation

Zusammenfassung

Zielsetzung dieser retrospektiven Studie ist, die Auswirkungen einzelner Medikamentengruppen der mütterlichen kombinierten antiretroviralen Therapie (cART) HIV-infizierter Frauen während der Schwangerschaft auf den Bilirubinmetabolismus von Neugeborenen und Säuglingen in den ersten zwölf Lebenswochen zu untersuchen.

Methoden

Hierzu wurden erstmals die Bilirubinkonzentrationsmessungen über einen Zeitraum von drei Monaten an einer Kohorte von HIV- und cART-exponierten und nicht gestillten Neugeborenen und Säuglingen herangezogen. Berücksichtigt wurden nicht HIV-infizierte Neugeborene HIV-1-infizierter Mütter, die im Zeitraum vom 01.01.2005 bis zum 29.07.2017 in der HIV-Kindertagesklinik der Charité, Campus Virchow Klinikum, vorgestellt wurden und deren Mütter während der aktuellen Schwangerschaft präpartal zuverlässig mindestens über drei Wochen eine cART eingenommen hatten. Insgesamt wurden 506 HIV- und cART-exponierte nicht infizierte Neugeborene untersucht. Die Bilirubinkonzentrationsmessungen fanden in der 1.,2.,4.,6. und 12. Lebenswoche statt. Besonderes Augenmerk lag dabei auf dem Protease-Inhibitor Atazanavir (n=120) und den Integrase-Inhibitoren Raltegravir und Dolutegravir (n=32) im Vergleich zu einer Kontroll-Gruppe aus cART-Regimen ohne die genannten antiretroviralen Medikamente (n=354).

Die Beurteilung der Bilirubinkonzentrationen erfolgte unter Berücksichtigung der Verteilung und Analyse der publizierten potentiellen Einflussfaktoren auf den Bilirubinmetabolismus zwischen den unterschiedlichen cART-Regimen.

Ergebnisse

Die Bilirubinkonzentrationen der vorliegenden nicht gestillten Studienpopulation sind in den ersten vier Lebenswochen niedriger als im Vergleich zu publizierten Daten von gestillten Kindern ohne eine HIV- oder cART-Exposition. In keinem Fall liegt eine neurotoxische Hyperbilirubinämien vor.

Zwischen den einzelnen cART-Gruppen bestehen signifikante Unterschiede bezüglich der Höhe der Bilirubinkonzentrationen. Die Atazanavir-exponierten Neugeborenen zeigen in der ersten Lebenswoche und die Integrase-Inhibitor-exponierten Kinder bis zu

sechs Wochen nach Geburt höhere Bilirubinkonzentrationen jeweils im Vergleich zur Kontroll-Gruppe.

Die Ergebnisse sind mit Ausnahme des Alters der Mutter bei Entbindung und des Geburtsmodus bezüglich der nicht medikamentösen Risikofaktoren mit den anderen Studien an gesunden Kindern vergleichbar.

Höhere Bilirubinkonzentrationen werden gemessen für die nicht medikamentösen Einflussfaktoren wie Gestationsalter unter 37+0 SSW, Gestationsdiabetes, kaukasische Ethnizität, APGAR-Score 5-8 Punkte nach 5 Minuten, Primipara, männliches Geschlecht, Kaiserschnittgeburten sowie die postnatale Prophylaxegruppe (10 Tage Zidovudin intravenös) im Vergleich zu den jeweiligen Komplementärgruppen.

Diskussion

Die vorliegende monozentrische Studie zeigt erstmals auf Grundlage einer großen Studienpopulation signifikante Unterschiede zwischen Integrase-Inhibitor-, Atazanavir- und Kontroll-Gruppe in Bezug auf die Bilirubinkonzentrationen bei Neugeborenen und Säuglingen. Bisher publizierten Studien erachten neurotoxische Hyperbilirubinämien als Atazanavir- und Raltegravir- assoziierte Risiken für möglich, die Bilirubinkonzentrationen der vorliegenden Studie sind jedoch bei allen cART-Gruppen niedriger als publizierte Daten von gestillten Neugeborenen und Säuglingen ohne cART-Exposition. Daher ist eine intrauterine Integrase-Inhibitor- oder Atazanavir-Exposition hinsichtlich erhöhter Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen- und Säuglinge als sicher anzusehen.

Abstract

The purpose of this retrospective study was to investigate the effects of different drug groups of maternal combined antiretroviral therapy (cART) of HIV-infected women during pregnancy on the bilirubin metabolism of their newborns and infants during the first twelve weeks after birth.

Methods

We reviewed bilirubin-levels of HIV- and cART-exposed, non-infected and non-breastfed children (n=506) for twelve weeks after birth at Charité from 01/2005 to 07/2017. Only HIV-non-infected newborns of HIV-1-infected mothers were included and whose mothers had steadily taken cART prenatally for at least three weeks. Children's Bilirubin-levels were measured 1,2,4,6 and 12 weeks after birth.

We compared the protease-inhibitor Atazanavir (n=120) and the integrase-inhibitors Raltegravir or Dolutegravir (n=32) to a control group consisting of cART-regimes without the mentioned antiretroviral drugs (n=354).

The evaluation of the bilirubin-levels was carried out in consideration of the distribution and analysis of the published potential risk factors for the bilirubin metabolism between the compared cART-regimes.

Results

In the first four weeks of life the bilirubin-levels of the non-breastfed study population were below the published bilirubin-levels of the breastfed non-HIV or cART-exposed children. There were no cases of neurotoxic hyperbilirubinemias. Between the cART-groups there were significant differences in the bilirubin-levels at different points in time. Compared to the control-group Atazanavir exposed newborns were found to have higher bilirubin-levels in the first week of life and the integrase-inhibitor-exposed infants up to six weeks of life.

Apart from the age of the mother at delivery and the mode of birth, results regarding non-drug risk factors were comparable to other published studies in healthy children. Higher bilirubin-levels were measured for the non-drug risk factors such as gestational age below 37+0 weeks, gestational diabetes, Caucasian ethnicity, APGAR 5 score 5-8 points, primipara, male gender, Caesarean section and postnatal-prophylaxis-group (10 days AZT i.v.) compared to the respective complementary-groups.

Discussion and Conclusion

This large single institutional study is the first to show significant differences between integrase-inhibitor, atazanavir and control cART with respect to bilirubin-levels in newborns and infants.

While some previously published studies have considered possible risks for neurotoxic hyperbilirubinemia associated with Atazanavir and Raltegravir, this could not be observed in the present study.

Furthermore, we could show lower bilirubin-levels in all cART-groups compared to published data from breastfed newborns and infants without cART exposure.

Integrase-inhibitors and Atazanavir can therefore be considered safe during pregnancy, at least regarding their influence on the bilirubin metabolism in newborns and infants.

1 Einleitung

„Ending the AIDS epidemic by 2030“ (1) ist das erklärte Ziel der Vereinten Nationen (2). Als Zwischenziel sind die 90-90-90 Marken bis 2020 gesetzt worden, das bedeutet 90% aller Humane-Immundefizienz-Virus (HIV)-Infizierten sollen über ihren HIV-Infektionsstatus informiert sein, 90% aller informierten HIV-infizierten Menschen sollen eine dauerhafte antiretrovirale Therapie erhalten und 90% davon sollen eine suffiziente Suppression der HI-Viruslast durch die Therapie erreichen (3).

Diese Ziele waren 2018 noch nicht erreicht. Weltweit waren schätzungsweise 37,9 Millionen Menschen mit HIV infiziert, knapp zwei Drittel (23,3 Millionen) davon erhielten eine antiretrovirale Therapie. Jede Woche infizierten sich weltweit ca. 6000 Frauen zwischen 15 und 24 Jahren mit dem HI-Virus. Seit Jahren ist die Zahl der HIV-Neuinfektionen bei Kindern zwischen 0 und 14 Jahren rückläufig von 450 000 im Jahr 2000 auf 160 000 im Jahr 2018. Der Großteil - ca. 95% - dieser Betroffenen lebt in Afrika. Der Prozentsatz an HIV-infizierten schwangeren Frauen, die Zugang zu antiretroviralen Medikamenten hatten, um einerseits eine suffiziente Therapie ihrer HIV-Infektion zu erhalten und gleichzeitig die Transmission des HI-Virus auf ihre Kinder zu verhindern, lag deutlich darüber, weltweit waren es in dieser Gruppe ca. 82% (4).

In Deutschland lebten Ende 2017 geschätzt 86 000 HIV-infizierten Menschen, davon waren knapp 20% Frauen, insgesamt ca. 17 000. Bei der Mehrheit der betroffenen Frauen wurde die Diagnose der HIV-Infektion in der Schwangerschaft durch das routinemäßige Schwangerenscreening gestellt (5).

Laut den aktuellen internationalen und nationalen Empfehlungen soll jeder HIV-infizierte Mensch eine kombinierte antiretrovirale Therapie (cART) erhalten (6,7). Dies gilt auch für HIV-infizierte Schwangere (8,9). Die Mehrheit der antiretroviralen Medikamente sind für Schwangere nicht zugelassen, werden jedoch als „off label use“ in der Schwangerschaft eingesetzt und in den Leitlinien empfohlen (9).

Die Prävention der HIV-Mutter-Kind-Transmission durch antiretrovirale Medikamente stellt eine Erfolgsgeschichte dar, begonnen 1994 durch Connor *et al.* mit der Reduktion der Mutter-Kind-Transmission durch prä-, intra- und postnataler Zidovudin (AZT) Behandlung von Mutter und Neugeborenem (10). Heute kann unter frühzeitig begonnener suffizienter cART eine HIV-Infektion der Neugeborenen fast immer verhindert werden (11).

Bei optimaler cART in der Schwangerschaft und einem Stillverzicht kann das Transmissionsrisiko von der Mutter auf das Kind auf unter 1% gesenkt werden (11,12). In Deutschland gab es 2017 keine HIV-Neuinfektion durch Mutter-Kind-Transmission (13). Allerdings verweisen die aktuellen Deutsch-Österreichischen Leitlinien für eine cART in der Schwangerschaft aufgrund der begrenzten Studienlage und klinischen Erfahrung auf eine noch nicht abschließend geklärte Nutzen-Risiko-Abschätzung für die antiretroviralen Medikamente während der Schwangerschaft, weil das Nebenwirkungsprofil der einzelnen antiretroviralen Medikamentenklassen zu Lasten der Neugeborenen nicht ausreichend erforscht ist (9).

Diese Problematik bei der Erforschung unerwünschter Arzneimittelwirkungen der antiretroviralen Medikamente auf exponierte Neugeborenen wird am Beispiel der im September 2018 im New England Journal of Medicine veröffentlichten Zwischenergebnisse einer Studie in Botsuana deutlich. In der Tsepamo-Studie wurde eine erhöhte Inzidenz von Neuralrohrdefekten bei Neugeborenen beobachtet, deren Mütter zum Zeitpunkt der Empfängnis Dolutegravir eingenommen hatten (14). Dolutegravir ist ein antiretrovirales wirksames Medikament aus der Gruppe der Integrase-Inhibitoren (INI). Raltegravir und Dolutegravir, beides antiretrovirale Medikamente aus der Gruppe der INIs, werden nach den aktuellen Deutsch-Österreichischen Empfehlungen zur antiretroviralen Therapie als möglicher Kombinationspartner für die Initialtherapie HIV-infizierter Erwachsener empfohlen (6). Damit ist davon auszugehen, dass zunehmend auch HIV-infizierte Frauen zum Zeitpunkt der Empfängnis eine INI-haltige Therapie erhalten werden. Seit 2018 gibt es einen Roten Handbrief, der vor dem Einsatz von Dolutegravir bei Frauen mit Kinderwunsch und in der Frühschwangerschaft warnt (15).

Die vorliegende retrospektive Studie untersucht, ob die mütterliche cART in Abhängigkeit von den eingesetzten antiretroviralen Medikamenten Auswirkungen auf die maximale Höhe der Bilirubinkonzentration und die Dauer der erhöhten Bilirubinkonzentrationen bei HIV-exponierten und nicht infizierten Neugeborenen und Säuglingen hat. Für die Identifizierung antiretroviraler Medikamente, die potentiell den Bilirubinmetabolismus des Neugeborenen durch intrauterine Exposition beeinflussen, wird sowohl die Fachinformation herangezogen als auch eine Literaturrecherche in der PubMed Datenbank durchgeführt.

Einzelne Fallberichte und Studien mit kleiner Studienpopulation zeigen vor allem für die antiretroviralen Substanzklassen INI und Protease-Inhibitoren (PI) als mögliche unerwünschte Arzneimittelwirkung erhöhte Bilirubinkonzentrationen bei cART-exponierten und nicht HIV-infizierten Neugeborenen (16–18).

Einige antiretrovirale Substanzen sind gut plazentagängig (19) und können durch Hemmung der Uridindiphosphat-Glukuronyltransferase (UDP-Glukuronyltransferase) zu einer Erhöhung der Bilirubinkonzentration bei exponierten Neugeborenen führen (16–18).

1.1 HIV-Behandlung

Grundsätzlich sollen HIV-infizierte Schwangere wie nichtschwängere Erwachsene antiretroviral behandelt werden (9). Jede HIV-Infektion stellt eine Indikation zur Behandlung mittels einer cART dar. Diese setzt sich aus mindestens drei antiretroviral wirksamen Medikamenten zusammen. Dabei werden zwei nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI) mit jeweils einem nicht nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitor (NNRTI), einem PI oder einem INI kombiniert (6).

1.2 HIV-Medikamente in der Schwangerschaft

Die Deutsch-Österreichischen Leitlinien unterscheiden zwischen HIV-infizierten Schwangeren und nichtschwangeren Erwachsenen bei der Kombination der unterschiedlichen antiretroviralen Medikamente (9).

Die antiretrovirale Behandlung von HIV-infizierten Schwangeren verfolgt mehrere gleichrangige Ziele. Zum einen sollen die Schwangeren optimal hinsichtlich ihrer HIV-Infektion mit suffizienter Suppression der HI-Viruslast behandelt werden. Zum anderen soll eine Mutter-Kind-Transmission von HIV bei gleichzeitig möglichst geringen Nebenwirkungen für Mutter und Kind verhindert werden (9).

Die Behandlungskonzepte von HIV-infizierten Frauen während der Schwangerschaft haben sich seit Einführung des ersten Prophylaxe-Regimes mit einer AZT-Monotherapie, basierend auf der 076-Studie von Connor *et al.* aus dem Jahre 1994 (10), zu einer cART als Standardtherapie verändert (20,21). Bei optimaler Durchführung einer cART lässt sich damit die Mutter-Kind-Transmissionsrate auf <1% senken (12). Ohne Therapie liegt die Mutter-Kind-Transmissionsrate während Schwangerschaft, Geburt und Stillen zwischen 15-45% (22).

1.3 Stillverzicht bei HIV-infizierten Müttern

HIV-infizierten Müttern wird in Deutschland empfohlen, auf das Stillen zu verzichten, um eine postnatale HIV-Transmission zu vermeiden. Bedenken bestehen auch hinsichtlich einer möglichen Toxizität aufgrund einer weiteren Exposition gegenüber antiretroviraler Medikamente durch die Muttermilch (23). In Deutschland, Österreich und anderen westlichen Industrienationen ist die Möglichkeit einer adäquaten Säuglingsformulanahrung gegeben und somit im Nutzen-Risiko-Profil dem Stillen bei HIV-infizierten Müttern vorzuziehen. Lediglich in Ländern, in denen eine adäquate Säuglingsernährung bei Stillverzicht nicht uneingeschränkt möglich ist, wird von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) eine sechs-monatige exklusive Stillzeit empfohlen (9). Auch in westlichen Industrienationen wird von HIV-infizierten Müttern unter suffizienter Virussuppression mittels cART der Wunsch zu Stillen geäußert (24).

1.4 Therapieregime

Die Deutsch-Österreichischen Leitlinien empfehlen zur Behandlung während der Schwangerschaft bevorzugt als NRTI die Kombination von Tenofovir und Emtricitabin oder Abacavir und Lamivudin, als NNRTI Nevirapin (nur bei CD4-Zellzahl $<250/\mu\text{l}$) und als PI die jeweils mit Ritonavir geboosterten Wirkstoffe Atazanavir, Darunavir und Lopinavir. Des Weiteren wird Raltegravir aus der Gruppe der INIs als sinnvoll erachtet, wenn eine schnelle Reduzierung der HIV- Ribonukleinsäure (RNA) erreicht werden soll. Dies ist bei Schwangeren mit später HIV-Erstdiagnose, hoher HI-Viruslast oder später Erstvorstellung in der Schwangerschaft bei bekannter HIV-Infektion der Fall (9). Frauen im gebärfähigen Alter sollten generell eine cART erhalten, die auch im Falle einer Schwangerschaft unverändert eingenommen werden kann. Bei einer bisher unbehandelten schwangeren HIV-infizierten Frau sollte die Therapie möglichst erst nach Abschluss der Organogenese, nach 13+0 Schwangerschaftswochen (SSW), begonnen werden (9).

Bei einigen antiretroviralen Medikamenten wurden Auffälligkeiten der Bilirubinkonzentrationen bei intrauterin Medikamenten-exponierten Neugeborenen beschrieben (9).

Um die potentiellen Auswirkungen antiretroviraler Medikamente auf den Bilirubinmetabolismus von Neugeborenen und Säuglingen erläutern zu können, wird im folgenden Abschnitt zunächst der physiologische Bilirubinmetabolismus beschrieben.

1.5 Bilirubinmetabolismus

Bilirubin entsteht vor allem durch den Abbauprozess von Erythrozyten, dies macht etwa 85% des anfallenden Bilirubins aus, die verbleibenden 15% stammen aus dem Abbau anderer Hämproteine. Beim Abbau der Erythrozyten fallen zunächst Hämproteine an, diese werden durch die Hämoxxygenase zu Biliverdin abgebaut. Die Biliverdin-Reduktase wandelt das Biliverdin in Bilirubin um. Dieses Bilirubin wird auch als unkonjugiertes oder auch indirektes Bilirubin bezeichnet. Das indirekte Bilirubin ist aufgrund seiner Lipophilie toxisch und wegen seiner schlechten Wasserlöslichkeit im Blut größtenteils an Albumin gebunden. Die weitere Metabolisierung des indirekten Bilirubins findet in der Leber statt, das Bilirubin wird ohne Albumin in die Hepatozyten aufgenommen (25,26 S.250-251,27 S.809-811). Die Menge an indirektem Bilirubin, die im Körper zirkuliert und sich nicht in den Geweben absetzt, ist durch die Menge und die Bindungsfähigkeit des Albumins mitbestimmt (25).

Das entscheidende Schlüsselenzym für den Bilirubinstoffwechsel ist die UDP-Glukuronyltransferase, die die Umwandlung von indirektem Bilirubin in direktes Bilirubin katalysiert, dies geschieht in den Hepatozyten. Das Bilirubin wird durch die UDP-Glukuronyltransferase glucoronidiert. Dabei entsteht Bilirubindigluconid, wenn das Bilirubin an beiden Carboxylgruppen glucoronidiert wird oder Bilirubinmonogluconid, wenn nur eine Carboxylgruppe glucoronidiert wird. Diese Form des Bilirubins wird als konjugiertes oder direktes Bilirubin bezeichnet. Es ist gut wasserlöslich und wird in die Canaliculi biliferi sezerniert und über den enterohepatischen Kreislauf ausgeschieden (25,S.250-251 26,27 S.809-811,28).

Die hauptverantwortliche Isoform der UDP-Glukuronyltransferase ist die UDP-Glukuronyltransferase-1A1 (UGT1A1). Diese wird durch das *UGT1A1*-Gen codiert. Polymorphismen dieses Gens beeinflussen die Enzymaktivität der UGT1A1 (vgl. Abbildung 1, 30).

1.6 Hyperbilirubinämie und Ikterus

Als Hyperbilirubinämie wird eine Erhöhung des Bilirubins im Blut bezeichnet (30). Ein klinisches Symptom der Hyperbilirubinämie ist der Ikterus, eine sichtbare Gelbfärbung der Haut, Konjunktivae und Schleimhaut (31).

Ein Ikterus entsteht durch die Akkumulierung des orange-gelben Pigments Bilirubin in den Skleren, der Haut oder anderen Geweben. Dies entsteht durch ein Missverhältnis

zwischen Produktion und Abbau des Bilirubins (25). Zuerst erhöht sich die Konzentration des Bilirubins im Blut, die sogenannte Hyperbilirubinämie. Ab einer Bilirubinkonzentration von 2,5 mg/dl tritt das Bilirubin vom Blut über das Gefäßendothel über und wird im Körpergewebe gebunden (29,31).

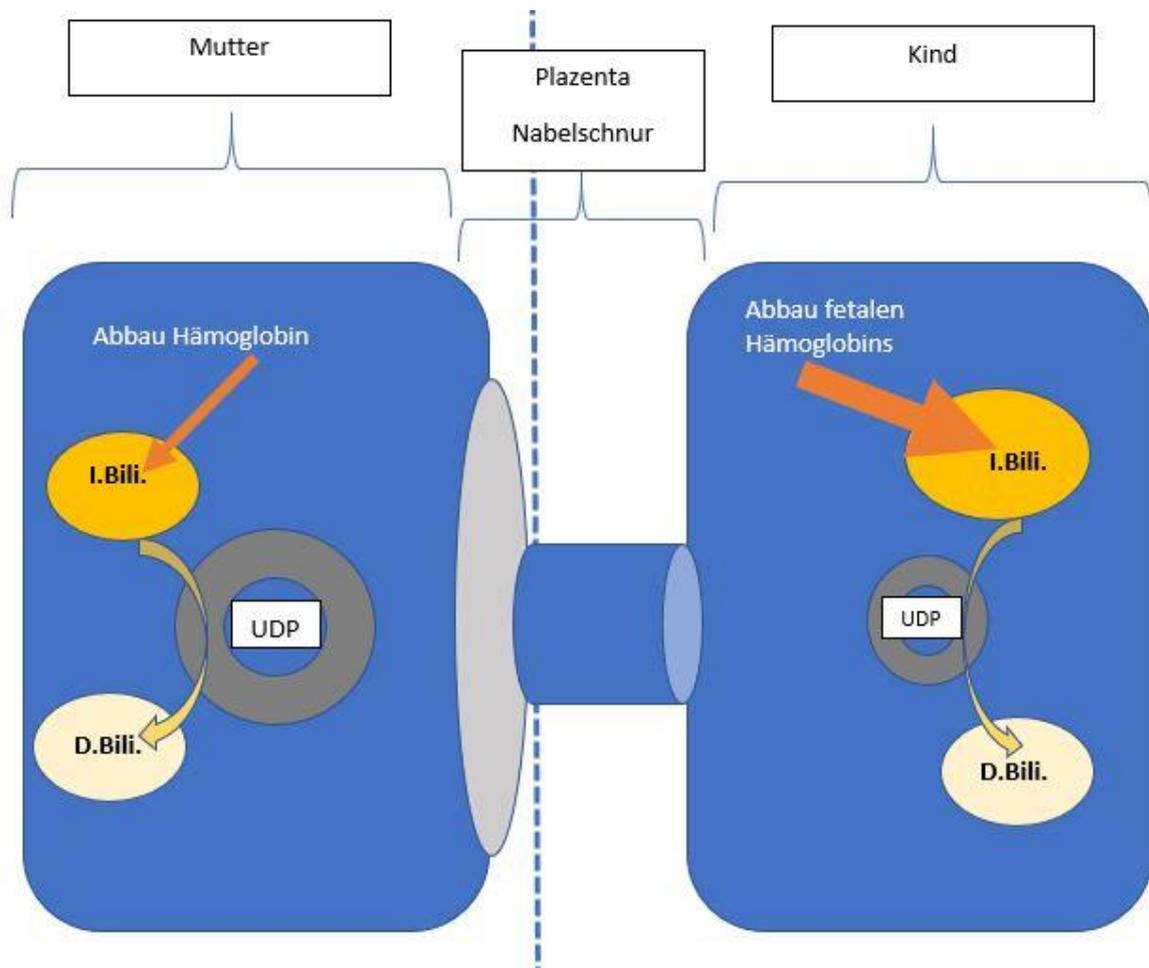
1.7 Icterus neonatorum

Physiologisch können Neugeborene einen Ikterus mit Beginn des dritten bis sechsten Lebensstages entwickeln, der sich in der Regel bis zum zehnten Lebenstag zurückbildet (32). Hervorgerufen wird dieser Neugeborenenikterus durch verschiedene Ursachen. Zum einen wird das fetale Hämoglobin bei Neugeborenen in der ersten Lebenswoche abgebaut und durch adultes Hämoglobin ersetzt, durch die somit verkürzte Lebenszeit der Erythrozyten und dem damit verbundenen erhöhten Abbau des Hämoglobins (33) resultiert ein erhöhter Plasmaspiegel des indirekten Bilirubins. Zum anderen ist das hepatische Entgiftungssystem noch nicht vollständig ausgereift und so kann das vermehrt anfallende indirekte Bilirubin nicht adäquat von der UDP-Glukuronyltransferase glukuronidiert werden (27 S.809-811,32,33). Diese Faktoren führen dazu, dass es bei bis zu 60% der Neugeborenen zu einem physiologischen Neugeborenenikterus in der ersten Lebenswoche kommt (34). In der Regel ist dieser Anstieg des unkonjugierten Bilirubins ohne klinische Relevanz (35).

Hierbei ist zu berücksichtigen, dass bei Neugeborenen, insbesondere bei Frühgeborenen, die Blut-Hirn-Schranke noch nicht vollständig ausgereift und funktionstüchtig ist. Daher besteht bei stark erhöhten Plasma-Bilirubinkonzentrationen die Gefahr der Anreicherung des Bilirubins im zentralen Nervensystem bis hin zum Kernikterus mit dauerhaften neurologischen Defiziten. Der Großteil des unkonjugierten (indirekten) Bilirubins ist im Plasma an Albumin gebunden. Ein Teil des unkonjugierten Bilirubins ist jedoch nicht gebunden sondern „frei“ und kann die Blut-Hirn-Schranke überwinden und sich im Gehirn ablagern und dieses schädigen (36,37). Dieses Krankheitsbild ist in Deutschland äußerst selten, so gab es 2005 nur zwei bis sieben Fälle (25,27 S.809-811,32,35).

Aufgrund einer Hämolyse kann es zu einem pathologischen Anstieg der Bilirubinkonzentrationen kommen. Ursachen dafür können der klassische Morbus haemolyticus neonatorum, eine Rhesus-Faktor-Inkompatibilität von Mutter und Kind, Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel oder auch Hämoglobinopathien, wie Sphärozytosen oder Elliptozytosen sein (35).

1.8 Schematische Darstellung des physiologischen Bilirubinmetabolismus



Legende:

I.Bili.: Indirektes Bilirubin, **D.Bili.:** Direktes Bilirubin, **UDP:** UDP-Glukuronyltransferase

Abbildung 1 Schematische Darstellung des physiologischen Bilirubinmetabolismus (Eigene Darstellung)

Abbildung 1 zeigt den physiologischen Bilirubinmetabolismus in vereinfachter Darstellung. Die UDP-Glukuronyltransferase in den Hepatozyten katalysiert die Umwandlung von indirektem schlecht wasserlöslichem Bilirubin (I.Bili) in direktes gut wasserlösliches Bilirubin (D.Bili). Nach der Geburt wird beim Neugeborenen das fetale Hämoglobin abgebaut und durch adultes Hämoglobin ersetzt. Daraus resultierend fällt bei Neugeborenen vermehrt indirektes Bilirubin an. Zusätzlich ist die UDP-Glukuronyltransferase vor allem bei Frühgeborenen zum Teil noch nicht voll funktionstüchtig, sodass es zu einem physiologischen Neugeborenenikterus kommen kann.

1.9 Icterus prolongatus

Die Diagnose eines Icterus prolongatus wird zumeist klinisch durch einen sichtbaren Ikterus gestellt. Der Zeitrahmen, ab wann ein sichtbarer Ikterus als Ikterus prolongatus bezeichnet wird, ist nicht einheitlich definiert. Die Angaben der deutschen und britischen Leitlinien schwanken zwischen dem 14. und dem 28. Lebenstag nach der Geburt (35,38).

Bei Neugeborenen mit einem Icterus prolongatus sollten zuerst eine Hypothyreose, Fehlbildungen der Gallenwege oder Leberstoffwechselstörungen ausgeschlossen werden (35).

Gestillte Neugeborene haben sowohl für den Icterus prolongatus als auch für den Icterus neonatorum ein höheres Risiko als nicht gestillte Neugeborene. Dieser sogenannte 'breast milk jaundice' ist in der Regel harmlos, jedoch ist der genaue Entstehungsmechanismus bis heute nicht vollständig geklärt (38).

Das bis heute gültige und in den deutschen Leitlinien verwendete Nomogramm für Bilirubinkonzentrationen von Neugeborenen basiert weitestgehend auf den Ergebnissen von Bhutani 1999. Diese Studie schloss Neugeborene ab einem Gestationsalter bei Geburt von >35 SSW ein, ca. 50% der Probanden wurden gestillt (39).

Neuere Langzeit-Bilirubin-Messungen bis zum 28. Lebenstag an großen Kohorten wurden von Maisels *et al.* durchgeführt (vgl. Abbildung 5), jedoch nur an vorrangig gestillten Neugeborenen (40). Für nicht gestillte HIV- und cART-exponierten Neugeborene und Säuglinge existieren keine Studien mit großen Kohorten über den Langzeitverlauf der Bilirubinkonzentrationen.

1.10 Risikofaktoren für Hyperbilirubinämie

Studien zum physiologischen Verlauf eines persistierenden Ikterus sowie zu Risikofaktoren für eine Hyperbilirubinämie wurden zumeist bei gestillten Neugeborenen durchgeführt, die weder HIV- noch cART-exponiert waren. Daher werden in der vorliegenden Studie als Vergleichsgrundlage und zur Ermittlung bekannter Risikofaktoren für Hyperbilirubinämie eben diese Studien verwendet. Die Studienpopulation der Vergleichsstudien aus den USA und Schweden sind sowohl an gestillten als auch an nicht gestillten Neugeborenen durchgeführt worden.

Norman *et al.* untersuchten als Outcome die nicht hämolytische neonatale Hyperbilirubinämie, definiert als eine mittels Phototherapie oder Austauschtransfusion behandlungsbedürftige Hyperbilirubinämie mit einer Bilirubinkonzentration von über 20 mg/dl bei Reifgeborenen. Die Studienpopulation war überwiegend (90%) kaukasisch (41). Keren *et al.* untersuchten als Outcome ebenfalls Bilirubinkonzentrationen über der 95. Perzentile, es wurden auch Frühgeborene (20%) miteingeschlossen (42).

Eine Hyperbilirubinämie bei Neugeborenen wird durch viele verschiedene Faktoren beeinflusst. So spielt das Gestationsalter bei Geburt eine Rolle. Eine Geburt zwischen der 35. und 38. SSW erhöht das Risiko für eine Hyperbilirubinämie, bei einer Geburt nach der 41. SSW ist die Studienlage widersprüchlich. In den Studien von Newman *et al.* aus dem Jahr 1999 und Norman *et al.* aus dem Jahr 2015 sind ein hohes Gestationsalter mit einem niedrigen Risiko für eine Hyperbilirubinämie verbunden, wohingegen bei Keren *et al.* ein Gestationsalter ≥ 40 . Woche mit einem erhöhten Risiko assoziiert wird (34,41–43).

Der Geburtsmodus beeinflusst ebenfalls das Risiko für eine Hyperbilirubinämie, ein elektiver Kaiserschnitt ist bei Norman *et al.* mit einem niedrigen Risiko verbunden, bei Keren *et al.* wird die Art des Kaiserschnitts nicht unterschieden und ist ebenfalls mit einem niedrigen Risiko assoziiert. Das Risiko erhöht sich bei fehlgeschlagener Vakuumextraktion, Vakuumextraktion, Geburtseinleitung generell, Oxytocingabe während der Geburt und frühzeitigem Blasensprung (41,42).

Die Ethnizität der Mutter hat ebenso Einfluss, hierbei haben Kinder asiatischer Mütter ein erhöhtes und Kinder afrikanischer oder afroamerikanischer Mütter ein geringeres Risiko für eine Hyperbilirubinämie im Vergleich zu Kindern mit kaukasischen Müttern (34,41–43).

Neugeborene mit einem hohen Geburtsgewicht und Large-for-gestational-Age zeigen ein erhöhtes Risiko. Bezüglich Small-for-gestational-Age sind die Studien geteilter Meinung. Norman *et al.* sehen es mit einem erhöhten und Keren *et al.* mit einem niedrigen Risiko verbunden (41,42).

Neugeborene älterer Mütter über dem 30. Lebensjahr weisen ein erhöhtes und Neugeborene sehr junger Mütter unter 20 Jahren ein niedriges Risiko auf. Ebenso hat das Geschlecht des Neugeborenen einen Einfluss. Jungen haben ein höheres Risiko als Mädchen. Sowohl ausschließlich gestillte Neugeborene als auch Neugeborene, die kombiniert durch Stillen und Formulanahrung ernährt werden, sind mit einem höheren

Risiko belastet. Des Weiteren sind Primipara, mütterlicher Diabetes und Übergewicht der Mutter mit einem erhöhten Risiko vergesellschaftet (34,41–43).

1.11 Auswirkungen antiretroviraler Medikamente auf den Bilirubinmetabolismus

Die Auswirkungen einzelner antiretroviraler Medikamente auf den Bilirubinmetabolismus des Neugeborenen sind in folgenden Studien untersucht worden. Mandelbrot *et al.* (Atazanavir, 23 Kinder von 22 Müttern) (16), Clarke *et al.* (Raltegravir, 19 Mutter-Kind-Paare) (18) und Pain *et al.* (Dolutegravir, Fallbeispiel) (17) zeigen bereits erhöhte Konzentrationen und länger persistierende Bilirubinerhöhungen in cART-exponierten, HIV-exponierten, nicht HIV-infizierten Säuglingen.

1.12 Medikamentengruppen

1.12.1 Integrase-Inhibitoren

Zu den INI zählen Dolutegravir, Raltegravir und Elvitegravir (6). Für alle drei Vertreter dieser Substanzklasse ist eine signifikante Plazentatransferrate nachgewiesen (19,44).

1.12.1.1 Raltegravir

Raltegravir ist sehr gut plazentagängig und im Nabelschnurblut von Neugeborenen in höheren Konzentrationen 7,37 bis 15,5-fach im Vergleich zu mütterlichen Plasmakonzentrationen nachweisbar (19). Die Eliminationszeit beim Neugeborenen ist sehr variabel und zum Teil stark verlangsamt. Es wird vermutet, dass die verlängerten Abbauzeiten der Raltegravir-Konzentrationen durch eine niedrige Enzymaktivität der UGT1A1 bedingt sein könnten. Bisher lässt sich hierfür jedoch kein signifikanter Zusammenhang in den Studien nachweisen (18). Sowohl Bilirubin als auch Raltegravir werden durch die UGT1A1 metabolisiert. Des Weiteren binden beide Substanzen im Blut an die gleiche Albuminbindungsstelle. Daraus wird gefolgert, dass dies die Ursache für einen leichten Anstieg von ungebundenem Bilirubin im Blut ist (18). Aufgrund der teilweise hohen Raltegravir-Konzentrationen wird ein erhöhtes Risiko für neurotoxische Bilirubinerhöhungen für möglich erachtet, vor allem dann, wenn weitere Risikofaktoren, wie zum Beispiel eine Frühgeburtlichkeit vorliegen (18,45).

1.12.1.2 Dolutegravir

Die Elimination von Dolutegravir erfolgt ebenfalls vorrangig durch die Metabolisierung mittels UDP-Glukuronyltransferase (46).

Zur Plazentatransferrate liegen zurzeit nur einzelne Fallberichte vor. Bei einem reifen Neugeborenen von 38+5 SSW, dessen Mutter während der gesamten Schwangerschaft eine Dolutegravir-haltige cART erhielt, wurden im Nabelschnurblut 1,25-fach erhöhte Plasmakonzentrationen von Dolutegravir im Vergleich zum mütterlichen Blut gemessen, die Halbwertszeit von Dolutegravir beim Neugeborenen war um das Fünffache verlängert. Das Kind hatte während der ersten sechs Lebenswochen leicht erhöhte Bilirubinkonzentrationen mit einem Ikterus (47).

Eine weiteren Publikation berichtet über zwei Schwangere, die in den letzten Wochen vor Entbindung Dolutegravir als Teil ihrer cART erhielten und bei denen bei Entbindung im Nabelschnurblut ebenfalls höhere Dolutegravir-Konzentrationen im Vergleich zum mütterlichen Blut gemessen wurden. Auch hier wurde bei den Neugeborenen von einer signifikanten in-utero Exposition von Dolutegravir ausgegangen. Die Neugeborenen waren im acht Wochen Follow-up gesund und nicht HIV-infiziert. Es gibt keine Angaben zu Bilirubinkonzentrationen (48).

Weitere Publikation berichten über ein Frühgeborenes (35. SSW), dessen Mutter in den letzten zwei Wochen vor der Entbindung zu einem Atazanavir-haltigen cART-Regime zusätzlich Dolutegravir erhielt. Auch dieses Frühgeborene hatte eine 1,3-fach erhöhte Dolutegravir Konzentrationen im Blut im Vergleich zum mütterlichen Plasma Dolutegravirspiegel und eine vierfach verlängerte Halbwertszeit des Medikamentes. Aufgrund einer Hyperbilirubinämie war eine Phototherapie erforderlich (17).

1.12.1.3 Protease-Inhibitoren

Zu den PI zählen Darunavir, Atazanavir, Lopinavir, Fosamprenavir, Saquinavir, Indinavir und Ritonavir. PI werden in der Regel mit Ritonavir geboostert (6).

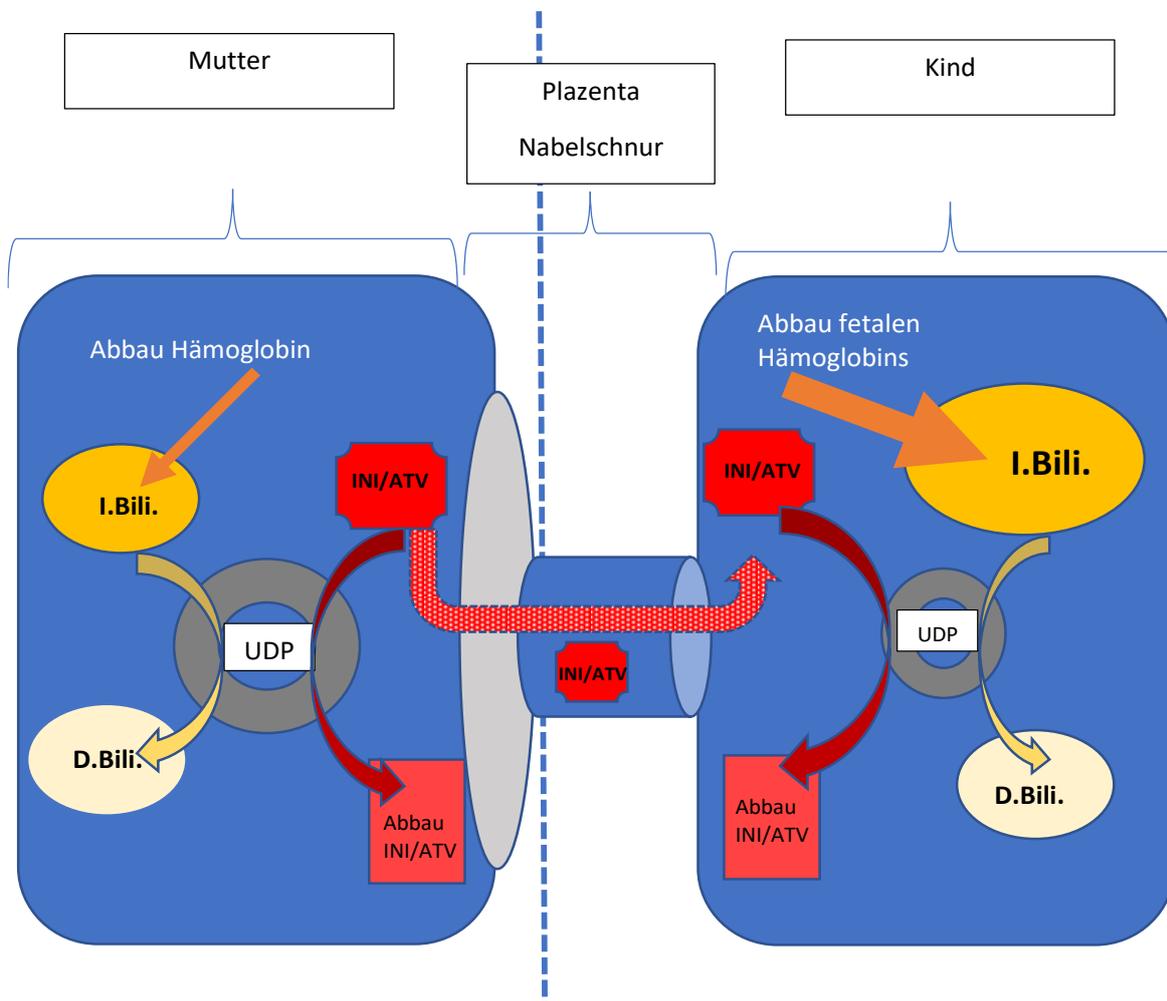
PI sind generell deutlich schlechter plazentagängig als INIs. Studien zeigen lediglich für Atazanavir, Darunavir und Lopinavir Plazentatransferraten, wobei dieser Transfer durch unterschiedlich starke Medikamenten-Plasmaprotein-Bindung variieren kann. Für die anderen Vertreter der PI wird ein plazentarer Transfer nicht sicher nachgewiesen (19).

1.12.1.4 Atazanavir

Für Erwachsene unter Atazanavir-Therapie wird eine Assoziation mit unkonjugierter Hyperbilirubinämie beschrieben. Hervorgerufen wird diese Erhöhung der Bilirubinkonzentration durch die Inhibierung der UDP-Glukoronyltransferase durch Atazanavir (49). Atazanavir wird nur in geringem Maße aus dem mütterlichem Blut über die Plazenta zum Fötus transferiert (8). So liegt die Atazanavirkonzentration im Nabelschnurblut nur zwischen 13 und 24% der mütterlichen Atazanavirkonzentration (19). Die Auswirkungen auf den Bilirubinmetabolismus von Neugeborenen, deren Mütter mit Atazanavir während der Schwangerschaft behandelt werden, sind nach aktueller Studienlage unklar. So wird sowohl von leichten Bilirubinerhöhungen (50), als auch von zum Teil starken Bilirubinerhöhungen, die mittels Phototherapie behandelt wurden (16,51), berichtet.

Für den mütterlichen Bilirubinmetabolismus kann ein signifikanter Unterschied zwischen dem Genotyp der UGT1A1 und der Bilirubinkonzentration nachgewiesen werden, bei den Neugeborenen wird kein signifikanter Unterschied festgestellt (28,51).

1.13 Schematische Darstellung des Bilirubinmetabolismus unter Atazanavir-/Integrase-Inhibitor-Einnahme der Mutter während der Schwangerschaft



Legende:

I.Bili.: Indirektes Bilirubin, **D.Bili.:** Direktes Bilirubin, **UDP:** UDP-Glukuronyltransferase, **INI/ATV:** Integrase-Inhibitoren/ Atazanavir, **Abbau INI/ATV:** glukoronidierte INI/ATV, Abbauprodukt

Abbildung 2 Schematische Darstellung des Bilirubinmetabolismus unter Atazanavir/Integrase-Inhibitor-Einnahme während der Schwangerschaft (Eigene Darstellung)

Abbildung 2 zeigt den Bilirubinmetabolismus unter antiretroviraler Therapie während der Schwangerschaft in vereinfachter Darstellung. Der Metabolismus von Atazanavir und INIs findet ebenfalls via UDP-Glukuronyltransferase statt. Durch den Abbau von Atazanavir und INIs wird der Abbau von indirektem Bilirubin gehemmt und es kann zu einer Erhöhung des indirekten Bilirubins kommen. Atazanavir kann diaplazentar von

der Mutter zum Fötus transferiert werden und so auch dort die Aktivität der UDP-Glukuronyltransferase hemmen. Die zusätzliche Behinderung des Abbauprozesses des indirekten Bilirubins kann zu einem erhöhten Risiko für Hyperbilirubinämie und Ikterus beim Neugeborenen führen.

1.14 Zielsetzung der Studie

Die vorliegende retrospektive Studie beschäftigt sich mit der Frage, ob die mütterliche cART in Abhängigkeit von den eingesetzten antiretroviralen Medikamenten Auswirkungen auf die Höhe der Bilirubinkonzentration und Dauer der erhöhten Bilirubinkonzentration von HIV-exponierten, nicht HIV-infizierten Neugeborenen und Säuglingen hat.

Der aktuelle Forschungsstand zu diesem Thema beruht auf Beobachtungen aus einzelnen Fallbeispielen oder Studien mit kleineren Fallzahlen. Zum Teil sind die Ergebnisse in den bisher veröffentlichten Studien widersprüchlich, daher soll die Gültigkeit dieser Aussagen in der vorliegenden Studie anhand eines größeren Datenkollektivs überprüft werden.

Die möglichen Auswirkungen von Atazanavir und INIs auf den Bilirubinmetabolismus der Neugeborenen sind nicht ausreichend erforscht, daher soll die vorliegende Studie weitere Erkenntnisse auf diesem Forschungsgebiet liefern. Eventuell neue Ergebnisse in Bezug auf den Bilirubinmetabolismus der Neugeborenen sind für die Optimierung der antiretroviralen Therapie bzw. der Einschätzung der Sicherheit einer cART während der Schwangerschaft relevant.

Besondere Bedeutung kommt dabei dem INI Raltegravir zu, da die amerikanischen Leitlinien Raltegravir als bevorzugtes Medikament empfehlen, die Deutsch-Österreichischen Leitlinien Raltegravir zur raschen Absenkung der HIV-RNA vor der Geburt als sinnvoll erachten und die europäischen Leitlinien sowohl Raltegravir als auch Dolutegravir empfehlen (8,9,52). Aufgrund dieser Änderungen ist davon auszugehen, dass Raltegravir zukünftig häufiger eingesetzt wird. Erste Studien im Zeitraum 2009 bis 2015 zeigen bereits eine steigende Anzahl an Verschreibungen von Raltegravir während der Schwangerschaft (21).

In der vorliegenden Studie soll ebenfalls untersucht werden, ob Medikamente, bei denen bisher noch keine Veränderungen des Bilirubinmetabolismus beschrieben worden sind, Auswirkungen auf den Bilirubinmetabolismus der Neugeborenen haben, da die

in der Schwangerschaft eingesetzten Kombinationen von antiretroviralen Medikamenten vielseitig sind. Dies liegt daran, dass präkonzeptionell eingesetzte cART häufig während der Schwangerschaft fortgeführt werden, sofern keine Kontraindikationen bekannt sind (9).

Ferner untersucht die vorliegende Studie weitere Faktoren (vgl. Abschnitt 1.10), die den Bilirubinmetabolismus der Neugeborenen beeinflussen unabhängig von den Medikamenten, die während der Schwangerschaft eingenommen werden. In der Literatur werden bisher Risikofaktoren für Hyperbilirubinämie an überwiegend gesunden nicht HIV- und nicht cART-exponierten Neugeborenen beschrieben. Daher überprüft die vorliegende Studie, ob die in der Literatur beschriebenen Einflussfaktoren, auch auf die untersuchte Stichprobe von HIV- und cART-exponierten Neugeborene zutreffen.

Die Erkenntnisse über die Risikofaktoren sind für die Untersuchungen der Medikamentenauswirkungen von besonderem Interesse, damit eine möglicherweise ungleiche Verteilung der Risikofaktoren auf die unterschiedlichen Medikamentengruppen bei der Auswertung berücksichtigt werden kann.

Klinisch relevant kann die Erhöhung der Bilirubinkonzentrationen durch die mütterliche cART vor allem bei Neugeborenen mit zusätzlichen Risikofaktoren werden. So könnte das Zusammentreffen von nicht medikamentösen Risikofaktoren für Hyperbilirubinämie und einer mütterlichen cART mit antiretroviralen Medikamenten, die die Bilirubinkonzentration der Neugeborenen erhöht, zu einer möglicherweise kontroll- und behandlungsbedürftigen Erhöhung der Neugeborenen Bilirubinkonzentrationen kommen.

Der Einfluss der verschiedenen antiretroviralen Medikamente auf den Bilirubinmetabolismus der cART-exponierten nicht infizierten Neugeborenen soll daher unter Berücksichtigung weiterer bereits bekannter Risikofaktoren für Hyperbilirubinämie und Neugeborenenikterus untersucht werden. Als Vergleichsgruppe werden ebenfalls cART-exponierte nicht HIV-infizierte Neugeborene herangezogen, da sie ein ähnliches Risikoprofil aufweisen. Ein besonderer Vorteil beim Vergleich mit anderen ebenfalls cART- und HIV-exponierten Neugeborenen ist die Tatsache, dass die Vergleichsgruppe ebenfalls aus nicht gestillten Neugeborenen besteht, da Stillen ein bekannter Risikofaktor für eine Hyperbilirubinämie ist (vgl. 1.9 und 1.10). Des Weiteren besteht bei HIV-infizierten Schwangeren nicht die Option während der Schwangerschaft auf antiretrovirale Medikamente zu verzichten, somit muss immer eine Medikamentenexposition des Kindes in Kauf genommen werden. Ein Vergleich der Auswirkungen auf

die Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen durch unterschiedliche antiretrovirale Therapieregime ist folglich von besonderem Interesse, um die bestmöglichen Therapieoptionen der HIV-infizierten Schwangeren in Bezug auf die kindliche Bilirubinkonzentration zu erforschen. Da die Entscheidung für oder gegen ein Medikament während der Schwangerschaft einer Schaden-Nutzen-Analyse unterliegt, bei der die verschiedenen Behandlungsziele, bestmöglicher Schutz vor einer Mutter-Kind-Transmission des HI-Virus, optimale Behandlung der HIV-Infektion der Schwangeren und möglichst geringe Nebenwirkungen für Mutter und Kind berücksichtigt werden müssen. Die Nebenwirkungen in Bezug auf den Bilirubinmetabolismus der HIV- und cART-exponierten Neugeborenen ist bis jetzt nicht ausreichend belegt und erforscht. Die vorliegende Arbeit vergleicht aus diesem Grund die unterschiedlichen Auswirkungen einer intrauterinen Exposition verschiedener antiretroviraler Medikamente auf den kindlichen Bilirubinspiegel mit einem Beobachtungszeitraum bis drei Monate nach der Geburt untereinander.

2 Methoden

2.1 Studienpopulation

Die Studienpopulation setzte sich aus HIV-infizierten schwangeren Frauen und deren Kinder, die in der Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow Klinikum, in enger Zusammenarbeit zwischen der HIV-Kindertagesklinik, der Klinik für Neonatologie und der Infektionsambulanz der Klinik für Geburtsmedizin betreut wurden, zusammen. Die Therapie bzw. Prophylaxe erfolgte entsprechend der Deutsch-Österreichischen Leitlinien zur HIV-Therapie in der Schwangerschaft und bei HIV-exponierten Neugeborenen (9).

Die Neugeborenen und Säuglinge kamen zur weiteren Nachsorge gemäß eines Standard-Protokolls 2, 4, 6 und 12 Wochen nach der Geburt in die HIV-Kindertagesklinik. Bei diesen Terminen wurden neben der HIV-DNA Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zur Klärung des HIV-Infektionsstatus auch weitere Laborparameter zur Erfassung von Auswirkungen der intrauterinen und postnatalen Medikamentenexposition bestimmt.

2.2 Verschlüsselung

Jedes Kind, das in der HIV-Kindertagesklinik aufgrund einer HIV-Exposition oder Therapie einer HIV-Infektion vorstellig wurde, erhielten eine pseudonymisierte ID-Nummer.

Die Ethikkommission der Charité bewilligte die vorliegende Studie in ihrem Ethikvotum vom 17.12.2017 Antragsnummer EA2/216/17.

2.3 Ein- und Ausschlusskriterien

2.3.1 Einschlusskriterien

Die Einschlusskriterien (vgl. Abbildung 3) für diese Studie waren nicht HIV-infizierte und cART-exponierte Neugeborene:

- die zwischen dem 01.01.2005 und dem 29.07.2017 in der Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow Klinikum, geboren wurden,
- in der dortigen Kinderinfektionsambulanz nachbetreut wurden,
- nach sechs Monaten einen Ausschluss der HIV-Infektion mittels negativem PCR-Nachweis (HIV-proviraler DNA) hatten,

- mindestens einmalige Vorstellung der Mütter in der Schwangerschaft in der geburtshilflichen Abteilung der Charité.

2.3.2 Ausschlusskriterien

Die Ausschlusskriterien der Studie waren (vgl. Abbildung 3):

- eine HIV-Infektion des Kindes,
- Kinder, die nicht als Neugeborene in der HIV-Kindertagesklinik vorstellig geworden sind,
- keine maternale Einnahme von antiretroviralen Medikamenten während der Schwangerschaft,
- weniger als drei Wochen cART-Einnahme vor der Entbindung,
- unvollständiger Datensatz der Mutter
 - keine Informationen zur cART der Mutter während der Schwangerschaft,
 - Non-Adhärenz: dieses Kriterium wurde erfüllt, wenn keine Daten zur HI-Viruslast und Immunstatus der Mutter vor der Entbindung zur Adhärenzkontrolle vorlagen oder Non-Adhärenz als Aktennotiz oder im Arztbrief erfasst wurde.
- unvollständiger Datensatz der Neugeborenen
 - keine Laborwerte bei mehr als zwei Terminen der Nachsorge,
 - Lost-to-follow-up.

2.4 Erfassung klinischer und laborchemischer Daten

Die Informationen über die Mütter wurden anhand von Fragebögen ermittelt, den die Mütter in der Ambulanz eigenständig ausgefüllt hatten, sowie aus Arztbriefen der Klinik für Geburtsmedizin, der Neonatologie und der HIV-Kindertagesklinik.

Der Fragebogen zur Selbstauskunft umfasste folgende Angaben: Herkunft, Anzahl der Schwangerschaften und Geburten, Medikamente vor und während der Schwangerschaft und letzte HI-Viruslast vor der Entbindung.

Die Angaben für die Kinder stammten aus den Akten der HIV-Kindertagesklinik und gegebenenfalls der Neonatologie.

2.4.1 Erfasste Daten der Mütter

- Gestationsdiabetes
- Drogenabusus
- Parität
- Erstdiagnose der HIV-Infektion
- Alter bei Entbindung
- Ethnizität
- Entbindungsmodus
- Gestationsalter
- Viruslast vor Entbindung
- cART vor der Schwangerschaft
- cART während der Schwangerschaft
- Therapiewechsel der HIV-Medikation während der Schwangerschaft
- Beginn der cART
- Dauer der cART während der Schwangerschaft
- Non-Adhärenz

Bei Änderung des cART-Regimes wurde die zuletzt eingenommene Medikamentenkombination vor Entbindung in der Studie berücksichtigt. Die Mindestdauer der antiretroviralen Therapie präpartal lag bei drei Wochen.

2.4.2 Erfasste Daten der Kinder

- Geschlecht
- Mehrlinge
- Ethnizität
- Gewicht bei Geburt
- Länge bei Geburt
- Kopfumfang bei Geburt
- APGAR nach fünf Minuten, der APGAR-Score umfasst Hautfarbe, Puls, Muskeltonus, Atmung und Reflexe. Er wird eine Minute, fünf Minuten und zehn Minuten nach der Geburt erhoben (53).
- HIV-Transmissionsprophylaxe (Substanz, Applikationsart, Dosierung, Dauer)
- Infektionsstatus sechs Monate nach Entbindung

- Zeitpunkt und Konzentration des Gesamtbilirubins und falls gemessen des indirekten Bilirubins zu den verschiedenen Messzeitpunkten

2.5 Messzeitpunkte

Zum ersten Messzeitpunkt fand die Bilirubinmessung entweder mittels einer transkutanen Messung oder durch eine Blutentnahme statt. Die Ergebnisse dieser Messung wurden im ersten Messzeitpunkt zusammengefasst. Falls sowohl eine transkutane Bilirubinmessung als auch eine Blutentnahme vorlagen, wurde der Wert der Blutentnahme verwendet.

Gemäß dem Standardprotokoll fanden die Blutentnahmen zu definierten Zeitpunkten statt.

Standardprotokoll:

1. Blutentnahme: innerhalb der ersten Lebenswoche
2. Blutentnahme: am 14. Lebenstag
3. Blutentnahme: im Alter von vier Wochen
4. Blutentnahme: im Alter von sechs Wochen
5. Blutentnahme: im Alter von zwölf Wochen

Die erhobenen Daten wurden zunächst tabellarisch mittels Excel (2016) erfasst und anschließend mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS (Version 25) statistisch ausgewertet. Die Graphiken wurden mit Excel erstellt.

Für diese retrospektive Studie fand die Datensichtung im Zeitraum vom 16.10.2016 bis zum 28.02.2018 statt.

Hierfür wurden zunächst alle Kinder betrachtet, die im Zeitraum vom 01.01.2005 bis zum 29.07.2017 in der HIV-Kindertagesklinik der Charité, Campus Virchow Klinikum, zur HIV-Transmissionsprophylaxe, Nachsorge oder Behandlung einer HIV-Infektion vorstellig und zum Zwecke der Anonymisierung mittels einer ID-Nummer erfasst wurden. Insgesamt waren dies 697 Kinder. Danach wurde der HIV-Infektionsstatus geprüft und diejenigen Fälle mit einer HIV-Infektion (n=51) ausgeschlossen. Die verbliebenen 646 Fälle wurden hinsichtlich der oben genannten Ein- und Ausschlusskriterien geprüft. 29 Kinder wurden in der Ambulanz nicht als Neugeborene vorgestellt, bei zehn Kindern hatten die Mütter während der Schwangerschaft eine antiretrovirale Behandlung von weniger als drei Wochen präpartal, bei 20 weiteren wurden während der Schwangerschaft keine antiretroviralen Medikamente eingenommen, bei 32 lag eine

hohe Viruslast vor der Entbindung vor und im Arztbrief wurde auf mangelnde Adhärenz hinsichtlich der cART-Einnahme während der Schwangerschaft verwiesen und bei weiteren 49 Datensätzen war der Datensatz von Mutter und/oder Kind nicht vollständig. Insgesamt wurden dadurch 140 weitere Fälle ausgeschlossen. Falls ein Datensatz mehrere Ausschlusskriterien erfüllte, wurde er jeweils nur einem Ausschlusskriterium zugeordnet (vgl. Abbildung 3).

Der erste Datensatz, der in der vorliegenden Arbeit statistisch analysiert wurde, umfasste 506 Patientenfälle (Abbildung 3). Für weitere statistische Analysen mussten bei 188 Patientenfällen jeweils ein Messwert zu einem Messzeitpunkt manuell ergänzt werden (vgl. Abschnitt 2.8; Abbildung 3).

Flussdiagramm Patienten:

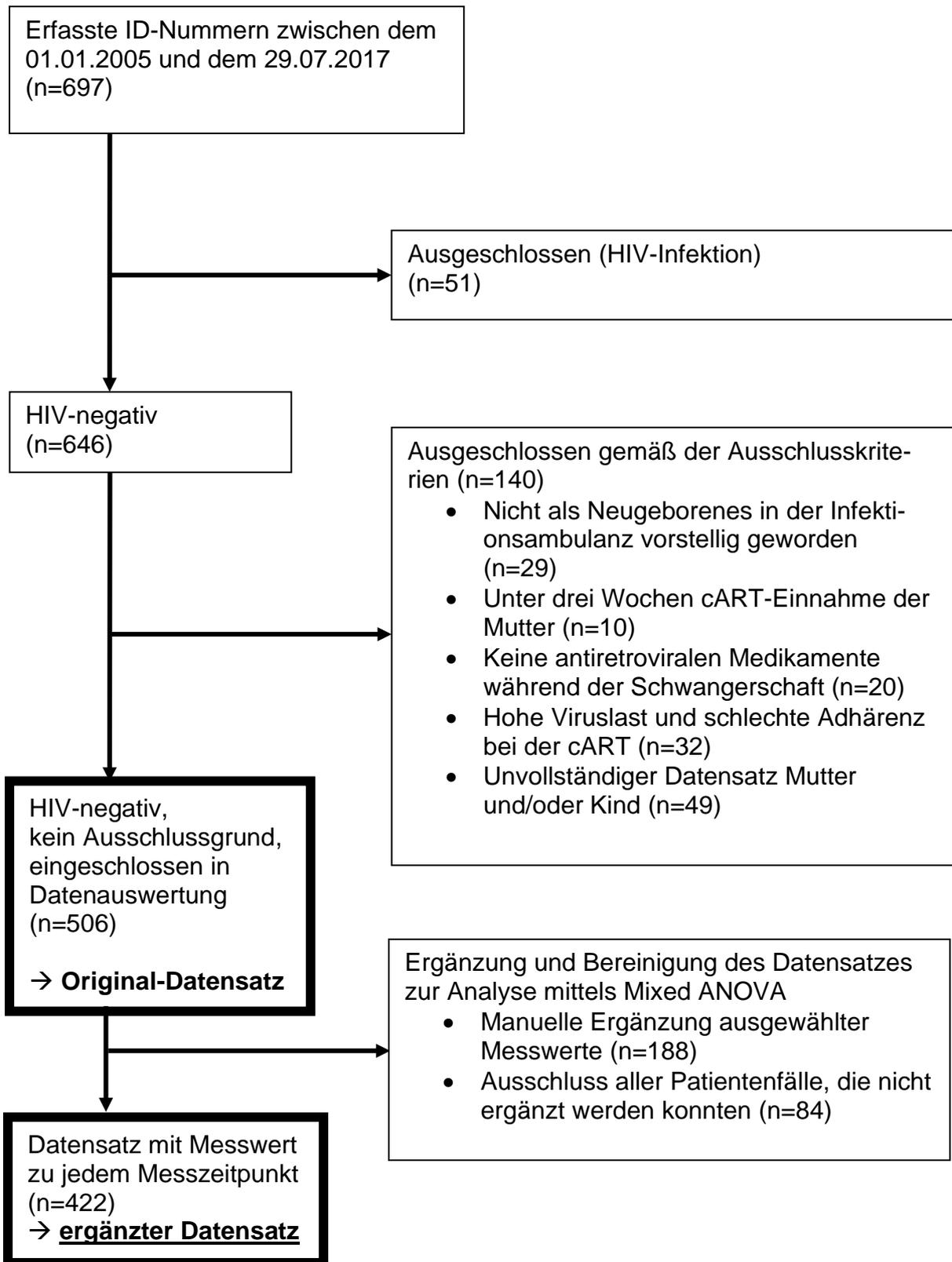


Abbildung 3 Flussdiagramm Erstellung der verwendeten Datensätze. Die dick schwarz umrandeten Kästchen markieren die für die Analysen verwendeten Datensätze (Eigene Darstellung).

2.6 Bilirubinkonzentrationen bei gestillten Neugeborenen

Zur ersten Einschätzung der Bilirubinkonzentrationen wurden zum Vergleich Daten von vorwiegend gestillten Neugeborenen herangezogen, da für eine nicht gestillte Studienpopulation bisher keine Nomogramme vorhanden sind. Grundlage hierfür waren zum einen das Nomogramm der altersbezogenen Bilirubinkonzentrationen aus der deutschen S2k-Leitlinie zur Diagnostik und Therapie von Hyperbilirubinämie bei Neugeborenen (siehe Abbildung 4) und zum anderen die von Maisels *et al.* 2014 veröffentlichten Nomogramme gestillter Neugeborener (siehe Abbildung 5).

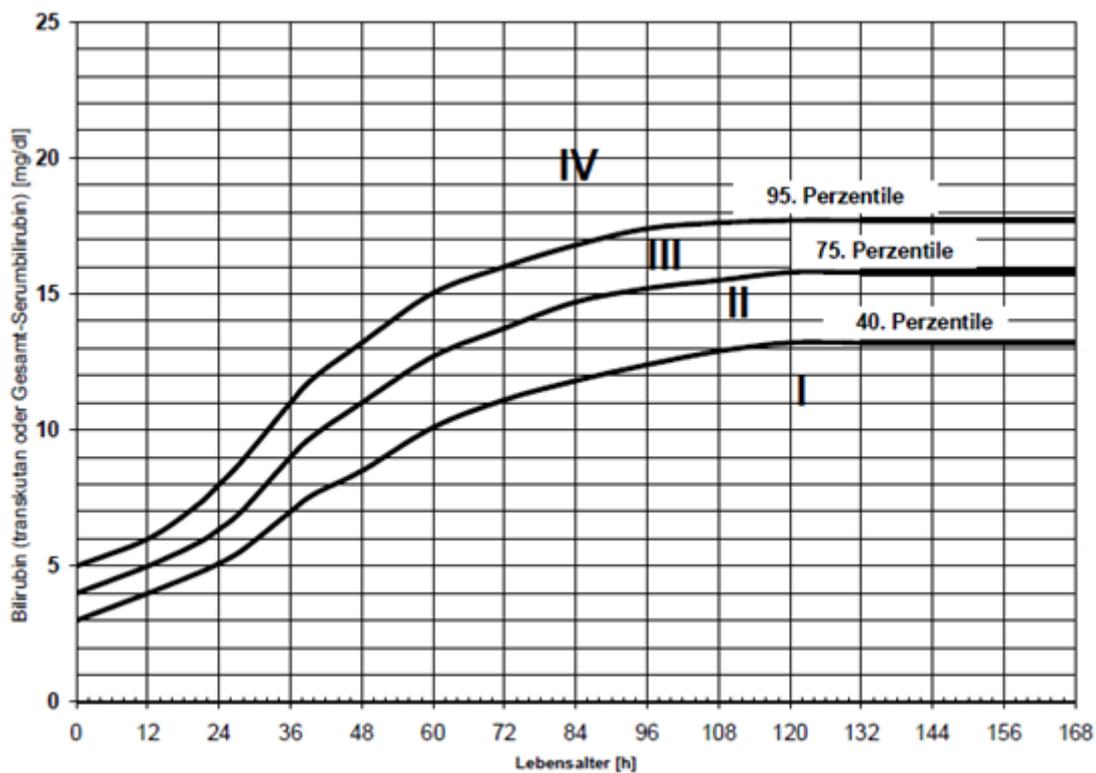


Abbildung 4 Nomogramm mit altersbezogenen Bilirubinkonzentrationen in mg/dl (36 S.4)

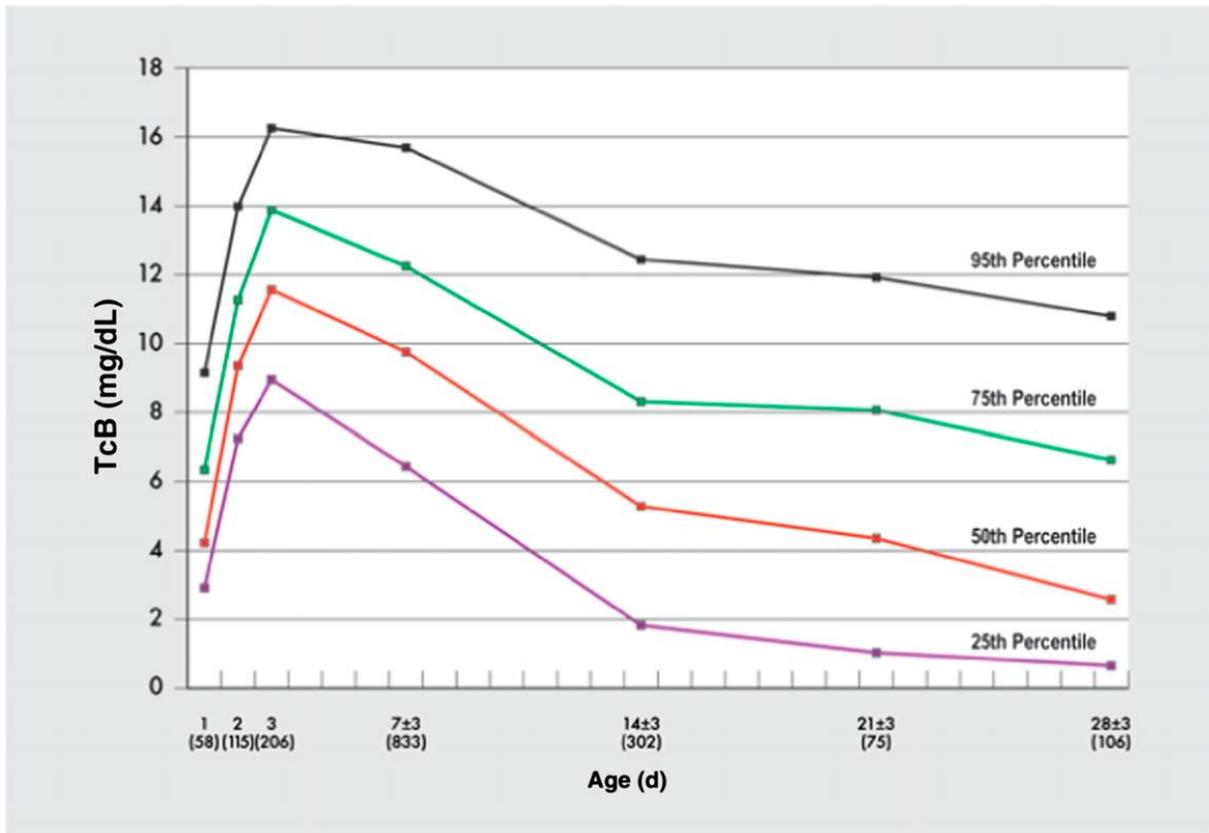


Abbildung 5 Nomogramm altersbezogener Bilirubinkonzentrationen gestillter Kinder aus Maisels et al. (40)

2.7 Statistische Testverfahren

Zur statistischen Analyse wurden in dieser Arbeit verschiedene Testverfahren verwendet, die in den folgenden Unterkapiteln einzeln erläutert werden.

Die Unterschiede im Gesamtverlauf über die Messzeitpunkte wurden mittels der Varianzanalyse (ANOVA) analysiert. Für diesen Test erfüllten nicht alle Patientendatensätze die Voraussetzungen (vgl. Abschnitt 2.8). Daher wurden die Unterschiede zwischen den Bilirubinkonzentrationen zu den verschiedenen Messzeitpunkten einzeln untersucht. Die Auswahl der statistischen Testverfahren erfolgte wie in Abbildung 6 dargestellt.

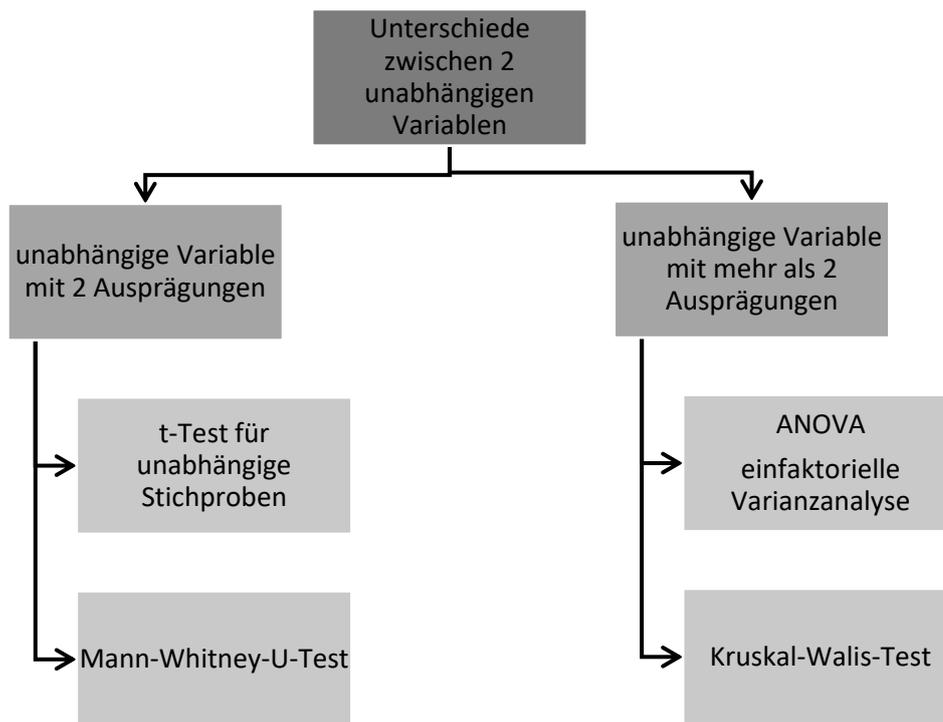


Abbildung 6 Entscheidungsbaum zur Testauswahl für Unterschiede zwischen zwei Variablen. Schaubild verändert nach Methodenberatung Universität Zürich (54).

2.7.1 Testung auf Normalverteilung Kolmogorov-Smirnov-Test und Shapiro-Wilk-Test

In dieser Arbeit wurden zwei Tests zur Prüfung der Normalverteilung einer Stichprobe verwendet, da bei der Testung auf Normalverteilung der Stichprobenumfang entscheidend ist. Bei einem Stichprobenumfang $n < 50$ hat der Shapiro-Wilk-Test eine höhere Teststärke und wurde daher bei kleineren Stichprobenumfängen verwendet. Bei größeren Stichproben $n > 50$ wurde der modifizierte Kolmogorov-Smirnov-Test, der sogenannte Lilliefors-Test, verwendet. Beide Tests prüfen als Nullhypothese, ob die Stichprobe normalverteilt ist. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p > 0,05$ wurde von einer Normalverteilung der Stichprobe ausgegangen und bei einem $p < 0,05$ die Nullhypothese verworfen und nicht von einer Normalverteilung ausgegangen (55 S.147-152).

2.7.2 Testverfahren für unabhängige Variablen mit zwei Ausprägungen

2.7.2.1 t-Test für unabhängige Stichproben

Der t-Test für unabhängige Stichproben untersucht, ob sich die Mittelwerte bei zwei unabhängigen Stichproben unterscheiden.

Voraussetzungen für die Durchführung eines t-Testes für unabhängige Stichproben sind, dass:

- die Messwerte der abhängigen Variablen intervallskaliert sind,
- eine Normalverteilung des untersuchten Merkmals in den zu untersuchenden Versuchsgruppen vorliegt.

Des Weiteren wurde die Gleichheit der Varianzen mittels Levene-Tests getestet, weil dies für die Berechnung des t-Wertes und der Freiheitsgrade relevant ist und somit für die Berechnung der Signifikanz unabdingbar ist. Aus diesem Grund wurde das Ergebnis des Levene-Tests bei der Interpretation der SPSS-Ausgabe berücksichtigt (55 S.153-157,56 S.159). Bei Verletzungen der Voraussetzungen zeigt sich der t-Test für unabhängige Stichproben robust, so ist die Verletzung der Voraussetzung auf Normalverteilung bei größeren Stichproben ($n > 30$) unproblematisch. Jedoch darf die Größe der einzelnen Stichproben nicht zu unterschiedlich sein, dann führt die Verletzung der Voraussetzung zu fehlerhaften Ergebnissen (57 S.59,58).

2.7.2.1.1 Testung auf Varianzhomogenität – Der Levene-Test

Der Levene-Test untersucht die Homogenität der Varianz der zu vergleichenden Gruppe. Die Varianz bezeichnet die Abweichung vom Mittelwert. Von einer Varianzhomogenität wurde bei einem $p > 0,05$ ausgegangen und bei einem $p < 0,05$ eine Varianzheterogenität angenommen, da der Levene-Test die Nullhypothese, in der sich die Varianzen der beiden Gruppen nicht unterscheiden, untersucht. (55 S.157,56 S.159).

2.7.2.2 Mann-Whitney-U-Test:

Der Mann-Whitney-U-Test untersucht, ob die zentrale Tendenz bei zwei unabhängigen Stichproben unterschiedlich ist. Er ist das nichtparametrische Pendant zum t-Test für unabhängige Stichproben und wurde verwendet, wenn die Voraussetzungen für einen t-Test für unabhängige Stichproben nicht erfüllt waren.

Die Voraussetzungen für einen Mann-Whitney-U-Test sind, dass:

- die abhängige Variable mindestens ordinalskaliert ist,
- eine Normalverteilung der Daten muss nicht vorliegen.

Des Weiteren ist er robuster, wenn die Stichproben klein oder unterschiedlich groß sind oder Ausreißer in der Stichprobe vorliegen (55 S.161-169,59 S.93-105,60).

Beim Mann-Whitney-U-Test werden die Messwerte zunächst durch Ränge ersetzt, die Gruppenzugehörigkeit ist hierbei nicht von Bedeutung, so entsteht für alle Versuchspersonen eine Rangreihe. Die Abstände der einzelnen Messwerte verlieren somit an Bedeutung, lediglich größer oder kleiner als ist relevant. Danach werden die Ränge für jede Gruppe aufsummiert und eine Rangsumme gebildet (59 S.93-105,60). Anschließend wird der U-Wert für die Teststatistik ermittelt, wenn die Stichproben groß genug sind ($n_1 + n_2 > 30$, wobei n_1 die Größe der ersten Stichprobe und n_2 die Größe der zweiten Stichprobe ist) wird der U-Wert z-standardisiert. Dies ist auch bei der Beurteilung der Signifikanz relevant und bei der Interpretation der SPSS-Ausgabe zu beachten, wenn die Stichprobe groß genug ist ($n_1 + n_2 > 30$), ist die asymptotische Signifikanz entscheidend, sollte die Stichprobe kleiner sein ($n_1 + n_2 < 30$) ist die exakte Signifikanz entscheidend (60).

2.7.3 Testverfahren für unabhängige Variablen mit mehr als zwei Ausprägungen

2.7.3.1 Einfaktorielle univariate Varianzanalyse

Die einfaktorielle univariate Varianzanalyse, abgekürzt einfaktorielle univariate ANOVA aus dem Englischen „Analysis of Variance“, untersucht den Einfluss einer unabhängigen Variablen, auch als Faktor oder Treatment bezeichnet, auf eine abhängige Variable, daher die Bezeichnung univariat. Anders als beim t-Test für unabhängige Stichproben kann die unabhängige Variable mehr als zwei Ausprägungen haben, die Merkmalsausprägungen der unabhängigen Variablen werden auch als Faktorstufen bezeichnet. Untersucht wird, ob sich die Mittelwerte, der durch die Faktorstufen gebildeten Gruppen, unterscheiden. Dabei geht die Nullhypothese davon aus, dass es keine Unterschiede gibt. Die Alternativhypothese lautet, dass sich die Mittelwerte von mindestens zwei Gruppen voneinander unterscheiden und bedeutet nicht, dass sich die Mittelwerte aller Gruppen unterscheiden.

Die Alternativhypothese der Varianzanalyse geht davon aus, dass die Varianz der Mittelwerte der Probanden zwei Ursachen hat. Zum einen kann der Faktor, durch den die Gruppen gebildet werden, -das Treatment, die Varianz bewirken. Diese Treatmentvarianz bewirkt, dass sich die Mittelwerte der einzelnen Gruppen vom Gesamtmittelwert unterscheiden. Zum anderen gibt es die Fehlervarianz, dies ist kein Effekt der Gruppenzugehörigkeit, sondern entsteht durch die individuellen Eigenschaften der Probanden, Messfehler und durch Variablen, die nicht untersucht werden.

Die Varianzanalyse testet die statistische Signifikanz des Unterschiedes zwischen Treatmentvarianz und Fehlervarianz (56 S.167-187).

Die Varianzanalyse gibt lediglich Aufschluss darüber, ob sich die Mittelwerte von mindestens zwei Gruppen unterscheiden, jedoch nicht zwischen welchen Gruppen dieser Unterschied besteht. Um dies herauszufinden werden sogenannte Post-Hoc-Teste durchgeführt.

Es gibt folgende Voraussetzungen für eine einfaktorielle univariate Varianzanalyse:

- das Skalenniveau der abhängigen Variablen muss intervallskaliert sein.
- das Skalenniveau der unabhängigen Variablen muss kategorial also nominal- oder ordinalskaliert sein.
- die Gruppen, die durch den Faktor gebildet werden, müssen unabhängig sein.
- die Varianzen, der durch den Faktor gebildeten Gruppen, sollten homogen sein.

Die Varianzhomogenität wird mittels des Levene-Tests geprüft, liegt keine Varianzhomogenität vor, sollte die Nullhypothese erst ab einem p-Wert $< 0,01$ verworfen werden. Zudem sollten die Gruppengrößen ungefähr gleich sein. Des Weiteren gibt es die Möglichkeit Post-Hoc-Tests zu verwenden die keine Varianzgleichheit annehmen. Darüber hinaus sollte die abhängige Variable normalverteilt sein innerhalb der Gruppen, allerdings ist die einfaktorielle Varianzanalyse relativ robust bei einer Verletzung dieser Voraussetzung für eine Gruppengröße von $n > 25$ (61).

2.7.3.2 Kruskal Wallis-Test

Der Kruskal-Wallis-Test untersucht, ob die zentralen Tendenzen mehrerer unabhängiger Stichproben unterschiedlich sind. Er ist das nichtparametrische Pendant zur einfaktoriellen Varianzanalyse und hat geringere Anforderungen, sodass der Kruskal-Wallis-Test verwendet werden kann, wenn die Voraussetzungen für eine einfaktorielle Varianzanalyse nicht erfüllt werden können.

Die Voraussetzungen für den Kruskal-Wallis-Test sind, dass:

- die abhängige Variable mindestens ordinalskaliert ist.
- die Gruppen, die verglichen werden, durch eine unabhängige Variable gebildet werden.

Das Verfahren ähnelt dem Mann-Whitney-U-Test. Auch beim Kruskal-Wallis-Test werden die Messwerte durch Ränge ersetzt, die Gruppenzugehörigkeit wird hierbei nicht beachtet, sodass für alle Versuchspersonen eine Rangreihe gebildet wird. Die Abstände der einzelnen Messwerte verlieren somit an Bedeutung, lediglich größer oder

kleiner als ist relevant. Danach werden die Ränge für jede Gruppe aufsummiert und eine Rangsumme gebildet, mit denen dann die Teststatistik H berechnet wird. Zur Berechnung der Signifikanz der Teststatistik ist die Verteilung der Teststatistik relevant. Wenn die Teststatistik Chi-Quadrat verteilt ist, ist die asymptotische Signifikanz in der SPSS-Ausgabe heranzuziehen, sollte dies nicht der Fall sein, muss die exakte Signifikanz in der SPSS-Ausgabe herangezogen werden. Von einer Chi-Quadrat-verteilten Teststatistik wird ausgegangen, wenn es mehr als fünf zu vergleichende Gruppen gibt, wenn bei fünf zu vergleichenden Gruppen die Mindestgruppengröße vier ist, wenn bei 4 zu vergleichenden Gruppen die Mindestgruppengröße fünf ist oder wenn bei drei zu vergleichenden Gruppen die Mindestgruppengröße neun ist (62).

Bei einem signifikanten Ergebnis des Kruskal-Wallis-Test $p < 0,05$ unterscheiden sich die zentralen Tendenzen von mindestens zwei Gruppen. Um herauszufinden, welche der Gruppen sich in ihrer zentralen Tendenz signifikant voneinander unterscheiden, ist ein Post-hoc-Test notwendig. Als Post-hoc-Test wird der Dunn-Bonferroni-Test verwendet (55 S.169-172,62).

2.7.4 Mixed ANOVA

Bei der mixed ANOVA werden sowohl Zwischensubjektfaktoren als auch Innersubjektfaktoren mit in der Analyse berücksichtigt (63). Die mixed ANOVA untersucht zum einen die beiden Haupteffekte der Zwischen- und der Innersubjektfaktoren und zum anderen den Interaktionseffekt dieser beiden Faktoren (64).

Die Grundvoraussetzungen für die mixed ANOVA sind, dass:

- die abhängige Variable mindestens intervallskaliert ist.
- der Zwischensubjektfaktor unabhängig und nominalskaliert ist.
- der Innersubjektfaktor unabhängig und nominalskaliert ist.
- die einzelnen Gruppen keine Ausreißer haben.
- die Residuen der abhängigen Variabel für die einzelnen Gruppen normalverteilt sind.
- eine Varianzhomogenität vorliegt.
- die Kovarianzenmatrizen homogen sind.
- die Varianzen gleich sind zwischen den Gruppen, die sogenannte Spharizität (65).

Diese Grundvoraussetzungen wurden bei den Analysen in der vorliegenden Arbeit erfüllt, die abhängige Variable war in jeder Analyse die Bilirubinkonzentration in mg/dl

und daher metrisch skaliert. Die Zwischensubjektfaktoren waren in dieser Studie die unterschiedlichen Untergruppen der nicht medikamentösen Risikofaktoren und die Medikamentengruppen. Die Innersubjektfaktoren in dieser Studie waren die fünf verschiedenen Messzeitpunkte, daher waren sowohl die Zwischen- als auch die Innersubjektfaktoren unabhängig und nominalskaliert.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Gruppen auf Ausreißer untersucht und geprüft, ob es sich um echte Ausreißer oder Übertragungs- und Messfehler handelte. Die gefundenen Ausreißer wurden in dieser Studie alle als echte Ausreißer gewertet und deshalb im Datensatz belassen.

Des Weiteren wurde für die Testung der Normalverteilung der Residuen der abhängigen Variabel für die einzelnen Gruppen der Kolmogorov-Smirnov-Test oder Shapiro-Wilk-Test verwendet. Allerdings gilt die mixed ANOVA als relativ robust bei Verletzung dieser Voraussetzung (65).

Darüber hinaus wurde die Homogenität der Varianzen mittels des Levene-Tests überprüft. Liegt keine Homogenität der Varianzen vor, können die Ergebnisse der mixed ANOVA nicht ausgewertet werden, die Post-Hoc-Teste können hingegen trotzdem interpretiert werden.

Die Homogenität der Kovarianzenmatrizen wurde mittels Box-Test analysiert (66).

Bei Verletzung dieser Voraussetzung wurden die Ergebnisse der mixed ANOVA in der vorliegenden Arbeit trotzdem berichtet und im Ergebnisteil auf die Verletzung der Voraussetzung hingewiesen.

Die Spharizität wird mittels des Mauchly-Tests auf Spharizität getestet. Ist der Mauchly-Test nicht signifikant, ist die Spharizität gegeben. Andernfalls liegt sie nicht vor und es ist notwendig, die Freiheitsgrade des Signifikanztests anzupassen. Die Entscheidung für die passende Korrektur der Freiheitsgrade wird anhand des Epsilon nach Greenhouse-Geisser gefällt. Falls das Epsilon nach Greenhouse-Geisser kleiner als 0,75 ist, wird die Korrektur nach Greenhouse-Geisser verwendet. Sonst wird die Korrektur nach Huynh-Feldt verwendet (67).

Als Post-Hoc-Test wurde der Bonferroni-Post-Hoc-Test verwendet.

2.8 Ergänzung des Datensatzes

Die ANOVA mit Messwiederholung berücksichtigt bei der Analyse nur vollständige „Patientenfälle“, die zu jedem Messzeitpunkt eine gültige Messung aufweisen. In dem vorliegenden Datensatz wurden auch „Patientenfälle“ eingeschlossen, die bis zu zwei fehlende Messzeitpunkte besitzen. Damit diese „Patientenfälle“ in der ANOVA mit Messwiederholung berücksichtigt werden konnten, wurden fehlende Messwerte ergänzt. Dabei wurde ein linearer Abbauprozess des Bilirubins zugrunde gelegt und maximal ein Messzeitpunkt pro „Patientenfall“ ergänzt. Die Voraussetzungen für eine Ergänzung waren erfüllt, wenn ein gültiger Wert beim vorangegangenen und nachfolgenden Messzeitpunkt vorlag.

Berechnet wurde der fehlende Messwert mit folgender Formel:

Formel 1 Berechnung der fehlenden Messwerte im ergänzten Datensatz

$$\text{Fehlender Messwert} = \frac{(\text{Wert}_{\text{vorher}} - \text{Wert}_{\text{nachher}})}{2} + \text{Wert}_{\text{nachher}}$$

Insgesamt lagen 506 Patientenfälle vor, die zu je fünf Messzeitpunkten einen Messwert haben sollten, insgesamt also 2530 Messwerte. Der vorliegende Datensatz enthielt insgesamt 2195 Messwerte, es fehlten also 335 Messwerte.

Insgesamt konnten nach der oben beschriebenen Formel 188 Messwerte ergänzt werden, dies entsprach 8,56 % der Original-Messwerte. Die Anzahl der einzelnen Ergänzungen pro Messzeitpunkt sind in Tabelle 1 dargestellt. Durch die Ergänzung wurden insgesamt 422 Patientenfälle in die Analyse eingeschlossen.

Tabelle 1 Anzahl der fehlenden Werte vor und nach der Ergänzung

| | Messzeitpunkte | | | | |
|---|----------------|----------------|--------------|--------------|-------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| <i>Fehlende Werte vor der Ergänzung</i> | 33 | 145 | 40 | 58 | 29 |
| <i>Fehlende Werte nach der Ergänzung</i> | 33 | 22 | 14 | 19 | 29 |
| <i>Anzahl an Ergänzungen (Prozentual)</i> | 0 (0,0%) | 123 (24,3%) | 26 (5,1%) | 39 (7,7%) | 0 (0,0%) |

3 Ergebnisse

3.1 Betrachtung der Messzeitpunkte

Der Zeitrahmen für die Messzeitpunkte ist im Standardprotokoll festgelegt. Der tatsächliche Zeitpunkt, an dem die Bilirubinmessungen stattfanden, ist in Tabelle 2 angegeben. Zwischen dem Protokoll und den tatsächlichen Zeitpunkten sind zum Teil große Abweichungen.

Tabelle 2 Tatsächliches Alter in Tagen zu den verschiedenen Messzeitpunkten

| Messzeitpunkt | Mittelwert in Tagen (Standardab- weichung) | Maximum in Tagen | Minimum in Tagen | Soll laut Protokoll in Tagen |
|------------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|---|
| <i>Messzeitpunkt 1</i> | 3,1 (1,3) | 9 | 0 | 0-7 |
| <i>Messzeitpunkt 2</i> | 18 (4) | 45 | 2 | 14 |
| <i>Messzeitpunkt 3</i> | 34 (6) | 66 | 13 | 28 |
| <i>Messzeitpunkt 4</i> | 51 (8) | 85 | 32 | 42 |
| <i>Messzeitpunkt 5</i> | 100 (16) | 271 | 48 | 84 |

3.2 Baseline-Charakteristika der Studienpopulation

Insgesamt sind 506 Kinder von 402 Müttern in diese Studie eingeschlossen. 317 Mütter bekamen jeweils ein Kind, 68 Mütter je zwei Kinder, 15 Mütter je drei Kinder und zwei Mütter je vier Kinder im Untersuchungszeitraum, die die Kriterien erfüllten. Von den 506 Kindern sind zwölf Zwillinge.

Die Baseline-Charakteristika der Studienpopulation sind in Tabelle 3 dargestellt.

Das durchschnittliche Alter der Mütter bei Entbindung lag bei 31 Jahren.

Die Länge der Einnahme der cART während der Schwangerschaft bewegte sich zwischen mindestens drei Wochen aufgrund der Einschlusskriterien dieser Studie und maximal 42 Wochen, im Mittel lag die cART-Einnahmedauer bei 27 Wochen.

Die Kinder sind unterschiedlicher ethnischer Herkunft, so sind 54,1% (n=228) der Kinder afrikanischer Herkunft, in dieser Arbeit definiert als afroamerikanisch oder Herkunftsland auf dem afrikanischen Kontinent ohne Mittelmeerränderstaaten, 30% (n=152) kaukasischer Herkunft, 17,4% (n=88) der Kinder haben ein afrikanisches und ein kaukasisches Elternteil, die unter der Rubrik „mixed“ zusammengefasst sind. Unter der Rubrik „divers“ mit 7,5% (n=38) sind die Kinder asiatischer, mediterraner und südamerikanischer Ethnizität zusammengefasst.

15,4% (n=78) der Kinder wurden vor 37+0 SSW geboren, 66,8% (n=338) zwischen der 37+0 und 39+6 SSW und 17,8% (n=90) nach der 40+0 SSW.

64,6% (n=326) der Kinder sind von Pluripara-Müttern und 35,4% (n=179) von Primipara-Müttern.

Die vorliegende Studie unterscheidet die postnatale Prophylaxe in vier Gruppen: 28 Tage AZT oral, 14 Tage AZT oral, 10 Tage AZT intravenös und „Other“. Unter diesen Begriff fallen Regime, welche bei erhöhtem Transmissionsrisiko eingesetzt wurden, diese werden nicht einzeln analysiert.

Insgesamt erhielten 2,4% (n=12) Neugeborene ein individuelles Therapie-Regime. Die Mehrheit (68%, n=344) der Neugeborenen bekam 28 Tage AZT oral, 23,9 % (n=121) erhielten 14 Tage AZT oral und 5,7% (n=29) 10 Tage AZT intravenös. Die Tatsache, dass es unterschiedliche postnatale Regime in der Studienpopulation gibt, dürfte dem langen Beobachtungszeitraum geschuldet sein, indem sich der Zeitraum für die Prophylaxe-Dauer geändert hat.

487 der 506 Kinder haben Mütter ohne Gestationsdiabetes, dies entspricht einem Anteil von 96,2%. In der Studie sind prozentual mehr Jungen (53,6%) als Mädchen (46,4%) eingeschlossen. Nur 2% (n=10) der Neugeborenen hatten einen postnatalen Drogenentzug, die überwiegende Mehrheit 98% (n=496) hatten keinen postnatalen Drogenentzug. Der APGAR 5 Wert der Neugeborenen lag bei 86,2% (n=436) zwischen 9-10 und bei 13,8% (n=70) zwischen 5-8 Punkten. 31,4% der Kinder wurden ohne Kaiserschnitt und 68,6% mit Kaiserschnitt geboren.

3.3 Baseline-Charakteristika verteilt auf die untersuchten Medikamentengruppen

Die Mütter, der in dieser Studie eingeschlossenen Neugeborenen, hatten in der Schwangerschaft verschiedenste antiretrovirale Medikamente innerhalb der cART-Regime. Wie häufig die verschiedenen antiretroviralen Medikamente in den unterschiedlichen antiretroviralen Therapieregimen eingenommen wurden, ist der Tabelle 4 zu entnehmen. Die unterschiedlichen cART-Kombinationen sind nicht separat aufgeführt und auch nicht separat untersucht worden.

Die Medikamente, die unter Verdacht stehen den Bilirubinmetabolismus der Neugeborenen und Säuglinge durch eine intrauterine Exposition zu beeinflussen, werden separat untersucht. Hierzu zählen zum einen Raltegravir und Dolutegravir, die in der INI-Gruppe zusammengefasst sind, und zum anderen der PI Atazanavir.

Betrachtet man die Verteilung der einzelnen in der Literatur beschriebenen und in dieser Studie untersuchten Risikofaktoren auf die zu untersuchenden Medikamentengruppen Atazanavir (n=120), INIs (n=32) und Kontrolle (n=354), so fällt auf, dass die Risikofaktoren nicht homogen verteilt sind. Die genaue Verteilung kann der Tabelle 3 entnommen werden.

Der prozentuale Anteil an Kaiserschnittgeburten liegt in der Kontroll-Gruppe mit 72% höher als bei der Atazanavir- (63,3%) und INI- (50%) Gruppe. Die Verteilung innerhalb der Gruppen unterscheidet sich signifikant voneinander (Chi-Quadrat nach Pearson $p=0,013$).

Bei der Verteilung der postnatalen Prophylaxe unterscheiden sich die Medikamentengruppen untereinander ebenfalls signifikant (Chi-Quadrat nach Pearson $p<0,001$).

So erhielt in der Kontroll-Gruppe die Mehrheit (72,3%) der Neugeborenen 28 Tage AZT oral, 16,9% bekamen 14 Tage AZT oral, 7,9% der Neugeborenen erhielten eine postnatale Prophylaxe mit 10 Tagen AZT intravenös und 2,8% bekamen eine individuelle postnatale Prophylaxe.

Auch bei der Atazanavir-Gruppe, also Kinder, deren Mütter während der Schwangerschaft eine kombinierte antiretrovirale Therapie einnahmen, die den Protease-Inhibitor Atazanavir enthielt, bekam die Mehrheit (63,3%) 28 Tage AZT oral, 34,2% 14 Tage AZT oral und nur ein Neugeborenes (0,8%) erhielt 10 Tage AZT intravenös und 2 Neugeborene (1,7%) erhielten eine individuelle postnatale Prophylaxe.

In der INI-Gruppe erhielt die Mehrheit der Neugeborenen (62,5%) als postnatale Post-expositionsprophylaxe 14 Tage AZT oral, 37,5% 28 Tage AZT oral und kein Neugeborenes AZT intravenös oder eine andere postnatale Prophylaxe.

In der Atazanavir- (7,5%) und INI- (9,4%) Gruppe sind prozentual mehr Kinder von Müttern, die an einem Gestationsdiabetes litten, als im Vergleich zur Kontroll-Gruppe (2%) (Signifikanzniveau $p=0,05 \rightarrow$ Trend).

Ebenfalls ist der Anteil der Erstgebärenden mit je 38% in der Atazanavir- und INI-Gruppe höher als bei der Kontroll-Gruppe mit 34,5%. Diese Unterschiede sind statistisch jedoch nicht signifikant (Chi-Quadrat nach Pearson $p=0,779$).

Das Geschlechterverhältnis der Gesamtstichprobe verteilt sich in allen drei Medikamenten-Untergruppen ungleich, so sind in allen Gruppen prozentual mehr Jungen als Mädchen. In der INI-Gruppe kommen besonders wenig Mädchen mit nur 37,5% vor. Die Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

Für die einzelnen Medikamentengruppen INI-, Atazanavir- und Kontroll-Gruppe unterscheidet sich das Alter der Mütter bei Entbindung nicht, es liegt bei jeweils 31 Jahren. Die durchschnittliche intrauterine Expositionszeit variiert bei den einzelnen Medikamentengruppen. Der Mittelwert der cART-Expositionszeit der Kontroll-Gruppe liegt bei 26 Wochen, der der INI-Gruppe bei 29 Wochen und der der Atazanavir-Gruppe bei 30 Wochen.

Die Gruppe postnataler Drogenentzug ist mit $n=10$ sehr klein und weitestgehend gleichmäßig verteilt zwischen den Medikamentengruppen INI, Atazanavir und Kontrolle. Es gibt keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Bei den weiteren erfassten Faktoren APGAR nach 5 Minuten, Ethnizität des Kindes und Gestationsalter gibt es keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Medikamentengruppen (vgl. Tabelle 3)

Tabelle 3 Verteilung der Risikofaktoren auf die Medikamentengruppen Kontrolle, INI, Atazanavir.

| Risikovariablen | | Kon- trolle (n=354) | INI (n=32) | Atazana- vir (n=120) | Gesamt (n=506) | p-Wert Chi- Quadrat nach Pearson |
|---------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------|----------------------------|-------------------|--|
| APGAR nach 5 Mi- nuten | 9-10 | 301 (85%) | 30 (93,8%) | 105 (87,5%) | 436 (86,2%) | 0,349 |
| | 5-8 | 53 (15%) | 2 (6,3%) | 15 (12,5%) | 70 (13,8%) | |
| Ethnizität des Kindes | Divers | 24 (6,8%) | 3 (9,4%) | 11 (9,2%) | 38 (7,5%) | 0,897 |
| | Kaukasisch | 109 (30,8%) | 10 (31,3%) | 33 (27,5%) | 152 (30%) | |
| | Afrikanisch | 156 (44,1%) | 15 (46,9%) | 57 (47,5%) | 228 (54,1%) | |
| | Mixed | 65 (18,4%) | 4 (12,5%) | 19 (15,8%) | 88 (17,4%) | |
| Geschlecht des Kindes | männlich | 186 (52,5%) | 20 (62,5%) | 65 (54,2%) | 271 (53,6%) | 0,551 |
| | weiblich | 168 (47,5%) | 12 (37,5%) | 55 (45,8%) | 235 (46,4%) | |
| Postnatale Prophylaxe | Other | 10 (2,8%) | 0 (0%) | 2 (1,7%) | 12 (2,4%) | < 0,001 |
| | 28 Tage AZT | 256 (72,3%) | 12 (37,5%) | 76 (63,3%) | 344 (68%) | |
| | 14 Tage AZT | 60 (16,9%) | 20 (62,5%) | 41 (34,2%) | 121 (23,9%) | |
| | 10 Tage AZT iv | 28 (7,9%) | 0 (0%) | 1 (0,8%) | 29 (5,7%) | |
| Gestationsalter | unter 37+0 | 58 (16,4%) | 4 (12,5%) | 16 (13,3%) | 78 (15,4%) | 0,096 |
| | 37+0 bis 39+6 | 244 (72,2%) | 20 (62,5%) | 74 (61,7%) | 338 (66,8%) | |
| | ab 40+0 | 52 (14,7%) | 8 (25%) | 30 (25%) | 90 (17,8%) | |
| Geburtsmodus | Kein Kaiser- schnitt | 99 (28%) | 16 (50%) | 44 (36,7%) | 159 (31,4%) | 0,013 |
| | Kaiserschnitt | 255 (72%) | 16 (50%) | 76 (63,3%) | 347 (68,6%) | |
| Parität | Pluripara | 232 (65,5%) | 20 (62,5%) | 74 (62,2%) | 326 (64,6%) | 0,779 |
| | Primipara | 122 (34,5%) | 12 (37,5%) | 45 (37,8%) | 179 (35,4%) | |

| Risikovariablen | | Kontrolle (n=354) | INI (n=32) | Atazanavir (n=120) | Gesamt (n=506) | p-Wert Chi- Quadrat nach Pearson |
|--|-------------------------------------|----------------------|---------------|-----------------------|-------------------|--|
| Gestationsdiabetes | nein | 347 (98%) | 29 (90,6%) | 111 (92,5%) | 487 (96,2%) | 0,05 |
| | ja | 7 (2%) | 3 (9,4%) | 9 (7,5%) | 19 (3,8%) | |
| Neonataler Drogenentzug | Nein | 347 (98%) | 31 (96,9%) | 118 (98,3%) | 496 (98%) | 0,873 |
| | Ja | 7 (2%) | 1 (3,1%) | 2 (1,7%) | 10 (2%) | |
| Alter der Mutter bei Entbindung | Mittelwert (in Jahren) | 31 | 31 | 31 | 31 | |
| Länge der cART während der Schwangerschaft | Auf Wochen gerundet (Mittelwert) | 26 | 29 | 30 | 27 | |

3.4 Auswirkungen weiterer genutzter antiretroviraler Medikamente

Einen Überblick über die verschiedenen antiretroviralen Medikamente, die in den cART-Regimen der Studienpopulation eingesetzt wurden, gibt Tabelle 4.

Atazanavir, Raltegravir und Dolutegravir werden einzeln analysiert und die jeweiligen Ergebnisse präsentiert.

Die Analyse der anderen antiretroviralen Medikamente $n > 10$, die von den Müttern während der Schwangerschaft eingenommen wurden, zeigt keine signifikant erhöhten Bilirubinkonzentrationen zu den verschiedenen Messzeitpunkten der Neugeborenen durch die intrauterine Exposition der Medikamente. Die Boosterung mittels Ritonavir wurde nicht separat aufgeführt und nicht separat untersucht.

Die Auswirkungen der einzelnen Medikamentenkombinationen wurden in dieser Studie nicht untersucht.

Tabelle 4 Überblick über verwendete antiretrovirale Medikamente während der Schwangerschaft im Patientenkollektiv

| <u>NRTI</u> | | <u>NNRTI</u> | | <u>PI</u> | | <u>INI</u> | |
|--------------------|-----|---------------------|-----|------------------|-----|-------------------------------|----|
| Abacavir | 33 | Etravirine | 2 | Atazanavir/r | 120 | Dolutegravir | 4 |
| Didanosin | 1 | Rilpivirin | 5 | Darunavir/r | 21 | Raltegravir | 28 |
| Emtricitabin | 276 | Efavirenz | 2 | Fosamprenavir/r | 7 | | |
| Lamivudin | 204 | Nevirapin | 116 | Lopinavir/r | 214 | <u>Entry-Inhibitor</u> | |
| Stavudin | 2 | | | Saquinavir/r | 54 | Maraviroc | 2 |
| Tenofovir | 290 | | | | | | |
| Zidovudin | 186 | | | | | | |

3.5 Hyperbilirubinämie-Grade aufgeteilt nach cART-Gruppen

Die S2k-Leitlinie AWMF „Hyperbilirubinämie des Neugeborenen – Diagnostik und Therapie“ gibt für die ersten Lebenstage Gesamtbilirubin-Normwerte für gestillte Kinder an und unterteilt die Hyperbilirubinämie anhand der Perzentilenkurven in Grade. Als Grenzwert für eine Phototherapie wird eine Konzentration des Gesamtbilirubin über der 95. Perzentile angegeben (vgl. Abbildung 4, (35)).

Werden die Normwerte aus der Leitlinie für gestillte Kinder auf den Datensatz der vorliegenden Studie angewendet, ergibt sich folgende Verteilung der Hyperbilirubinämie-Grade für die Medikamentengruppen Verdächtig und Kontrolle (siehe Tabelle 5). Als Verdächtig gilt eine INI- oder Atazanavir-Exposition.

Insgesamt enthält der Original-Datensatz für 470 der 506 der eingeschlossenen Neugeborenen eine Bilirubinmessung innerhalb der ersten zehn Lebenstage.

Tabelle 5 zeigt, dass bei der Verdächtigen-Gruppe prozentual mehr Neugeborene höhere Bilirubinkonzentrationen haben als bei der Kontroll-Gruppe. In beiden Gruppen liegt die Mehrheit der Kinder mit ihren Bilirubinkonzentrationen unterhalb der 40. Perzentile. Prozentual gibt es in der Verdächtigen-Gruppe mehr Neugeborene mit Hyperbilirubinämie Graden II, III und IV im Vergleich zur Kontroll-Gruppe. Jedoch unterscheiden sich laut Chi-Quadrat nach Pearson die beiden Gruppen Kontrolle und Verdächtige nicht signifikant ($p=0,40$) voneinander hinsichtlich der einzelnen Hyperbilirubinämie Grade.

Tabelle 5 Verteilung der Hyperbilirubinämie Grade aufgeteilt in Verdächtige (INI und Atazanavir) und Kontrolle. Grundlage Original-Datensatz

| Grad | Kontrolle n=323 | Verdächtig n=147 | Gesamt n=470 |
|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------|
| <i>I: <40.Perzentile</i> | 274 (84,8%) | 110 (74,8%) | 384 (81,7%) |
| <i>II: 41.-75.Perzentile</i> | 37 (11,5%) | 25 (17%) | 62 (13,2%) |
| <i>III: 76.-95.Perzentile</i> | 6 (1,9%) | 8 (5,4%) | 14 (3%) |
| <i>IV: > 95.Perzentile</i> | 6 (1,9%) | 4 (2,7%) | 10 (2,1%) |

Chi-Quadrat nach Pearson $p=0,40$

3.6 Icterus prolongatus

Das Kriterium eines Icterus prolongatus, eine Bilirubinkonzentration von über 12mg/dl nach vier Wochen (35), erfüllt keines der in der Studie eingeschlossenen Kinder (vgl.Tabelle 6).

Tabelle 6 Bilirubinkonzentration in mg/dl Mittelwert, SD, Maximum, Minimum und Anzahl zu den fünf Messzeitpunkten

| | Mittelwert | Standardabweichung | Maximum | Minimum | Gültige Anzahl |
|-----------|------------|--------------------|---------|---------|----------------|
| 1.Messung | 7,14 | 3,86 | 18,00 | 0,00 | 473 |
| 2.Messung | 2,19 | 1,97 | 10,10 | 0,15 | 361 |
| 3.Messung | 1,07 | 1,05 | 9,60 | 0,10 | 466 |
| 4.Messung | 0,67 | 0,68 | 7,10 | 0,10 | 448 |
| 5.Messung | 0,24 | 0,13 | 1,13 | 0,06 | 477 |

3.7 Nomogramm von gestillten und nicht gestillten Neugeborenen

Das Studienprotokoll der vorliegenden Studie sieht in der ersten Lebenswoche nur eine Messung vor und unterscheidet von Maisels *et al.* dahingehend, dass deren Studienprotokoll sieben Messzeitpunkte am 1., 2., 3., 7., 14., 21. und 28.Lebenstag mit je ± 3 Tage für die letzten vier Messzeitpunkte aufweist. Um eine Vergleichbarkeit der Daten herstellen zu können, werden die Messwerte der ersten Messung der vorliegenden Studie nach den exakten Messtagen aufgeschlüsselt und die zu Maisels *et al.* Studienprotokoll passenden zur Analyse herangezogen.

Die Perzentilenkurven der Bilirubinkonzentrationen der vorliegenden HIV- und cART-exponierten und gestillten Studienpopulation sind im Vergleich zum Studienkollektiv von Maisels *et al.* im Verlauf der ersten 28 Lebenstage niedriger. Jedoch liegt das

Maximum der Bilirubinkonzentration der cART-Exponierten später bei 7 ± 3 Tage und nicht wie bei dem Studienkollektiv von Maisels *et al.* am dritten Lebenstag.

Ab dem 14. Lebenstag liegt die 95. Perzentile der cART-Gruppen unterhalb der 75. Perzentile des Studienkollektivs von Maisels *et al.* (vgl. Abbildung 7).

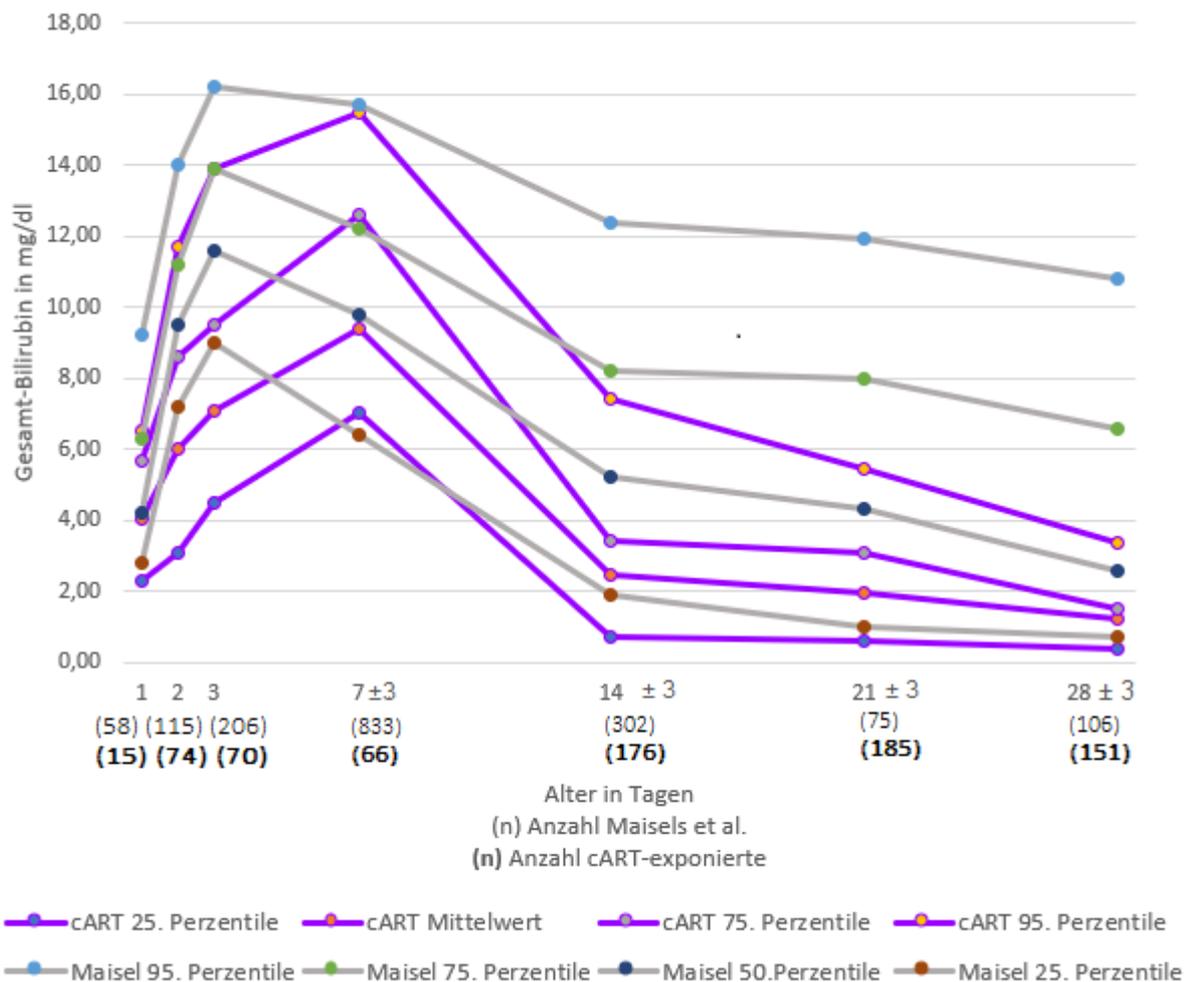


Abbildung 7 Bilirubin-Perzentilenkurven Maisels *et al.* und cART-exponierte Neugeborene (Eigene Darstellung)

3.8 Analyse der Auswirkungen der Medikamente auf die Bilirubinkonzentration

Die Grundlage für die Analyse der Auswirkungen auf die Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen und Säuglinge der Medikamentengruppen Atazanavir, INI und Kontrolle bilden zwei Datensätze zum einen der Original-Datensatz und zum anderen der ergänzte Datensatz (vgl. 2.8). Zuerst werden alle drei Medikamentengruppen im ergänzten Datensatz mittels mixed ANOVA analysiert. Im Anschluss werden auf Grundlage des Original-Datensatzes die INI-Gruppe und Atazanavir-Gruppe jeweils einzeln mit der Kontroll-Gruppe verglichen.

3.8.1 Medikamentengruppen – ergänzter Datensatz

Die Untersuchung des manuell ergänzten Datensatzes mittels mixed ANOVA zu allen fünf Messzeitpunkten schließt 422 der 506 Patientenfälle in die Analyse ein.

Die 422 Patientenfälle unterteilen sich in 295 Kontroll-, 26 INI-exponierte und 101 Atazanavir-exponierte Neugeborene und Säuglinge.

Die Graphen der drei Medikamentengruppen fallen kontinuierlich vom ersten bis zum fünften Messzeitpunkt ab. Vom ersten bis zum vierten Messzeitpunkt weist der Graph der INI-Gruppe durchgehend höhere Werte für die Bilirubinkonzentration auf als die der beiden anderen Medikamentengruppen. Der Graph der Atazanavir-Gruppe hat bei den ersten beiden Messzeitpunkten höhere Werte für die Bilirubinkonzentration als der Kontroll-Graph. Ab dem dritten Messzeitpunkt gleichen sich die Graphen der Atazanavir- und der Kontroll-Gruppe an. Zum fünften Messzeitpunkt gleichen sich die Werte der Bilirubinkonzentration der drei Medikamentengruppen an.

Die Gruppen Kontrolle, INI und Atazanavir sind nicht zu jedem Messzeitpunkt normalverteilt, getestet mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests für $n > 50$ und mittels Shapiro-Wilk-Test für $n < 50$.

Die Homogenität der Fehlervarianzen ist nicht für alle Variablen gegeben, nur zu den Messzeitpunkten eins, zwei und fünf ist die Homogenität der Fehlervarianzen gegeben, getestet mittels Levene-Tests. Es besteht keine Homogenität der Kovarianzenmatrizen, Box-Test ($p < 0,0010$), trotz dieser Verletzung der Voraussetzung für die mixed ANOVA werden die Ergebnisse berichtet. Der Mauchly-Test ist signifikant ($p < 0,001$), das Epsilon nach Greenhouse-Geisser ist 0,362, daher wird die Korrektur nach Greenhouse-Geisser verwendet.

Es gibt einen signifikanten Interaktionseffekt zwischen Messzeitpunkt und Verdacht-Medikamente Greenhouse-Geisser $F(2,899, 607,18) = 5,117$ $p=0,002$. Der Verlauf der Bilirubinkonzentration über die fünf Messzeitpunkte unterscheidet sich folglich zwischen den Medikamentengruppen.

Der paarweise Vergleich, korrigiert nach Bonferroni, ergibt folgende signifikanten Ergebnisse. Zum ersten Messzeitpunkt unterscheiden sich die INI-Gruppe und Kontroll-Gruppe signifikant voneinander, ebenso die Atazanavir-Gruppe und Kontroll-Gruppe. Zum zweiten Messzeitpunkt unterscheiden sich nur die Gruppen INI und Kontrolle signifikant voneinander. Zum dritten und vierten Messzeitpunkt unterscheidet sich die INI-Gruppe sowohl von der Kontroll-Gruppe als auch von der Atazanavir-Gruppe.

Zum fünften Messzeitpunkt unterscheiden sich die verschiedenen Medikamentengruppen nicht signifikant voneinander.

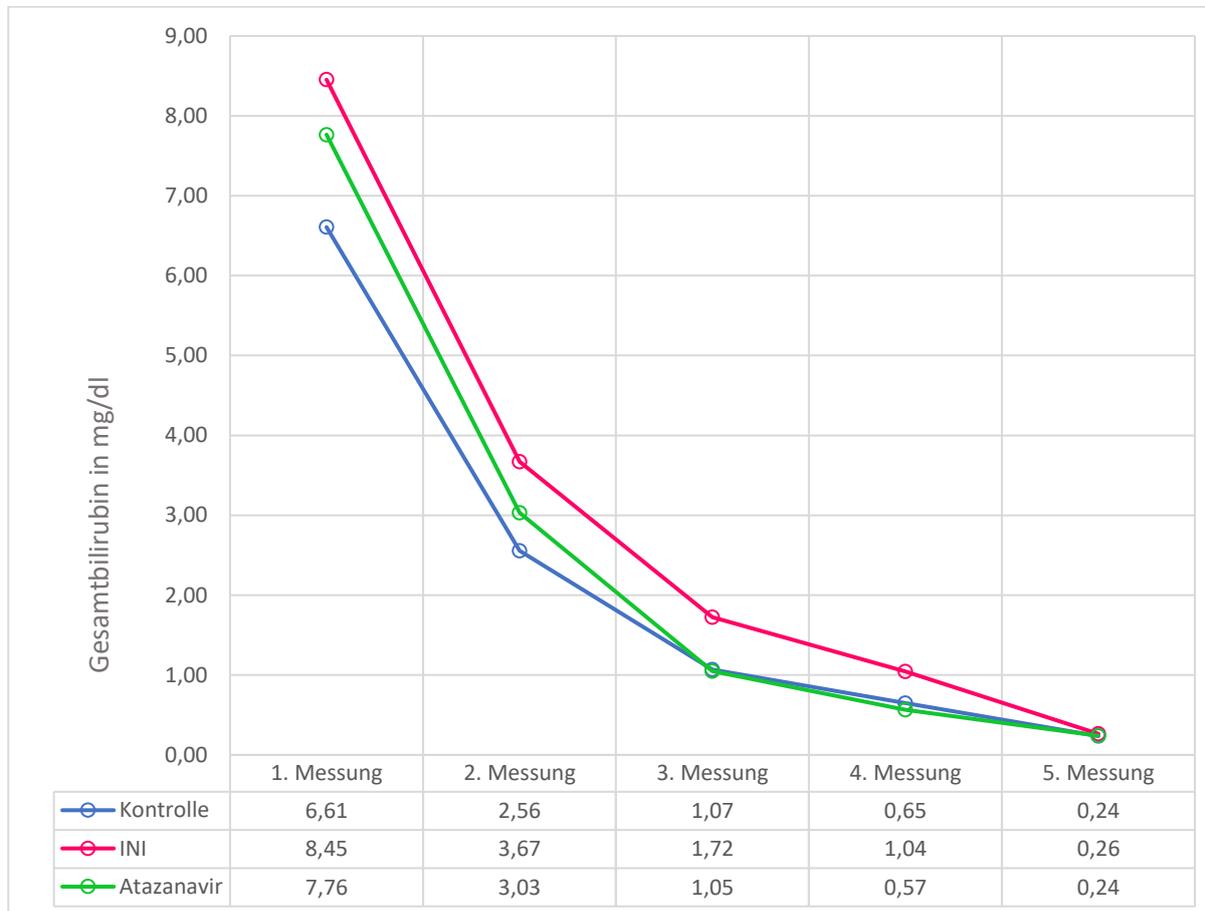


Abbildung 8 Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Medikamentengruppe auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes.

3.8.2 Integrase-Inhibitoren – Original-Datensatz

Der Original-Datensatz umfasst 506 Kinder, 6,3% (n=32) davon haben Mütter, die in der Schwangerschaft eine cART mit einem INI, wie Raltegravir (5,5% n=28) oder Dolutegravir (0,8% n=4) erhielten. Bei 70% der Kinder (n=354) nahmen die Mütter in der Schwangerschaft eine cART ohne Medikamente ein, die unter Verdacht stehen, den Bilirubinmetabolismus der Neugeborenen bei einer Medikamenten-Exposition zu erhöhen (vgl. Tabelle 3). Als verdächtig werden in der vorliegenden Studie der PI Atazanavir und die Gruppe der INIs angesehen. Da im Original-Datensatz nicht jeder Studienteilnehmer einen vollständigen Datensatz zu allen fünf Messzeitpunkten aufweist (vgl. 2.8) ist die genaue Anzahl der INI- und Kontroll-Gruppe zu den einzelnen Messzeitpunkten in Tabelle 7 dargestellt.

Zu allen Messzeitpunkten sind die Bilirubinkonzentrationen der INI-Gruppe höher als die der Kontroll-Gruppe. Die Unterschiede zwischen den Gruppen nehmen prozentual von dem ersten bis zum vierten Messzeitpunkt zu. So ist der Mittelwert der INI-Gruppe zum ersten Messzeitpunkt 1,2-fach höher als der Mittelwert der Kontroll-Gruppe, bei der zweiten 1,3-fach höher und bei der dritten und vierten 1,5-fach höher als der Mittelwert der Kontroll-Gruppe. Die Mittelwerte der Bilirubinkonzentrationen beider Gruppen sinken im Laufe der Wochen kontinuierlich ab und gleichen sich zum fünften Messzeitpunkt fast an. Diese Entwicklung verläuft für die INI-Gruppe langsamer.

Nicht alle Variablen sind zu den Messzeiträumen normal verteilt, getestet mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests ($n > 50$) und Shapiro-Wilk-Test ($n < 50$). Zudem sind die Gruppengrößen sehr heterogen, daher wird zur Testung der Unterschiede zwischen den beiden Gruppen durchgehend der Mann-Whitney-U-Test verwendet.

Der Unterschied der Bilirubinkonzentration zwischen den beiden Gruppen während des ersten Messzeitpunktes INI (Median=8,3, $n=31$) und Kontrolle (Median=6,8, $n=325$) ist statistisch signifikant laut Mann-Whitney-U-Test ($z=-2,122$, $p=0,034$). Zu allen anderen Zeitpunkten sind die Unterschiede statistisch nicht signifikant.

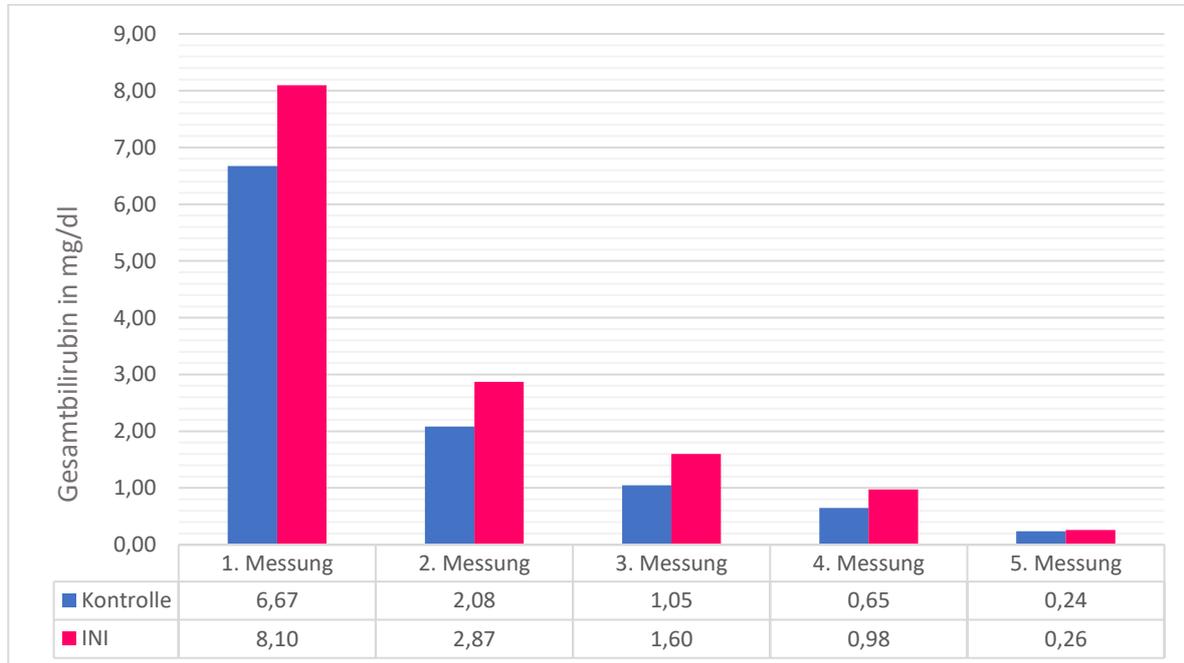


Abbildung 9 Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Integrase-Inhibitor und Kontrolle auf Grundlage des Original-Datensatzes.

Tabelle 7 Gültige N des Original-Datensatzes der Kontroll- und INI-Gruppe zu den Messzeitpunkten

| Gesamtanzahl | Gültige N zu den Messzeitpunkten (Prozent) | | | | |
|----------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1.Messung | 2.Messung | 3.Messung | 4.Messung | 5.Messung |
| Kontrolle (n=354) | 325 (91,8%) | 261 (73,7%) | 333 (94,1%) | 318 (89,8%) | 336 (94,9%) |
| INI (n=32) | 31 (96,9%) | 19 (59,3%) | 28 (87,5%) | 30 (93,8%) | 29 (90,6%) |

3.8.3 Protease-Inhibitor Atazanavir – Original-Datensatz

Bei 23,7% (n=120) der 506 Kinder hatten die Mütter während der Schwangerschaft eine cART mit Atazanavir und bei 70% (n=354) eine cART ohne Medikamente, die unter Verdacht steht, den Bilirubinmetabolismus der Neugeborenen zu erhöhen – wie Atazanavir oder INI. Die Anzahl der Kontroll- und Atazanavir-Gruppe zu den einzelnen Messzeitpunkten ist in Tabelle 8 dargestellt.

Der Median der Bilirubinkonzentration der Neugeborenen der Atazanavir-Gruppe ist bei dem ersten und zweiten Messzeitpunkt höher als der Median der Bilirubinkonzentration der Kontroll-Gruppe. Bei den späteren Messzeitpunkten gleichen sich die Bilirubinkonzentrationen zwischen den beiden Gruppen aneinander an und erzielen den gleichen Wert. Die Mediane der Bilirubinkonzentrationen beider Gruppen nehmen von dem ersten zum zweiten Messzeitpunkt sprunghaft ab. Danach ist die Abnahme wesentlich langsamer.

Die Variablen Atazanavir und Kontrolle sind zu keinem der Messzeitpunkte normalverteilt, getestet mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests, daher wird zur Analyse der Unterschiede der Bilirubinkonzentrationen der Mann-Whitney-U-Test verwendet.

Die höheren Bilirubinkonzentrationen der Atazanavir-Gruppe (Median=8,55, n=116) im Vergleich zur Kontroll-Gruppe (Median=6,8, n=325) während der ersten Messung sind statistisch signifikant laut Mann-Whitney-U-Test ($z=-3,570$, $p<0,001$). Zu den zweiten, dritten, vierten und fünften Messzeitpunkt unterscheiden sich die Bilirubinkonzentrationen der beiden Gruppen nicht signifikant voneinander.

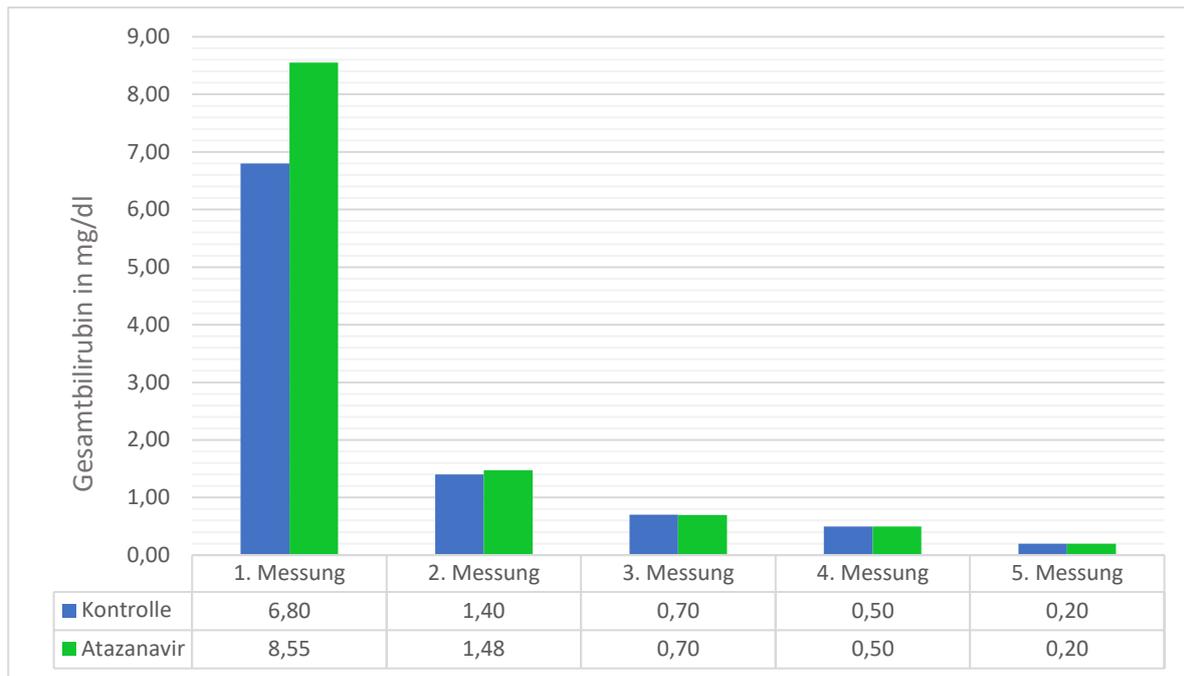


Abbildung 10 Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Atazanavir/Kontrolle auf Grundlage des Original-Datensatzes.

Tabelle 8 Gültige N des Original-Datensatzes der Kontroll- und Atazanavir-Gruppe zu den Messzeitpunkten

| Gesamtanzahl | Gültige N zu den Messzeitpunkten (Prozent) | | | | |
|-----------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1.Messung | 2.Messung | 3.Messung | 4.Messung | 5.Messung |
| Kontrolle (n=354) | 325 (91,8%) | 261 (73,7%) | 333 (94,1%) | 318 (89,8%) | 336 (94,9%) |
| Atazanavir (n=120) | 117 (97,5%) | 81 (67,5%) | 105 (87,5%) | 100 (83,3%) | 112 (93,3%) |

3.9 Weitere Risikofaktoren für Hyperbilirubinämie

Die Grundlage für die Analyse der einzelnen Risikofaktoren bilden zwei unterschiedliche Datensätze, wie in der Methodik beschrieben (vgl. Abschnitt 2.7).

Für jeden Risikofaktor wird sowohl eine Analyse für jeden Messzeitpunkt einzeln durchgeführt, für die unabhängigen Variablen mit zwei Ausprägungen mittels t-Test oder Mann-Whitney-U-Test, für unabhängige Variablen mit mehr als zwei Ausprägungen mittels ANOVA oder Kruskal-Wallis-Test. Diese Testung beruht auf den gemessenen Bilirubinkonzentrationen zu den einzelnen Messzeitpunkten. Im Anschluss wird für jeden Risikofaktor eine mixed ANOVA durchgeführt, um den Verlauf der Bilirubinkonzentrationen über die insgesamt drei Monate zu analysieren. Für diese Analyse

wird der ergänzte Datensatz verwendet, wie im Methodenteil beschrieben (vgl. Abschnitt 2.8).

3.9.1 Gestationsalter

3.9.1.1 Gestationsalter – Original-Datensatz

Die Gesamtanzahl der Gestationsalter-Gruppen sowie die jeweilige Anzahl zu den Messzeitpunkten ist in Tabelle 9 dargestellt.

Das Gestationsalter hat einen Einfluss auf die Höhe der Bilirubinkonzentration. Je höher das Gestationsalter bei Geburt ist, desto niedriger sind die Bilirubinkonzentrationen zu den fünf Messzeitpunkten (vgl. Abbildung 11).

Die Analyse der Normalverteilung, getestet mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests ($n > 50$) und Shapiro-Wilk-Tests ($n < 50$), ergibt für keinen Messzeitpunkt eine Normalverteilung für alle drei Gruppen innerhalb der abhängigen Variable Gestationsalter.

Die Bilirubinkonzentrationen beim ersten, zweiten, dritten und vierten Messzeitpunkt unterscheiden sich signifikant hinsichtlich des Gestationsalters laut Kruskal-Wallis-Test, alle Variablen sind Chi-Quadrat verteilt.

Für den ersten, zweiten und dritten Messzeitpunkt ergeben die Post-Hoc-Teste, korrigiert nach Bonferroni, einen signifikanten Unterschied zwischen allen Gestationsalter-Gruppen ($p < 0,001$). Zum vierten Messzeitpunkt ergeben sich signifikante Gruppenunterschiede zwischen den Gestationsalter-Gruppen unter 37+0 und ab 40+0 ($p < 0,001$), sowie zwischen den Gestationsalter-Gruppen unter 37+0 und 37+0 bis 39+6 ($p = 0,007$). Zum fünften Messzeitpunkt unterscheiden sich die Gestationsalter-Gruppen nicht signifikant voneinander.

Die Gruppen innerhalb der abhängigen Variable Gestationsalter sind nicht alle normalverteilt, dennoch erfolgt die Analyse mittels einer ANOVA, da die Varianzanalyse relativ robust ist bei einer Verletzung dieser Voraussetzung bei einer Gruppengröße $n > 25$. Die signifikanten Ergebnisse der Varianzanalyse sind identisch zu den Ergebnissen der Analyse mittels Kruskal-Wallis-Test.

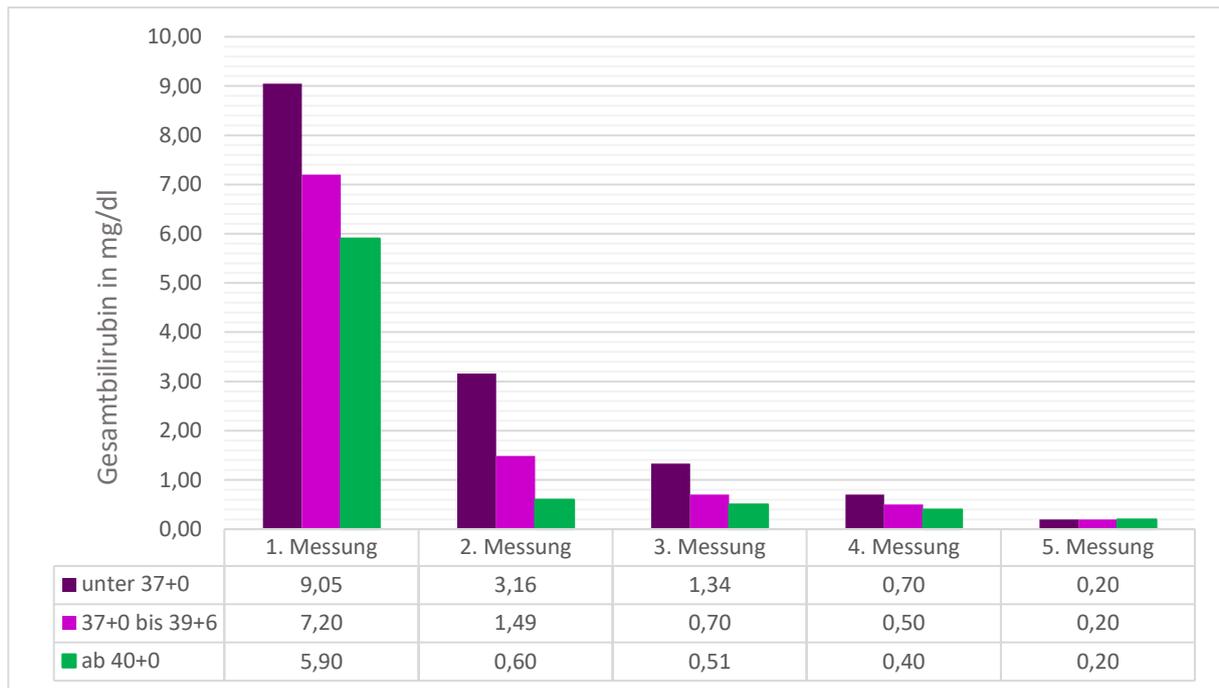


Abbildung 11 Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Gestationsalter auf Grundlage des Original-Datensatzes.

Tabelle 9 Gültige N des Original-Datensatzes der Gestationsalter-Gruppen zu den Messzeitpunkten

| Gestationsalter in SSW Gesamtanzahl | Gültige N zu den Messzeitpunkten (Prozent) | | | | |
|--|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1.Messung | 2.Messung | 3.Messung | 4.Messung | 5.Messung |
| unter 37+0 (n=78) | 74 (94,9%) | 51 (65,4%) | 70 (89,7%) | 70 (89,7%) | 72 (92,3%) |
| 37+0 bis 39+6 (n=338) | 313 (92,6%) | 249 (73,7%) | 316 (93,5%) | 300 (88,8%) | 321 (95,0%) |
| ab 40+0 (n=90) | 86 (95,6%) | 61 (67,8%) | 80 (88,9%) | 78 (86,7%) | 84 (93,3%) |

3.9.1.2 Gestationsalter – ergänzter Datensatz

Die drei Gestationsalter-Gruppen im ergänzten Datensatz (n=422) teilen sich wie folgt auf, 14,5 % (n=61) umfasst die Gruppe unter 37+0 SSW, 68,2% (n=288) die Gruppe 37+0 bis 39+6 SSW und 17,3% (n=73) die Gruppe 40+0 und älter.

Die Graphen der Bilirubinkonzentration der drei Gestationsalter-Gruppen fallen kontinuierlich vom ersten bis zum fünften Messzeitpunkt ab. Vom ersten bis zum vierten

Messzeitpunkt unterscheiden sich die drei Gestationsalter-Gruppen klar voneinander. Die Bilirubinkonzentrationen der unter 37+0 Gruppe sind konstant höher als die der älteren Gestationsalter-Gruppen. Die Werte der ab 40+0 Gestationsalter-Gruppe sind am niedrigsten. Erst zum fünften Messzeitpunkt gleichen sich die Bilirubinkonzentrationen der drei Gruppen an (vgl. Abbildung 6).

Die Variablen sind nicht normalverteilt, getestet mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests. Die Varianzhomogenität, gemessen mit Levene-Test, ist nur für den ersten Messzeitpunkt gegeben, für die weiteren Messzeitpunkte ist keine Varianzhomogenität gegeben. Die Analyse mittels Box-Test ($p < 0,001$) stellt keine Homogenität der Kovarianzmatrizen fest. Trotz dieser Verletzung der Voraussetzung für die mixed ANOVA werden die Ergebnisse ausgewertet. Der Mauchly-Test ist signifikant ($p < 0,001$) und das Epsilon nach Greenhouse-Geisser 0,362, daher wird die Korrektur nach Greenhouse-Geisser verwendet, weil Epsilon kleiner 0,75 ist.

Es liegt ein Interaktionseffekt zwischen Messzeitpunkt und Gestationsalter vor Greenhouse-Geisser $F(2,90, 606,75) = 9,87, p < 0,001$, die Bilirubinkonzentrationen der Gestationsaltergruppen unterscheiden sich folglich über den Verlauf der fünf Messzeitpunkte hinweg.

Der paarweise Vergleich, korrigiert nach Bonferroni, ergibt folgende signifikante Unterschiede: Von der ersten bis zur dritten Messung unterscheiden sich alle drei Gestationsalter-Gruppen signifikant voneinander. Bei der vierten Messung unterscheiden sich unter 37+0 signifikant von den andern beiden Gruppen 37+0 bis 39+6 und ab 40+0. Die beiden Gruppen 40+0 und 37+0 bis 39+6 unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Zum Zeitpunkt der fünften Messung unterscheiden sich die Bilirubinkonzentrationen der drei Gestationsalter-Gruppen nicht mehr voneinander.



Abbildung 12 Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Gestationsalter auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes.

3.9.2 Gestationsdiabetes

3.9.2.1 Gestationsdiabetes – Original-Datensatz

Insgesamt weist die Gestationsdiabetes-Gruppe im Original-Datensatz nur eine sehr kleine Fallzahl ($n=19$) auf (vgl. Tabelle 3), dabei gibt es keine Zwillingschwangerschaft. Die genaue Verteilung zu den einzelnen Messzeitpunkten ist in Tabelle 10 dargestellt.

Da die Gruppengrößen sehr unterschiedlich sind, bedingt durch die kleine Fallzahl, wurde zur Analyse der Mann-Whitney-U-Test verwendet unabhängig von der Normalverteilung, da dieser Test bei kleinen Fallzahlen und stark unterschiedlich großen Gruppen robuster ist.

Im Median liegen die Bilirubinkonzentrationen der Gestationsdiabetes-Gruppe bis einschließlich des fünften Messzeitpunktes über dem Median der Neugeborenen der Kein-Gestationsdiabetes-Gruppe. Die Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen bei dem ersten Messzeitpunkt sind signifikant höher, wenn ein Gestationsdiabetes der Mutter vorlag laut Mann-Whitney-U-Test ($U=4.996$, $p=0,043$). Zu den anderen Messzeitpunkten sind die Unterschiede statistisch nicht signifikant.

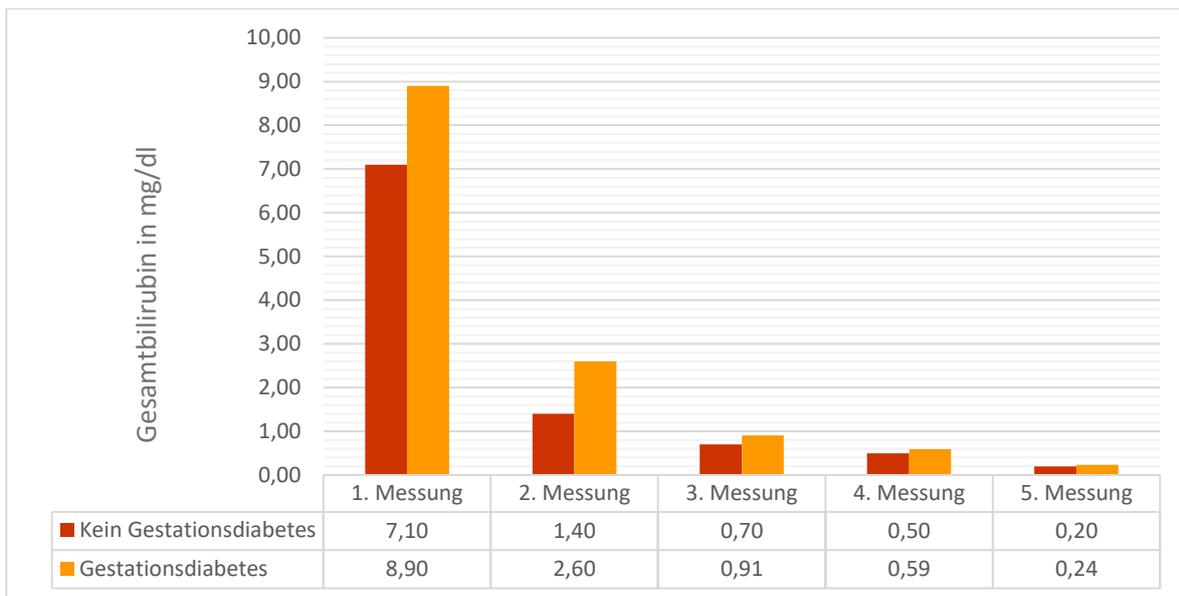


Abbildung 13 Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Gestationsdiabetes auf Grundlage des Original-Datensatzes.

Tabelle 10 Gültige N des Original-Datensatzes der Gestationsdiabetes-Gruppen zu den Messzeitpunkten

| | Gültige N zu den Messzeitpunkten (Prozent) | | | | |
|---------------------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1.Messung | 2.Messung | 3.Messung | 4.Messung | 5.Messung |
| Gesamtanzahl | | | | | |
| Kein Gestationsdiabetes (n=487) | 456 (93,6%) | 348 (71,5%) | 448 (92,0%) | 431 (88,5%) | 459 (94,3%) |
| Gestationsdiabetes (n=19) | 17 (89,5%) | 13 (68,4%) | 18 (94,7%) | 17 (89,5%) | 18 (94,7%) |

3.9.2.2 Gestationsdiabetes – ergänzter Datensatz

Im ergänzten Datensatz (n=422) umfasst die Gestationsdiabetes-Gruppe insgesamt 15 Neugeborene, deren Mütter an einem Gestationsdiabetes erkrankten und die Kein-Gestationsdiabetes-Gruppe 407 Neugeborenen, deren Mütter keinen Gestationsdiabetes hatten.

Die Graphen der Bilirubinkonzentration der beiden Gruppen Gestationsdiabetes und Kein-Gestationsdiabetes fallen kontinuierlich vom ersten bis zum fünften Messzeitpunkt ab. Dabei liegt der Graph der Gestationsdiabetes-Gruppe kontinuierlich über

dem der Kein-Gestationsdiabetes-Gruppe. Die Abstände zwischen den Gruppen nehmen ebenfalls mit der Zeit ab.

Die Gruppen Gestationsdiabetes und Kein-Gestationsdiabetes sind nicht zu jedem Messzeitpunkt normalverteilt, die Kein-Gestationsdiabetes-Gruppe (n=407) getestet mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests, die Gestationsdiabetes-Gruppe (n=15) mittels Shapiro-Wilk-Test. Zu allen Messzeitpunkten liegt eine Homogenität der Varianzen zwischen den Gruppen vor, gemessen mit Levene-Test. Die Homogenität der Kovarianzmatrizen ist gegeben, getestet mittels Box-Test ($p = 0,248$). Der Mauchly-Test ist signifikant ($p < 0,001$), das Epsilon nach Greenhouse-Geisser beträgt 0,361, daher wird die Korrektur nach Greenhouse-Geisser verwendet, weil Epsilon kleiner 0,75.

Unabhängig von den Messzeitpunkten konnte kein signifikanter Haupteffekt des Gestationsdiabetes ($p = 0,064$) ermittelt werden. Auch kann kein signifikanter Interaktionseffekt zwischen Messzeitpunkten und Gestationsdiabetes festgestellt werden, Greenhouse-Geisser $F(1,44, 605,65) = 2,15$, $p = 0,133$. Folglich gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen Neugeborenen mit Müttern mit und ohne Gestationsdiabetes im Verlauf der Bilirubinkonzentrationen über drei Monate.

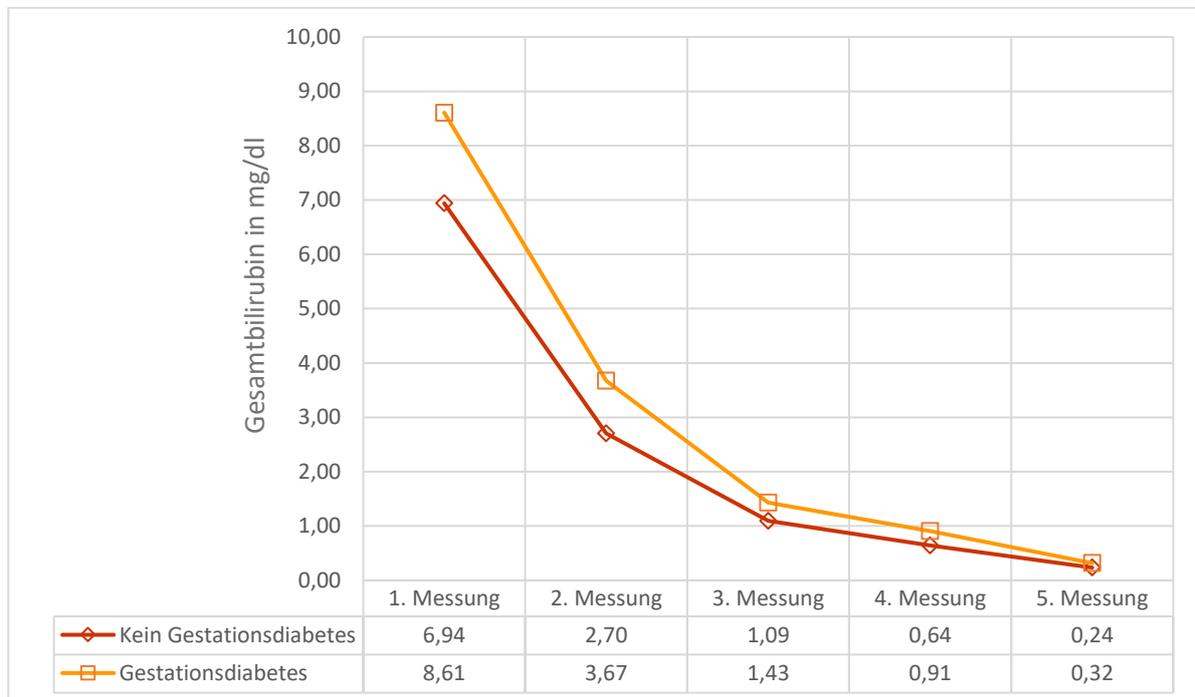


Abbildung 14 Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Gestationsdiabetes auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes.

3.9.3 Postnatale Prophylaxe

3.9.3.1 Postnatale Prophylaxe – Original-Datensatz

Die postnatalen Prophylaxe-Gruppen teilen sich im Original-Datensatz wie folgt auf, 68% (n=344) der Neugeborenen erhielten als postnatale Prophylaxe 28 Tage AZT oral, 23,9% (n=121) 14 Tage AZT oral, 5,7% (n=29) 10 Tage AZT intravenös und 2,4% (n=12) ein individuelles Prophylaxe-Regime zusammengefasst in der Gruppe Other (vgl. Tabelle 3). Die genaue Verteilung der einzelnen postnatalen Prophylaxe-Gruppen zu den Messzeitpunkten ist Tabelle 11 dargestellt.

Es lässt sich kein durchgehend einheitliches Muster der Bilirubinkonzentrationen aufgeteilt nach postnataler Prophylaxe über die verschiedenen Messzeitpunkte erkennen. Die Gruppe der Neugeborenen, die 10 Tage AZT intravenös erhalten hatte, zeigt durchgehend die höchsten Bilirubinkonzentrationen im Vergleich zu den anderen postnatalen Therapieregimen. Am größten präsentiert sich der Unterschied beim zweiten Messzeitpunkt, hier ist der Median der 10 Tage AZT intravenös Gruppe 100% höher als der nächst höhere Median der Other-Gruppe.

Die Variablen sind zu den einzelnen Messzeitpunkten nicht alle normal verteilt, darüber hinaus sind die Gruppen Other und 10 Tage AZT intravenös deutlich kleiner als die AZT oral Gruppen, daher findet die Signifikanztestung mittels Kruskal-Wallis-Test statt. Die Variablen sind Chi-Quadrat verteilt zu allen Messzeitpunkten.

Für die erste Woche ergibt sich kein signifikanter Einfluss der verschiedenen postnatalen Therapieregime auf die Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen. Zum zweiten Messzeitpunkt lässt sich ein signifikanter Einfluss der postnatalen Therapieregime auf die Bilirubinkonzentrationen laut Kruskal-Wallis-Test ($p=0,031$) feststellen. Der Post-Hoc-Test, korrigiert nach Bonferroni, weist signifikant höhere Bilirubinkonzentrationen auf für die 10 Tage AZT intravenös Gruppe im Vergleich zur 28 Tage AZT oral Gruppe ($p=0,023$) und der 14 Tage AZT oral Gruppe ($p=0,023$).

Der dritte Messzeitpunkt zeigt ebenfalls ein signifikanter Einfluss der postnatalen Therapieregime auf die Bilirubinkonzentrationen (Kruskal-Wallis-Test, $p=0,044$). Der Post-Hoc-Test, korrigiert nach Bonferroni, zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen der 10 Tage AZT intravenös Gruppe und der 14 Tage AZT oral Gruppe ($p=0,034$).

Zum vierten Messzeitpunkt kann ein signifikanter Einfluss der postnatalen Therapieregime auf die Bilirubinkonzentrationen nachgewiesen werden laut Kruskal-Wallis-Test ($p=0,020$). Der Post-Hoc-Test, korrigiert nach Bonferroni, ergibt, wie bei dem zweiten

Messzeitpunkt, einen signifikanten Unterschied zwischen der 10 Tage AZT intravenös Gruppe ($p=0,014$) und der 28 Tage AZT Gruppe ($p=0,024$).

Der fünfte Messzeitpunkt weist keine signifikanten Unterschiede auf zwischen den verschiedenen postnatalen Therapieregimen in Bezug auf die Bilirubinkonzentration.

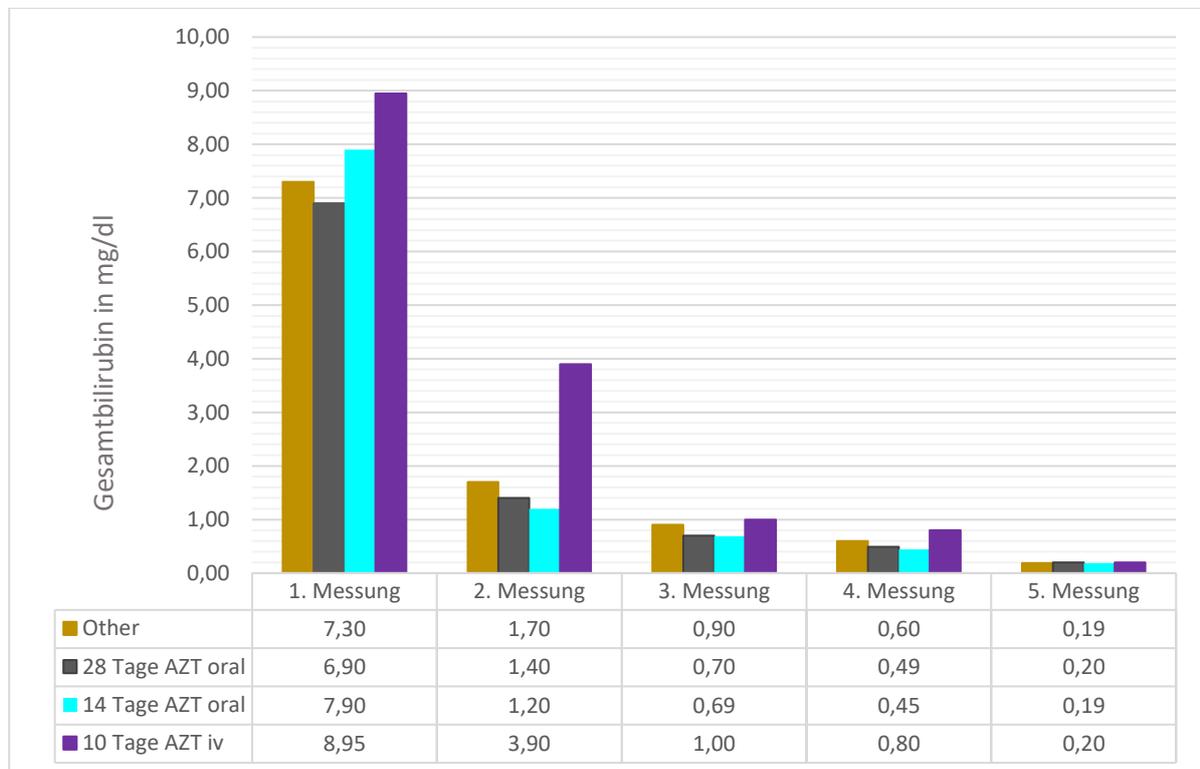


Abbildung 15 Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach postnataler Therapie auf Grundlage des Original-Datensatzes.

Tabelle 11 Gültige N des Original-Datensatzes der postnatale Prophylaxe-Gruppen zu den Messzeitpunkten

| Postnatale Prophylaxe Gesamtanzahl | Gültige N zu den Messzeitpunkten (Prozent) | | | | |
|------------------------------------|--|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 1.Messung | 2.Messung | 3.Messung | 4.Messung | 5.Messung |
| Other (n=12) | 11 (91,7%) | 9 (75,0%) | 12 (100%) | 12 (100%) | 12 (100%) |
| 28 Tage AZT (n=344) | 319 (92,7%) | 246 (71,5%) | 322 (93,6%) | 309 (89,8%) | 328 (95,3%) |
| 14 Tage AZT (n=121) | 117 (96,7%) | 87 (71,9%) | 107 (88,4%) | 104 (86,0%) | 108 (89,2%) |
| 10 Tage AZT iv (n=29) | 26 (89,7%) | 19 (65,5%) | 25 (86,2%) | 23 (79,3%) | 29 (100%) |

Tabelle 12 Gestationsalter aufgeteilt nach postnataler Prophylaxe-Gruppe.

| Gestationsalter (in SSW) | Postnatale Prophylaxe | | | |
|---------------------------------|---|---|---|--|
| | Other Anzahl Gültige N als Spaltenpro- zent | 28 Tage AZT Anzahl Gültige N als Spaltenpro- zent | 14 Tage AZT Anzahl Gültige N als Spaltenpro- zent | 10 Tage AZT i. v. Anzahl Gültige N als Spaltenpro- zent |
| <i>unter 37+0</i> | 6 50,0% | 43 12,5% | 13 10,7% | 16 55,2% |
| <i>37+0 bis 39+6</i> | 5 41,7% | 242 70,3% | 78 64,5% | 13 44,8% |
| <i>ab 40+0</i> | 1 8,3% | 59 17,2% | 30 24,8% | 0 0,0% |
| Gesamt | 12 | 344 | 121 | 29 |

Laut Chi-Quadrat nach Pearson unterscheidet sich die Verteilung der Gestationsalter-Gruppen zwischen den beiden postnatalen Prophylaxe Gruppen signifikant ($X^2=55,81$; $df=6$; $N=506$; $p < 0,001$) voneinander. Die 10 Tage AZT i. v.-Gruppe hat insgesamt das niedrigste Gestationsalter, der prozentuale Anteil der unter 37+0 SSW Gruppe ist in der 10 Tage AZT i. v.-Gruppe am höchsten und der ab 40+0 SSW am niedrigsten im Vergleich zu den anderen postnatalen Prophylaxe-Gruppen (vgl. Tabelle 12).

3.9.3.2 Postnatale Prophylaxe – ergänzter Datensatz

Im ergänzten Datensatz ($n=422$) erhielten 287 Neugeborenen als postnatale Therapie 28 Tage AZT oral, 102 Neugeborene 14 Tage AZT oral, 22 Neugeborene 10 Tage AZT intravenös und 11 Neugeborene „Other“.

Die Graphen der Bilirubinkonzentration der vier postnatalen Therapie Gruppen fallen kontinuierlich vom ersten bis zum fünften Messzeitpunkt ab. Dabei unterscheiden sich die Graphen der drei Gruppen „Other“, 28 Tage AZT oral und 14 Tage AZT oral nicht wesentlich voneinander. Der Graph der 10 Tage AZT i. v.-Gruppe liegt vom ersten bis zum vierten Messzeitpunkt durchgehend über denen der drei anderen postnatalen Therapie Gruppen.

Die Gruppen postnatale Therapie „Other“, 28 Tage AZT, 14 Tage AZT und 10 Tage AZT sind nicht zu jedem Messzeitpunkt normalverteilt, getestet mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests für $n > 50$ und mittels Shapiro-Wilk-Test für $n < 50$. Die Homogenität der Fehlervarianzen besteht für alle Variablen, getestet mittels Levene-Tests. Auch

die Homogenität der Kovarianzenmatrizen ist gegeben, Box-Test ($p = 0,097$). Der Mauchly-Test ist signifikant ($p < 0,001$) und das Epsilon nach Greenhouse-Geisser beträgt 0,361, daher wird die Korrektur nach Greenhouse-Geisser verwendet, weil Epsilon kleiner 0,75 ist.

Es besteht unabhängig von den Messzeitpunkten kein signifikanter Haupteffekt der postnatalen Therapie ($p = 0,112$). Auch gibt es keinen signifikanten Interaktionseffekt zwischen Messzeitpunkten und der postnatalen Therapie Greenhouse-Geisser $F(4,33, 603,07) = 1,171, p = 0,323$. Folglich lässt sich kein signifikanter Unterschied der Bilirubinkonzentrationen über drei Monate zwischen den Neugeborenen bezüglich ihrer postnatalen Therapie feststellen.

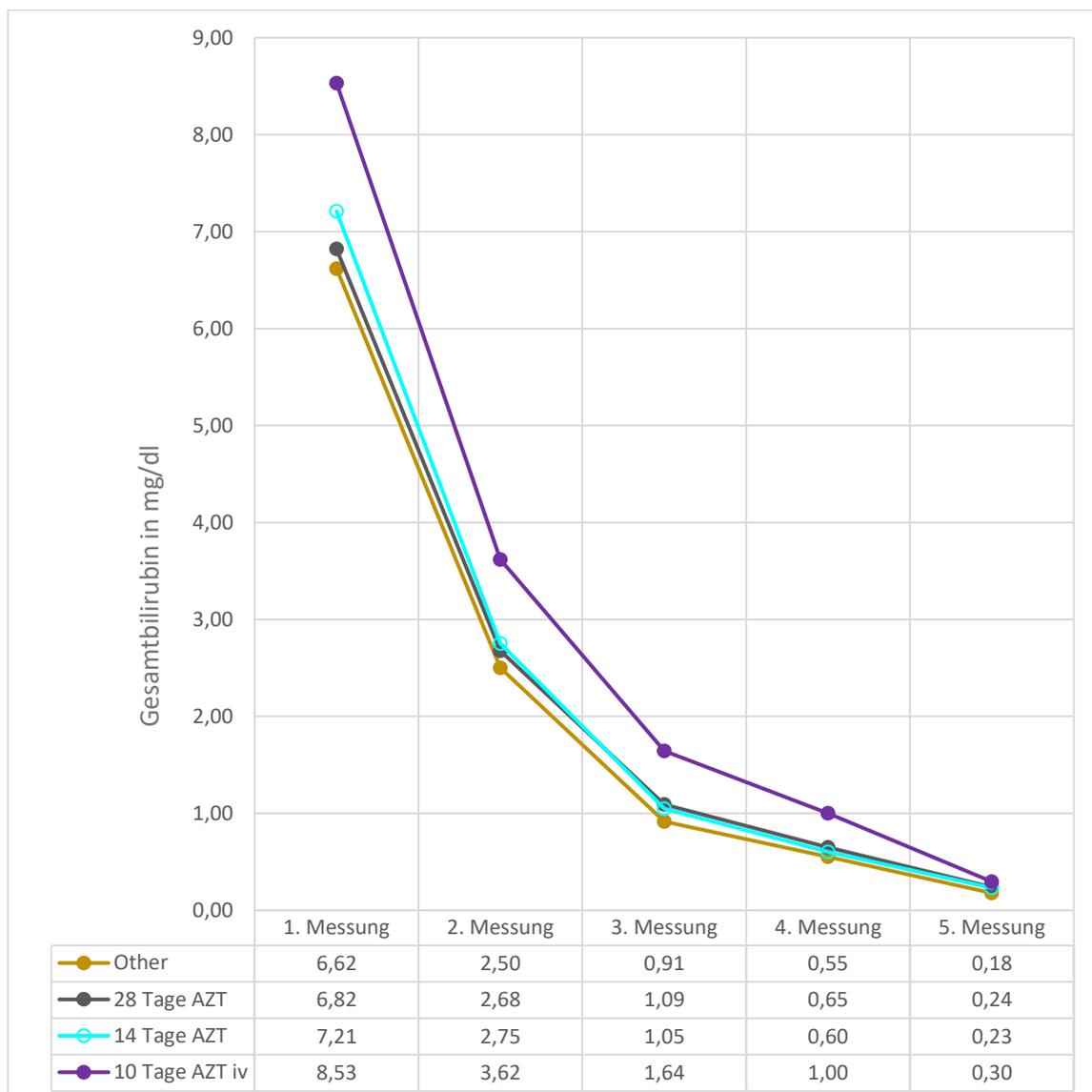


Abbildung 16 Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach postnataler Therapie auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes.

3.9.4 Ethnizität der Kinder

3.9.4.1 Ethnizität der Kinder – Original-Datensatz

Die Ethnizität-Gruppen der Kinder im Original-Datensatz teilen sich wie folgt auf, afrikanisch 54,1% (n=228), kaukasisch 30% (n=152), mixed 17,4% (n=88) und divers 7,5% (n=38) (vgl. Tabelle 3). Die genaue Verteilung der Ethnizität-Gruppen zu den einzelnen Messzeitpunkten sind in Tabelle 13 dargestellt.

In der ersten Woche sortiert sich die Reihenfolge der Ethnizitäten nach Höhe der Bilirubinkonzentration divers, kaukasisch, afrikanisch und mixed. Ab dem zweiten Messzeitpunkt haben die kaukasischen Neugeborenen die höchsten Bilirubinkonzentrationen (Median) und die mixed Neugeborenen einen höheren Median als die afrikanischen Neugeborenen. Bei der Betrachtung der Messzeiträume fällt auf, dass die kaukasischen Kinder fast immer die höchste Bilirubinkonzentration im Mittel aufweisen.

Die Stichproben sind zu den Messzeitpunkten nicht alle normalverteilt, daher wird der Kruskal-Wallis-Test zur Untersuchung des Einflusses der Ethnizität auf die Bilirubinkonzentration genutzt.

Bei den ersten vier Messzeitpunkten kann ein signifikanter Einfluss (Kruskal-Wallis-Test) der Ethnizität auf die Bilirubinkonzentration nachgewiesen werden. Nur bei dem fünften Messzeitpunkt gibt es kein signifikantes Ergebnis. Zum ersten Messzeitpunkt sind die Gruppen Other und Mixed signifikant unterschiedlich (Post-Hoc-Test nach Bonferroni, $p=0,025$). Der Post-Hoc-Test nach Bonferroni ergibt für die Unterschiede der Bilirubinkonzentrationen zwischen der Mixed-Gruppe und den Kaukasischen-Gruppe für den ersten ($p=0,003$), zweiten ($p=0,010$), dritten ($p<0,001$) und vierten Messzeitpunkt ($p=0,005$) eine Signifikanz. Für die Unterschiede zwischen der Afrikanischen-Gruppe und der Kaukasischen-Gruppe zeigt der Post-Hoc-Test nach Bonferroni für den zweiten ($p<0,001$), dritten ($p<0,001$) und vierten ($p<0,001$) Messzeitpunkt signifikante Unterschiede.

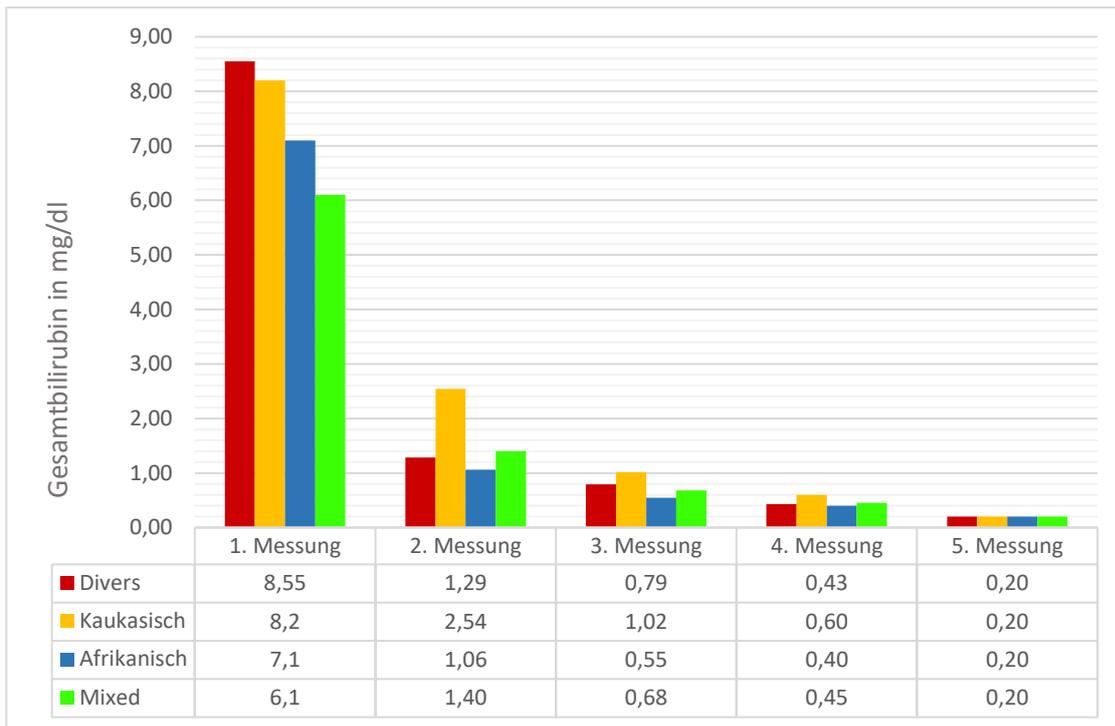


Abbildung 17 Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Kindesethnizität auf Grundlage des Original-Datensatzes.

Tabelle 13 Gültige N des Original-Datensatzes der Ethnizität-Gruppen zu den Messzeitpunkten

| Ethnizität Gesamtanzahl | Gültige N zu den Messzeitpunkten (Prozent) | | | | |
|----------------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1.Messung | 2.Messung | 3.Messung | 4.Messung | 5.Messung |
| Divers (n=38) | 34 (89,5%) | 26 (68,4%) | 36 (94,7%) | 35 (92,1%) | 35 (92,1%) |
| Kaukasisch (n=152) | 144 (94,7%) | 111 (73,0%) | 140 (92,1%) | 139 (91,4%) | 145 (95,4%) |
| Afrikanisch (n=228) | 213 (93,4%) | 158 (69,3%) | 210 (92,1%) | 198 (86,8%) | 214 (93,9%) |
| Mixed (n=88) | 82 (93,2%) | 66 (75,0%) | 80 (90,9%) | 76 (86,4%) | 83 (94,3%) |

3.9.4.2 Ethnizität der Kinder – ergänzter Datensatz

Insgesamt sind im ergänzten Datensatz von den 422 untersuchten Neugeborenen 190 afrikanisch, 131 kaukasisch, 71 mixed und 30 divers.

Die Graphen der Bilirubinkonzentration der vier Ethnizität-Gruppen fallen konstant vom ersten bis zum fünften Messzeitpunkt ab. Die höchsten Werte für die Bilirubinkonzentration hat der Graph der Kaukasischen-Gruppe bis einschließlich dem vierten Messzeitpunkt. Die Gruppen Afrikanisch und Mixed unterscheiden sich im Verlauf kaum

voneinander und haben niedrigere Werte für die Bilirubinkonzentration als der Graph der Kaukasischen-Gruppe. Der Graph der Divers-Gruppe weist zum ersten Messzeitpunkt ähnlich hohe Werte für die Bilirubinkonzentration auf wie der Graph der Kaukasischen-Gruppe, allerdings fallen die Werte im Verlauf stärker ab und gleichen sich ab dem dritten Messzeitpunkt denen der Afrikanischen- und der Mixed-Gruppe an.

Die Gruppen Divers, Kaukasisch, Afrikanisch und Mixed sind nicht zu jedem Messzeitpunkt normalverteilt, getestet mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests für $n > 50$ und mittels Shapiro-Wilk-Test für $n < 50$. Es liegt nicht für alle Variablen zu allen Messzeitpunkten eine Homogenität der Fehlervarianzen vor, getestet mittels Levene-Tests. Die Homogenität der Kovarianzenmatrizen ist nicht gegeben, Box-Test ($p < 0,001$). Trotz dieser Verletzung der Voraussetzung für die mixed ANOVA werden die Ergebnisse ausgewertet. Der Mauchly-Test ist signifikant ($p < 0,001$), das Epsilon nach Greenhouse-Geisser 0,360, daher wird die Korrektur nach Greenhouse-Geisser verwendet.

Es gibt einen Interaktionseffekt zwischen Messzeitpunkte und Ethnizität Kind Greenhouse-Geisser $F(4,33, 602,55) = 6,250$ $p < 0,001$.

Der paarweise Vergleich, korrigiert nach Bonferroni, ergibt folgende Ergebnisse. Die Divers-Gruppe und Mixed-Gruppe unterscheiden sich nur zum ersten Messzeitpunkt signifikant voneinander. Die Kaukasisch-Gruppe unterscheidet sich zu den ersten vier Messzeitpunkten sowohl von der Afrikanisch-Gruppe als auch von der Mixed-Gruppe. Beim fünften Messzeitpunkt gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kind-Ethnizität-Gruppen.

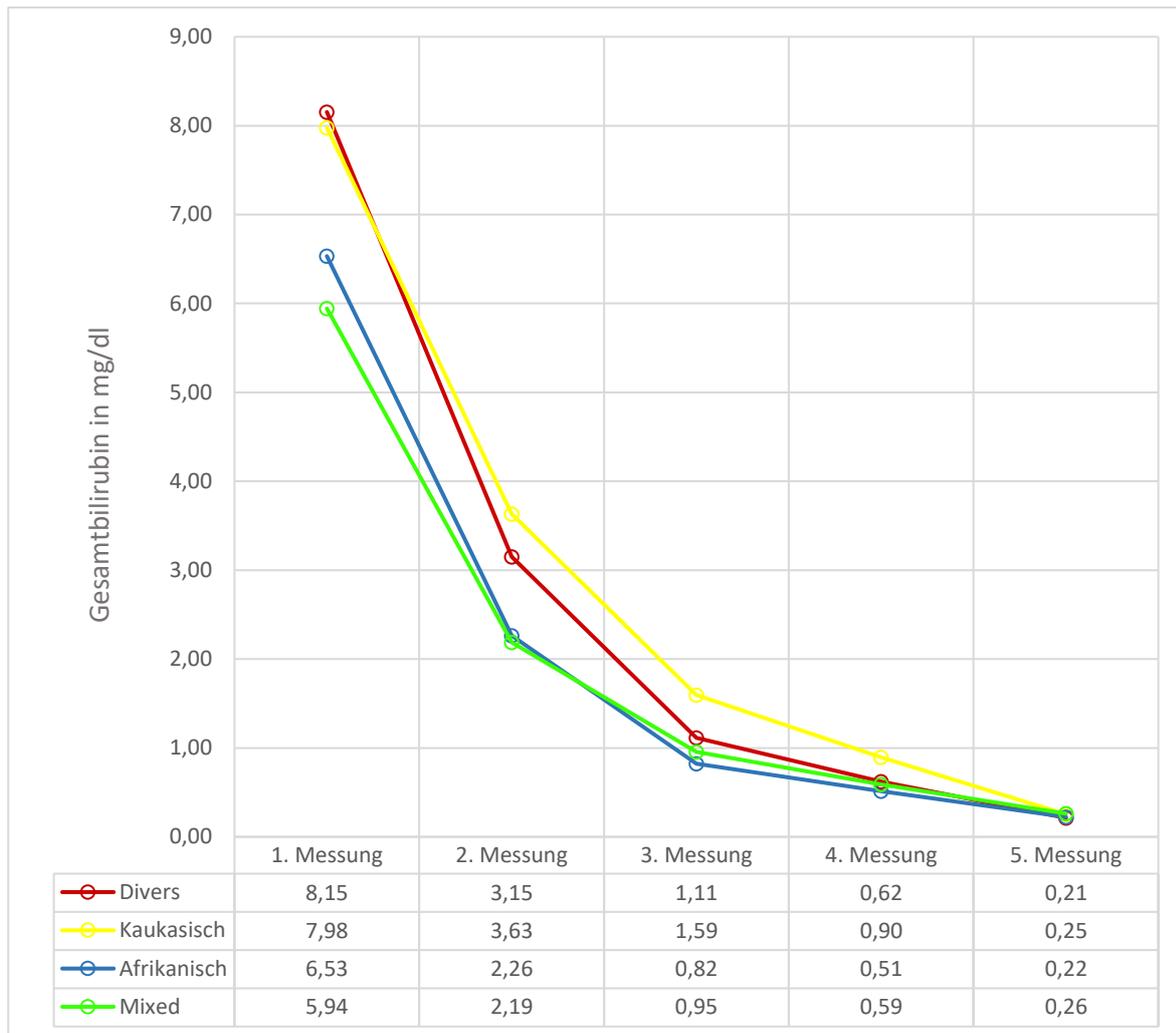


Abbildung 18 Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Kindesethnizität auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes.

3.9.5 APGAR 5

3.9.5.1 APGAR 5 – Original-Datensatz

Die Gesamtanzahl und die genaue Verteilung der APGAR 5 Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten zeigt Tabelle 15.

Die Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen mit einem APGAR nach 5 Minuten zwischen neun und zehn Punkten sind bei den ersten drei Messzeitpunkten niedriger als bei denen, die einen APGAR nach 5 Minuten unter neun Punkten haben.

Die Verteilung innerhalb der Gruppen APGAR 5 sind zu den verschiedenen Messzeitpunkten nicht durchgehend normal verteilt, getestet mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests

($n > 50$) und Shapiro-Wilk-Test ($n < 50$). Des Weiteren sind die Gruppengrößen unterschiedlich und die Variablen nicht normalverteilt, daher wurde zur Analyse der Mann-Whitney-U-Test verwendet.

Nur zum Zeitpunkt der zweiten Messung sind die Unterschiede zwischen den beiden APGAR 5 Gruppen statistisch signifikant laut Mann-Whitney-U-Test ($U=8.069$, $p=0,016$). Zu den anderen Messungen sind die Unterschiede nicht signifikant.

Tabelle 14 Verteilung der Gestationsaltergruppen auf die APGAR 5 Gruppen

| Gestationsalter in SSW | APGAR 9-10 | | APGAR 5-8 | | Gesamt |
|------------------------|------------|------------------------|-----------|------------------------|--------|
| | Anzahl | Gültige N als Spalten% | Anzahl | Gültige N als Spalten% | |
| unter 37+0 | 54 | 12,4% | 24 | 34,3% | 78 |
| 37+0 bis 39+6 | 300 | 68,8% | 38 | 54,3% | 338 |
| Ab 40+0 | 82 | 18,8% | 8 | 11,4% | 90 |
| Gesamt | 436 | | 70 | | 506 |

Laut Chi-Quadrat nach Pearson unterscheidet sich die Verteilung der Gestationsalter-Gruppen zwischen den beiden APGAR 5 Gruppen signifikant ($X^2=22,52$; $df=2$; $N=506$; $p < 0,001$) voneinander. Die 5-8 APGAR 5 Gruppe hat insgesamt ein niedrigeres Gestationsalter, der prozentuale Anteil der unter 37+0 SSW Gruppe ist in der APGAR 5 5-8 Gruppe höher und der ab 40+0 SSW niedriger (vgl. Tabelle 14).

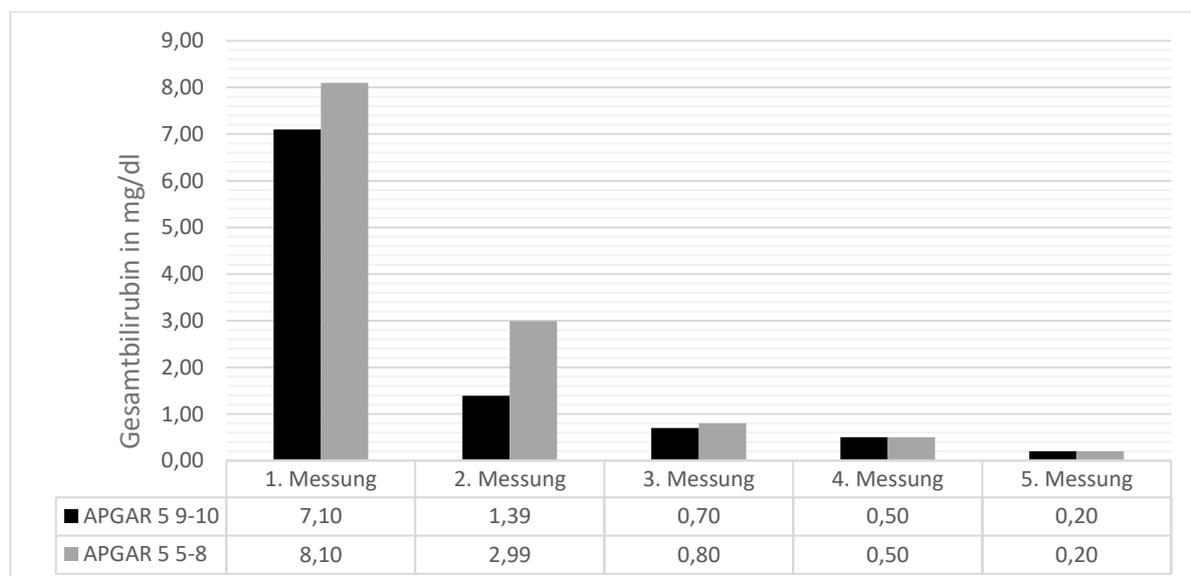


Abbildung 19 Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach APGAR 5 auf Grundlage des Original-Datensatzes.

Tabelle 15 Gültige N des Original-Datensatzes der APGAR 5 Gruppen zu den Messzeitpunkten

| Gesamtanzahl | Gültige N zu den Messzeitpunkten (Prozent) | | | | |
|----------------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1.Messung | 2.Messung | 3.Messung | 4.Messung | 5.Messung |
| APGAR 5 9-10 (n=436) | 407 (93,3%) | 320 (73,4%) | 403 (92,4%) | 387 (88,8%) | 411 (94,3%) |
| APGAR 5 5-8 (n=70) | 66 (94,3%) | 41 (58,6%) | 63 (90,0%) | 61 (87,1%) | 66 (94,3%) |

3.9.5.2 APGAR 5 – ergänzter Datensatz

Bei Geburt hatten 368 Neugeborene einen höheren APGAR 5 von 9 bis 10 Punkten, 54 hatten bei Geburt einen niedrigeren APGAR 5 von 5-8 Punkten.

Der Graph der niedrigeren APGAR 5 Gruppe weist zu den ersten zwei Messzeitpunkten höhere Werte für die Bilirubinkonzentration auf als der Graph der höheren APGAR 5 Gruppe. Ab dem dritten Messzeitpunkt gleichen sich die Graphen der beiden Gruppen an (vgl. Abbildung 20).

Der Kolmogorov-Smirnov-Test ergibt nicht für alle Variablen eine Normalverteilung. Der Levene-Test zeigt eine Homogenität der Fehlervarianzen für alle Variablen. Die Homogenität der Kovarianzenmatrizen ist nicht gegeben, Box-Test ($p < 0,001$), trotz dieser Verletzung der Voraussetzung für die mixed ANOVA werden die Ergebnisse ausgewertet. Der Mauchly-Test ist signifikant ($p < 0,001$), das Epsilon nach Greenhouse-Geisser ist 0,359, daher wird die Korrektur nach Greenhouse-Geisser verwendet.

Es gibt keinen Interaktionseffekt zwischen Messzeitpunkte und APGAR 5 Greenhouse-Geisser $F(1,44, 603,74) = 2,89$ $p = 0,074$. Die Bilirubinkonzentrationen der hohen und niedrigen APGAR 5 Gruppen unterscheiden sich folglich nicht im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte.

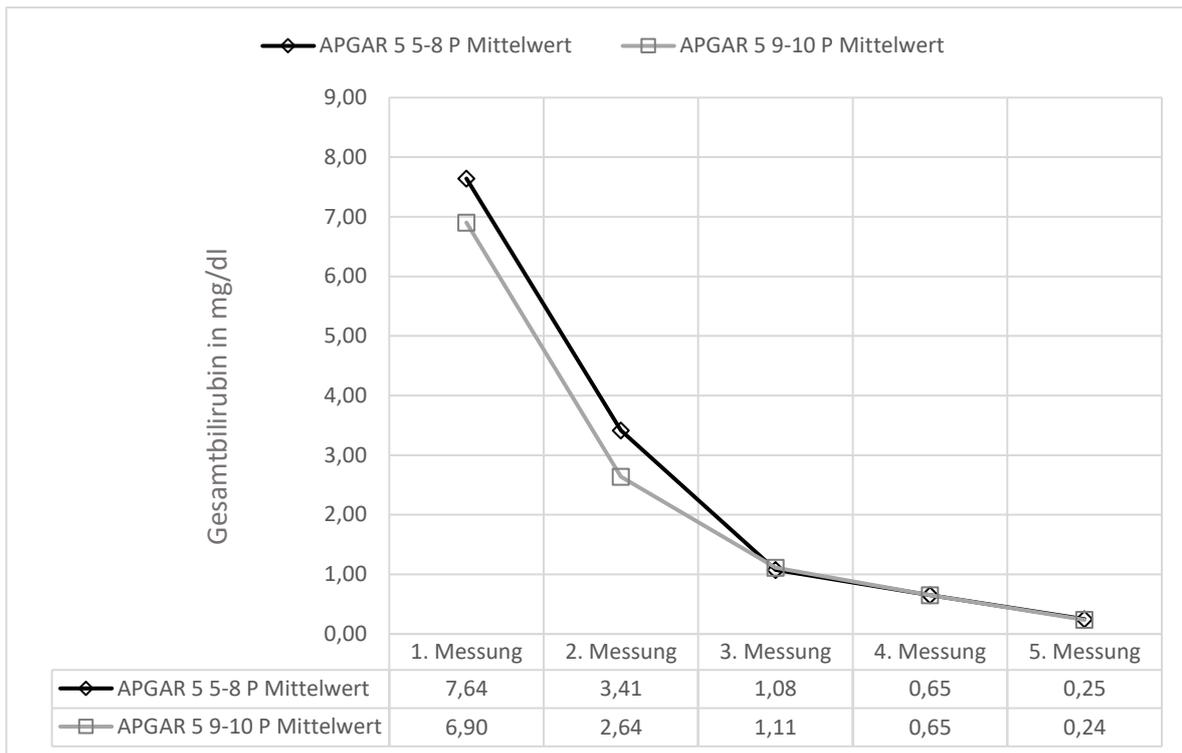


Abbildung 20 Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach APGAR 5 auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes.

3.9.6 Alter der Mutter bei Entbindung

Es ist kein Zusammenhang zwischen dem Alter der Mutter bei Entbindung und der Bilirubinkonzentration ersichtlich (vgl. Abbildung 21). Zu keinem Messzeitpunkt gibt es einen signifikanten Einfluss des Alters der Mutter auf die Bilirubinkonzentration (laut ANOVA oder Kruskal-Wallis-Test), sowohl bei der Unterteilung in drei Gruppen (unter 20, 21-39, über 40), als auch bei der Unterteilung in sechs Altersklassen (unter 20, 21-25, 26-30, 31-35, 36-40, 41-45).

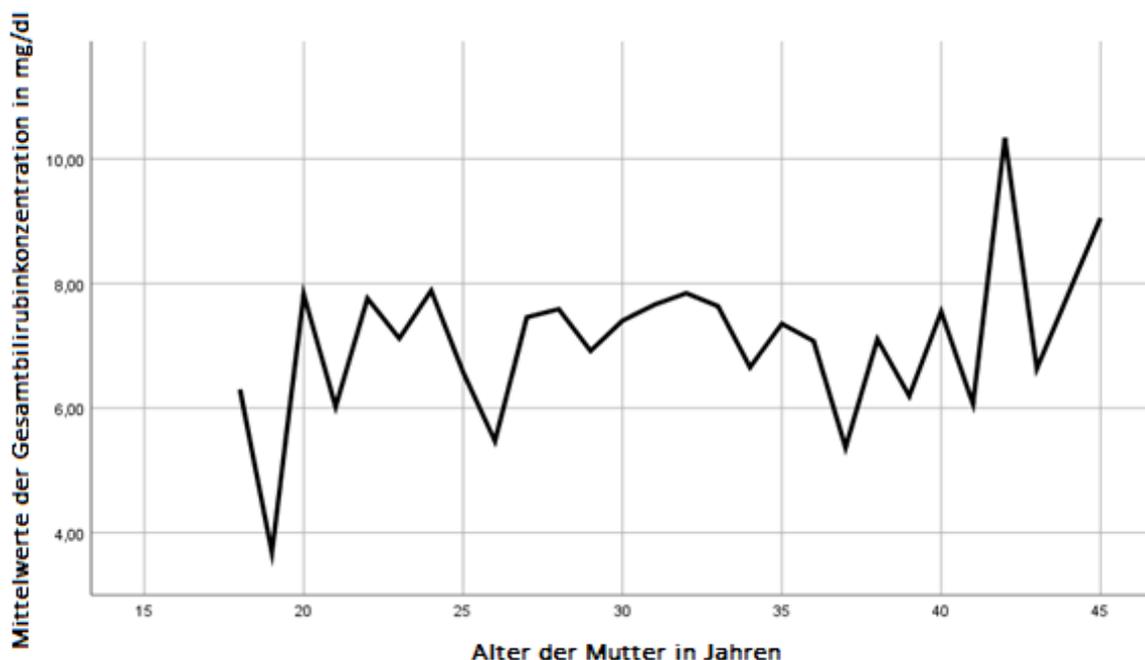


Abbildung 21 Darstellung der Mittelwerte der ersten Messung der Gesamtbilirubinkonzentration in mg/dl aufgeteilt nach Alter der Mutter in Jahren.

3.9.7 Neonatales Drogenentzugssyndrom

3.9.7.1 Neonatales Drogenentzugssyndrom – Original-Datensatz

Die Gesamtanzahl und die genaue Verteilung zu den einzelnen Messzeitpunkten der Neugeborenen mit und ohne neonatalen Drogenentzug stellt Tabelle 16 dar.

Zwischen den Gruppen neonataler Drogenentzug und kein neonataler Drogenentzug ist kein klarer Trend zu erkennen. Bei der ersten Messung ist die Bilirubinkonzentration der kein neonataler Drogenentzug höher als die der Postnataler-Drogenentzug-Gruppe. Bei der zweiten und dritten Messung verhält es sich gegenteilig, ab der vierten Messung gleichen sich die Bilirubinkonzentrationen der beiden Gruppen an.

Es ist kein Zusammenhang zwischen mütterlichem Drogenkonsum während der Schwangerschaft und der Bilirubinkonzentration der Neugeborenen erkennbar. Insgesamt sind in der Studie nur 10 Mütter eingeschlossen, die während der Schwangerschaft Drogen konsumiert haben.

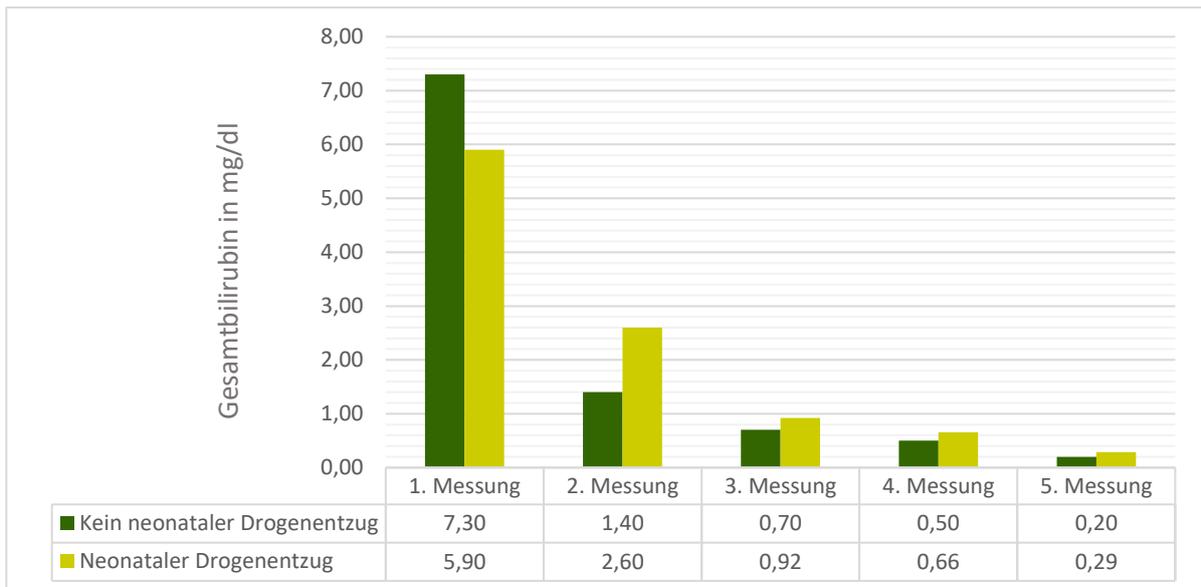


Abbildung 22 Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach neonataler Drogenentzug auf Grundlage des Original-Datensatzes.

Tabelle 16 Gültige N des Original-Datensatzes der neonataler Drogenentzug-Gruppen zu den Messzeitpunkten

| Gesamtanzahl | Gültige N zu den Messzeitpunkten (Prozent) | | | | |
|--------------------------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1.Messung | 2.Messung | 3.Messung | 4.Messung | 5.Messung |
| Kein neonataler Drogenentzug (n=496) | 464 (93,5%) | 356 (71,8%) | 456 (91,9%) | 438 (88,3%) | 467 (94,2%) |
| Neonataler Drogenentzug (n=10) | 9 (90,0%) | 5 (50,0%) | 10 (100%) | 10 (100%) | 10 (100%) |

3.9.7.2 Neonatales Drogenentzugssyndrom – ergänzter Datensatz

Insgesamt hatten im ergänzten Datensatz neun der 422 Neugeborenen einen neonatalen Drogenentzug, die Mehrheit mit 413 hatte keinen neonatalen Drogenentzug.

Zum ersten Messzeitpunkt hat der Graph der Gruppe Kein-neonataler-Drogenentzug höhere Werte der Bilirubinkonzentration als der Graph der Gruppe Neonataler-Drogenentzug. Für die Messzeitpunkte zwei, drei und vier verhält es sich umgekehrt, hier hat der Graph der Gruppe Kein-neonataler-Drogenentzug niedrigere Werte der Bilirubinkonzentration als der Graph der Gruppe Neonataler-Drogenentzug. Zum fünften Messzeitpunkt gleichen sich die Werte für die Bilirubinkonzentration zwischen den Gruppen an.

Die Gruppen neonataler- und kein neonataler Drogenentzug sind nicht zu jedem Messzeitpunkt normalverteilt, getestet mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests für $n > 50$ und mittels Shapiro-Wilk-Test für $n < 50$. Die Homogenität der Fehlervarianzen ist für alle Variablen gegeben, getestet mittels Levene-Tests. Die Homogenität der Kovarianzenmatrizen ist nicht gegeben, Box-Test ($p = 0,026$), trotz dieser Verletzung der Voraussetzung für die mixed ANOVA werden die Ergebnisse ausgewertet. Der Mauchly-Test ist signifikant ($p < 0,001$) und das Epsilon nach Greenhouse-Geisser ist 0,359, daher wird die Korrektur nach Greenhouse-Geisser verwendet.

Es gibt keinen Interaktionseffekt zwischen Messzeitpunkt und dem Faktor neonataler Drogenentzug laut Greenhouse-Geisser $F(1,44, 603,49) = 0,684$ $p = 0,459$. Der Verlauf der Bilirubinkonzentrationen über die fünf Messzeitpunkte unterscheidet sich folglich nicht zwischen den Gruppen neonataler- und kein neonataler Drogenentzug.

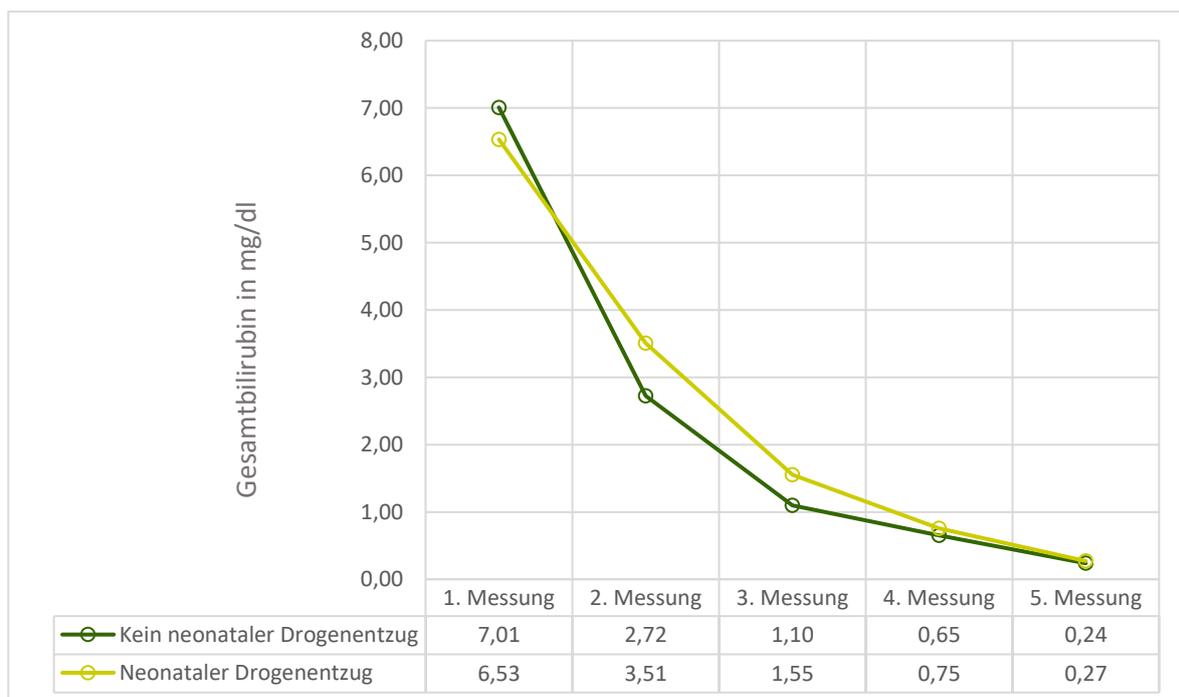


Abbildung 23 Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach neonatalem Drogenentzug auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes.

3.9.8 Geburtsmodus

3.9.8.1 Geburtsmodus – Original-Datensatz

Die genaue Anzahl zu den Messzeitpunkten und die Gesamtanzahl der Geburtsmodus-Gruppen ist in Tabelle 18 dargestellt.

Die Bilirubinkonzentrationen der Kaiserschnitt-Gruppe liegen im Mittel höher als die Bilirubinkonzentrationen der Kein-Kaiserschnitt-Gruppe (vgl. Abbildung 24).

Die Stichproben sind zu den Messzeitpunkten nicht alle normalverteilt, getestet mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests, daher wird für die statistische Analyse der Mann-Whitney-U-Test verwendet.

Zum der ersten Messzeitpunkt gibt es keine statistisch signifikanten Unterschiede der Bilirubinkonzentrationen. Die Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen Kaiserschnitt-Gruppe sind bei der zweiten ($U=18.418$; $p<0,001$), dritten ($U=28.229$; $p<0,001$) und vierten ($U=25.383$; $p=0,003$) Messung signifikant höher als die der Kein-Kaiserschnitt-Gruppe.

Auffällig ist, dass die Kein-Kaiserschnitt-Gruppe ein höheres Gestationsalter hat, als die Kaiserschnitt-Gruppe. Laut Chi-Quadrat nach Pearson unterscheidet sich die Verteilung der Gestationsalter-Gruppen zwischen den beiden Gruppen Kaiserschnitt und Kein-Kaiserschnitt signifikant ($X^2=51,38$; $df=2$; $N=506$; $p < 0,001$) voneinander (vgl. Tabelle 17).

Tabelle 17 Kreuztabelle Gestationsalter und Kaiserschnitt

| <i>Gestationsalter</i> | <i>Kein Kaiserschnitt Anzahl Gültige N als Spalten%</i> | <i>Kaiserschnitt Anzahl Gültige N als Spalten%</i> |
|------------------------|---|--|
| <i>unter 37+0</i> | 10 6,3% | 68 19,6% |
| <i>37+0 bis 39+6</i> | 94 59,1% | 244 70,3% |
| <i>Ab 40+0</i> | 55 34,6% | 35 10,1% |

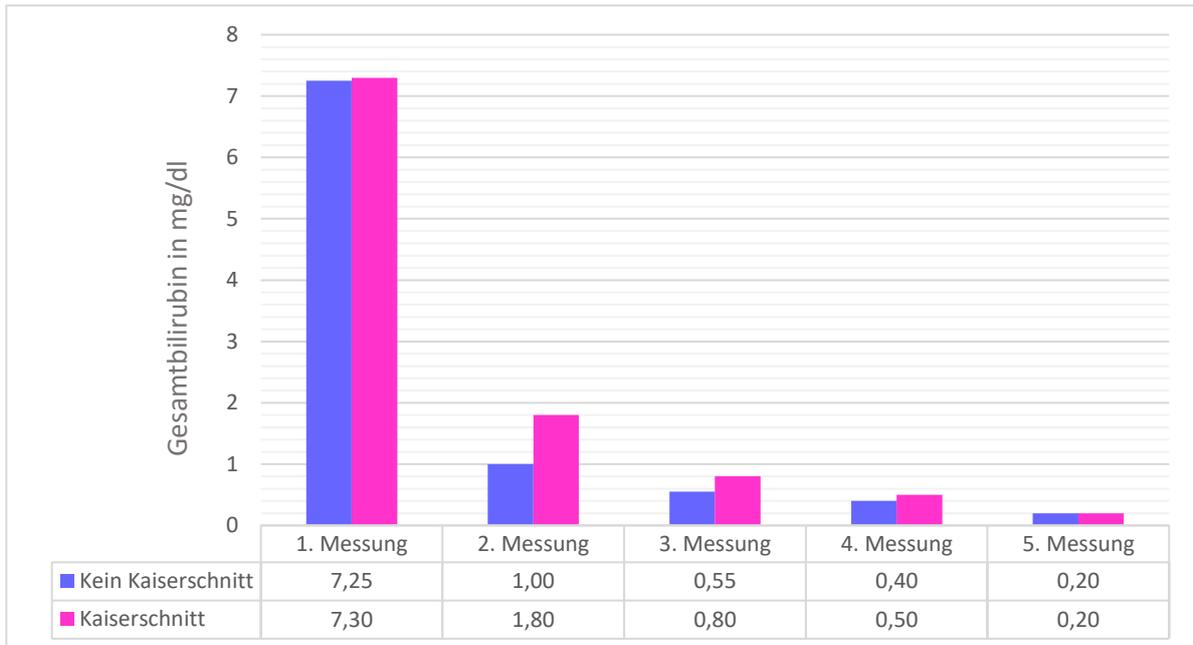


Abbildung 24 Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Geburtsmodus auf Grundlage des Original-Datensatzes.

Tabelle 18 Gültige N des Original-Datensatzes der Geburtsmodus-Gruppen zu den Messzeitpunkten

| Gesamtanzahl | Gültige N zu den Messzeitpunkten (Prozent) | | | | |
|-------------------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1.Messung | 2.Messung | 3.Messung | 4.Messung | 5.Messung |
| Kein Kaiserschnitt (n=159) | 146 (91,8%) | 117 (73,6%) | 143 (90,0%) | 141 (88,7%) | 145 (91,2%) |
| Kaiserschnitt (n=347) | 327 (94,2%) | 244 (70,3%) | 323 (93,0%) | 307 (88,5%) | 332 (95,7%) |

3.9.8.2 Geburtsmodus – ergänzter Datensatz

Der ergänzte Datensatz umfasst 126 Kinder in der Geburtsmodus-Gruppe ohne Kaiserschnitt und 296 in der Geburtsmodus-Gruppe mit Kaiserschnitt.

Die Graphen der Bilirubinkonzentration der beiden Gruppen Kaiserschnitt und Kein-Kaiserschnitt fallen kontinuierlich vom ersten bis zum fünften Messzeitpunkt ab. Dabei liegt der Graph der Kaiserschnitt-Gruppe vom ersten bis zum vierten Messzeitpunkt kontinuierlich über dem der Kein- Gestationsdiabetes-Gruppe. Zum fünften Messzeitpunkt gleichen sich die Werte der Bilirubinkonzentration der beiden Graphen an.

Die Gruppen Kein-Kaiserschnitt und Kaiserschnitt sind nicht zu jedem Messzeitpunkt normalverteilt. Getestet mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests.

Die Homogenität der Fehlervarianzen ist für alle Variablen gegeben, getestet mittels Levene-Tests. Die Homogenität der Kovarianzenmatrizen ist nicht gegeben, Box-Test ($p < 0,001$), trotz dieser Verletzung der Voraussetzung für die mixed ANOVA werden die Ergebnisse berichtet. Der Mauchly-Test ist signifikant ($p < 0,001$) und das Epsilon nach Greenhouse-Geisser ist 0,360, daher wird die Korrektur nach Greenhouse-Geisser verwendet.

Es gibt einen signifikanten Interaktionseffekt zwischen Messzeitpunkte und Kaiserschnitt Greenhouse-Geisser $F(1,44, 604,08) = 4,938$ $p = 0,015$. Die paarweisen Vergleiche, korrigiert nach Bonferroni, zeigen vom ersten bis zum vierten Messzeitpunkt für die Gruppen Kein-Kaiserschnitt und Kaiserschnitt signifikante Unterschiede, zum fünften Messzeitpunkt gibt es keinen Unterschied zwischen den Gruppen nicht mehr.

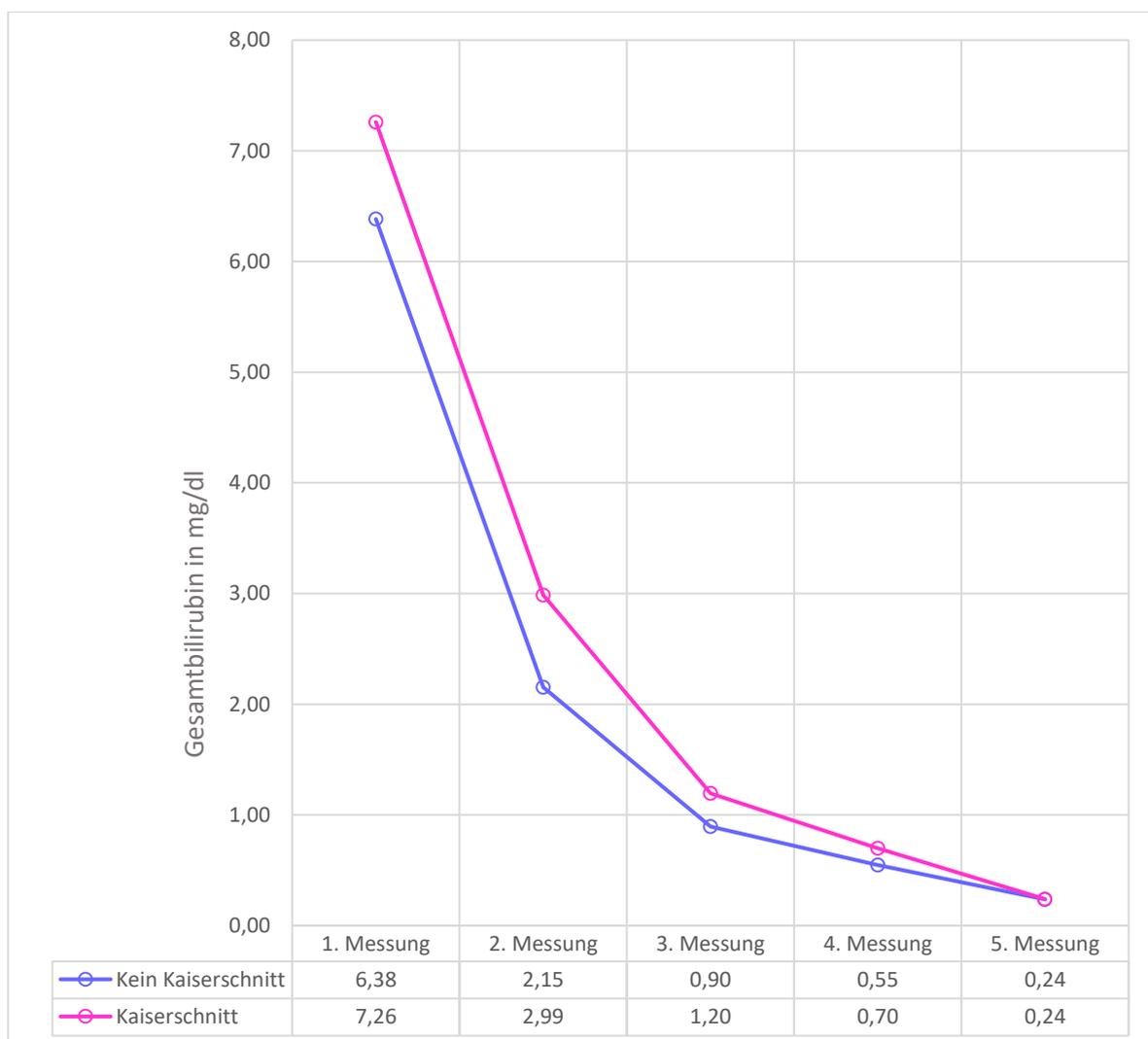


Abbildung 25 Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Geburtsmodus auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes.

3.9.9 Parität

3.9.9.1 Parität – Original-Datensatz

Tabelle 19 zeigt die Gesamtanzahl und die genaue Anzahl zu den Messzeitpunkten der Primipara- und der Pluripara-Gruppe.

Die Mittelwerte der Bilirubinkonzentrationen der Primipara- und der Pluripara-Gruppe unterscheiden sich nicht um mehr als 0,4mg/dl zu den fünf verschiedenen Messzeitpunkten fällt auf. Die Mittelwerte der Primipara-Gruppe sind zu allen fünf Messzeitpunkten höher als die der Pluripara-Gruppe.

Während der ersten Messung sind die Werte in den Primi- und Pluripara-Gruppen normalverteilt, daher wird zur statistischen Analyse der t-Test für unabhängige Stichproben verwendet. Zu den anderen Messzeitpunkten zwei, drei, vier und fünf sind die Primi- und Pluripara-Gruppen nicht normalverteilt, daher wird bei diesen Messzeitpunkten der Mann-Whitney-U-Test zur Analyse verwendet.

Die Unterschiede zwischen Primi- und Pluripara-Gruppe sind während des dritten (U=28.518, p=0,010) und vierten (U=26.523, p=0,011) Messzeitpunkts statistisch signifikant. Während des ersten, zweiten und fünften Messzeitpunktes sind die Unterschiede statistisch nicht signifikant.

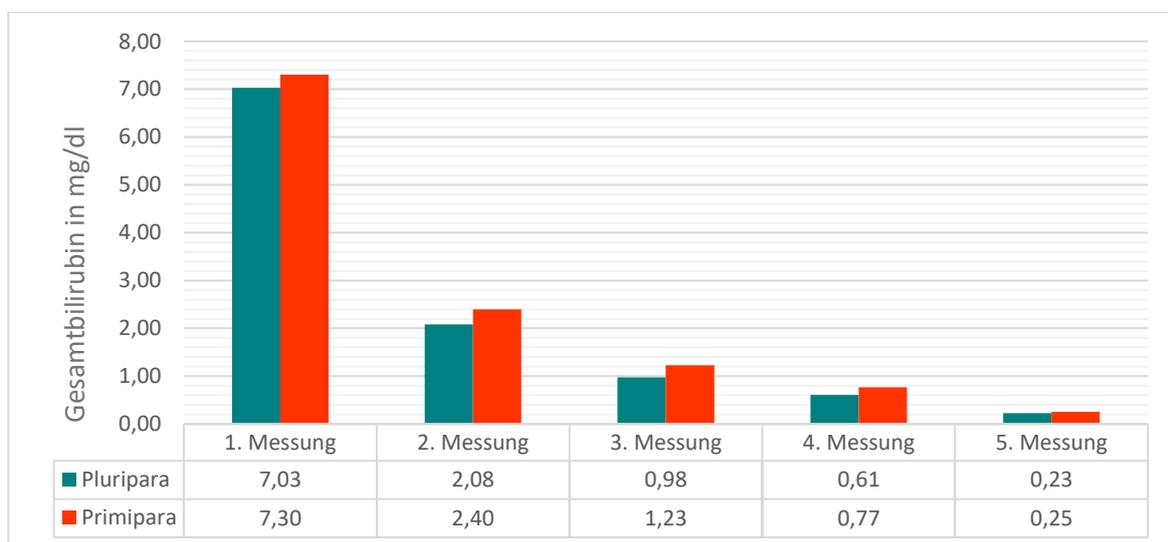


Abbildung 26 Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Primipara/ Pluripara auf Grundlage des Original-Datensatzes.

Tabelle 19 Gültige N des Original-Datensatzes der Primipara- und Pluripara-Gruppe zu den Messzeitpunkten

| Gesamtanzahl | Gültige N zu den Messzeitpunkten (Prozent) | | | | |
|----------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1.Messung | 2.Messung | 3.Messung | 4.Messung | 5.Messung |
| Pluripara (n=326) | 303 (93,0%) | 231 (70,9%) | 297 (91,1%) | 286 (87,7%) | 309 (94,8%) |
| Primipara (n=179) | 169 (94,4%) | 129 (72,0%) | 168 (93,9%) | 162 (90,5%) | 168 (93,9%) |

3.9.9.2 Parität – ergänzter Datensatz

Insgesamt haben 270 Neugeborene Pluripara-Mütter und 152 Primipara-Mütter.

Die Graphen der Bilirubinkonzentration der beiden Gruppen Pluripara und Primipara fallen kontinuierlich vom ersten bis zum fünften Messzeitpunkt ab. Dabei liegt der Graph der Primipara-Gruppe vom ersten bis zum vierten Messzeitpunkt kontinuierlich über dem der Pluripara-Gruppe. Zum fünften Messzeitpunkt gleichen sich die Werte der Bilirubinkonzentration der beiden Graphen an.

Die Gruppen Primi- und Pluripara sind nicht zu jedem Messzeitpunkt normalverteilt, getestet mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests. Die Homogenität der Fehlervarianzen ist nicht für alle Variablen gegeben, getestet mittels Levene-Tests. Die Homogenität der Kovarianzenmatrizen ist nicht gegeben, Box-Test ($p < 0,001$), trotz dieser Verletzung der Voraussetzungen für eine mixed ANOVA werden die Ergebnisse berichtet. Der Mauchly-Test ist signifikant ($p < 0,001$) und das Epsilon nach Greenhouse-Geisser beträgt 0,359, daher wird die Korrektur nach Greenhouse-Geisser verwendet. Es gibt keinen Haupteffekt des Geburtsmodus auf die Bilirubinkonzentration unabhängig von den Messzeitpunkten Greenhouse-Geisser $p=0,087$. Des Weiteren gibt es keinen Interaktionseffekt zwischen Messzeitpunkte und Primipara Greenhouse-Geisser $F(1,44, 603,36) = 0,637$ $p=0,479$. Der paarweise Vergleich, korrigiert nach Bonferroni, weist für die Messzeitpunkte drei und vier signifikante Unterschiede zwischen Primi- und Pluripara auf.

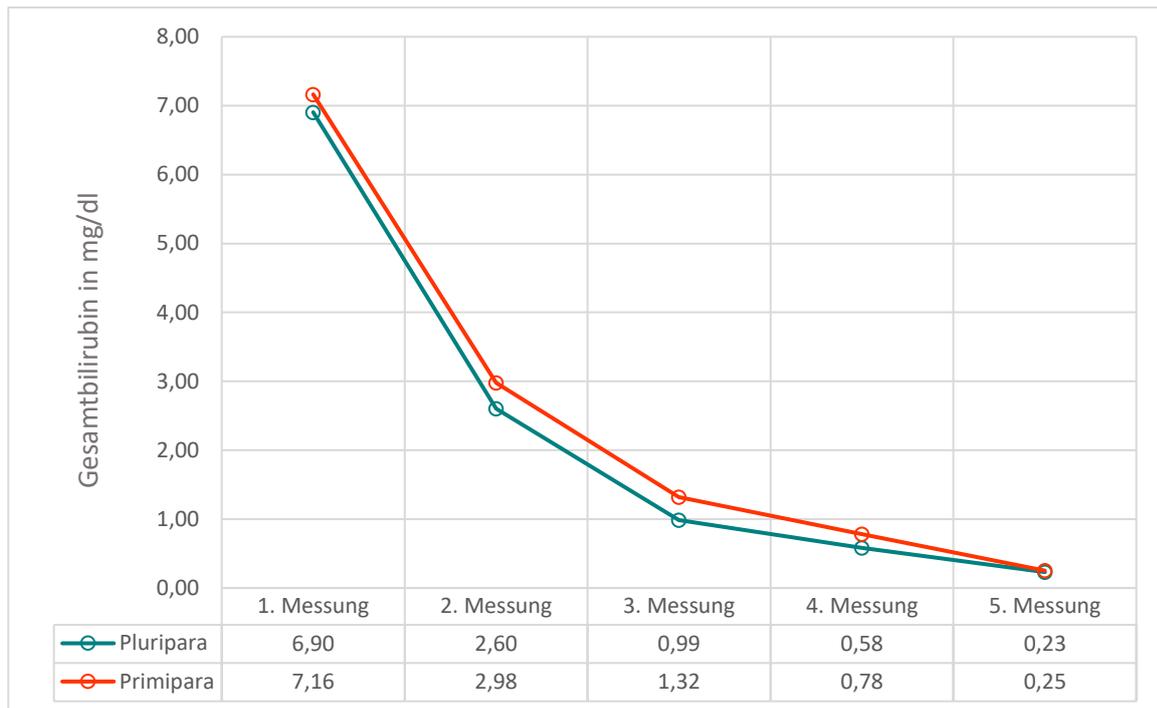


Abbildung 27 Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Primipara/ Pluripara auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes.

3.9.10 Geschlecht

3.9.10.1 Geschlecht – Original-Datensatz

Die genaue Anzahl zu den Messzeitpunkten sowie die Gesamtanzahl der Geschlechter-Gruppen zeigt Tabelle 20. Die Bilirubinkonzentrationen der Jungen sind während der ersten drei Messzeitpunkte höher als die Bilirubinkonzentrationen der Mädchen. Ab dem vierten Messzeitpunkt gleichen sich die Bilirubinkonzentrationen an.

Während des ersten Messzeitpunktes sind die Variablen Jungen und Mädchen normalverteilt, ab dem zweiten Messzeitpunkt sind die Variablen nicht normalverteilt, analysiert mittels Kolmogorov-Smirnov-Test.

Zum ersten Messzeitpunkt sind die Bilirubinkonzentrationen der Jungen (Mittelwert=7,47, SD=3,82, n=254) signifikant höher als die der Mädchen (Mittelwert=6,76, SD=3,89, n=219), $t(471) = -1,990$, $p=0,047$.

Die Unterschiede zwischen den männlichen Neugeborenen (Median 1,7 mg/dl, n=198) und den weiblichen Neugeborenen (1,2 mg/dl, n=163) sind nur bei dem zweiten Messzeitpunkt signifikant unterschiedlich laut Mann-Whitney-U-Test ($U=8.069$, p -Wert=0,016). Zu den weiteren Messzeitpunkten sind die Unterschiede der Bilirubinkonzentrationen nicht signifikant, analysiert mittels Mann-Whitney-U-Test.

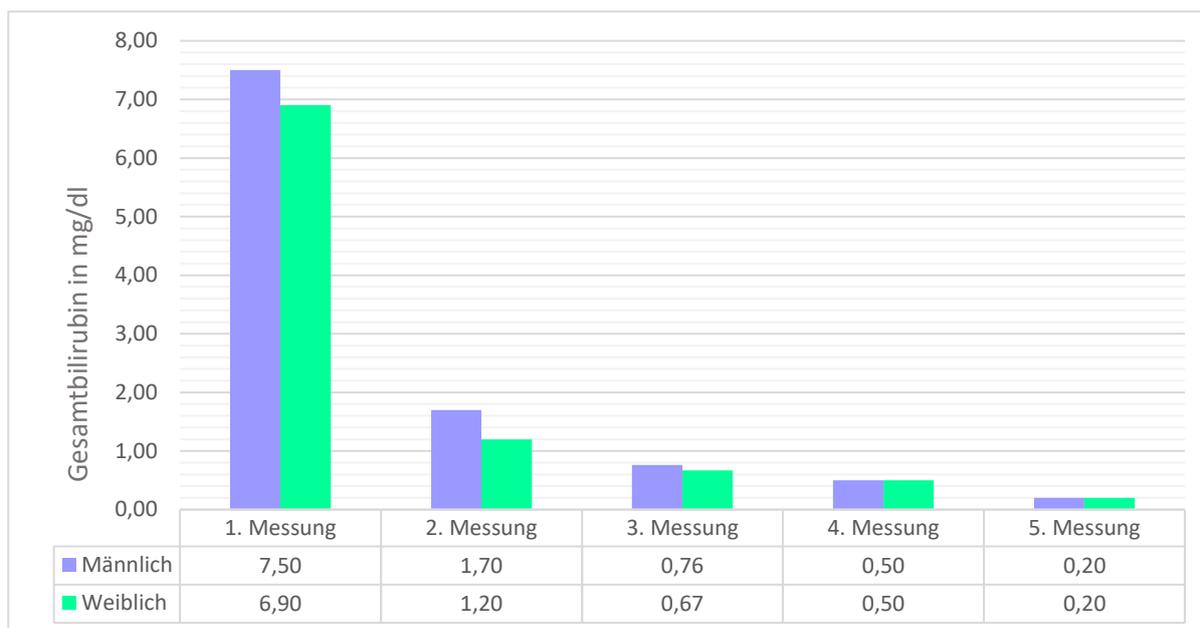


Abbildung 28 Mediane des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Geschlecht des Kindes auf Grundlage des Original-Datensatzes.

Tabelle 20 Gültige N des Original-Datensatzes der Geschlechts-Gruppen zu den Messzeitpunkten

| Geschlecht Gesamtanzahl | Gültige N zu den Messzeitpunkten (Prozent) | | | | |
|----------------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1.Messung | 2.Messung | 3.Messung | 4.Messung | 5.Messung |
| männlich (n=271) | 254 (93,7%) | 198 (73,0%) | 243 (89,7%) | 239 (88,2%) | 259 (95,6%) |
| weiblich (n=235) | 219 (93,2%) | 163 (69,4%) | 223 (94,9%) | 209 (89,0%) | 218 (92,8%) |

3.9.10.2 Geschlecht – ergänzter Datensatz

Insgesamt waren 227 Neugeborene männlich und 195 weiblich.

Die Graphen der beiden Gruppen männlich und weiblich fallen kontinuierlich vom ersten bis zum fünften Messzeitpunkt ab. Nur beim ersten Messzeitpunkt liegen die Werte der Bilirubinkonzentration der Gruppe männlich höher als der Gruppe weiblich. Ab dem zweiten Messzeitpunkt zeigen sich die Unterschiede zwischen den Gruppen nur noch minimal.

Die Gruppen männlich und weiblich sind nicht zu jedem Messzeitpunkt normalverteilt, getestet mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests. Die Homogenität der Fehlervarianzen ist für alle Variablen gegeben, getestet mittels Levene-Tests. Der Box-Test zeigt keine

Homogenität der Kovarianzmatrizen ($p = 0,002$), trotz dieser Verletzung der Voraussetzungen werden die Ergebnisse der mixed ANOVA berichtet. Der Mauchly-Test ist signifikant ($p < 0,001$), das Epsilon nach Greenhouse-Geisser ist 0,360, daher wird die Korrektur nach Greenhouse-Geisser verwendet.

Es gibt weder einen Haupteffekt des Faktors Geschlecht auf die Bilirubinkonzentration unabhängig von der Zeit noch einen Interaktionseffekt zwischen Messzeitpunkt und Geschlecht $F(1,45, 605,02) = 1,492$ $p = 0,227$. Die Bilirubinkonzentrationen der Gruppen männlich und weiblich unterscheiden sich demnach nicht im untersuchten Messzeitraum von drei Monaten.

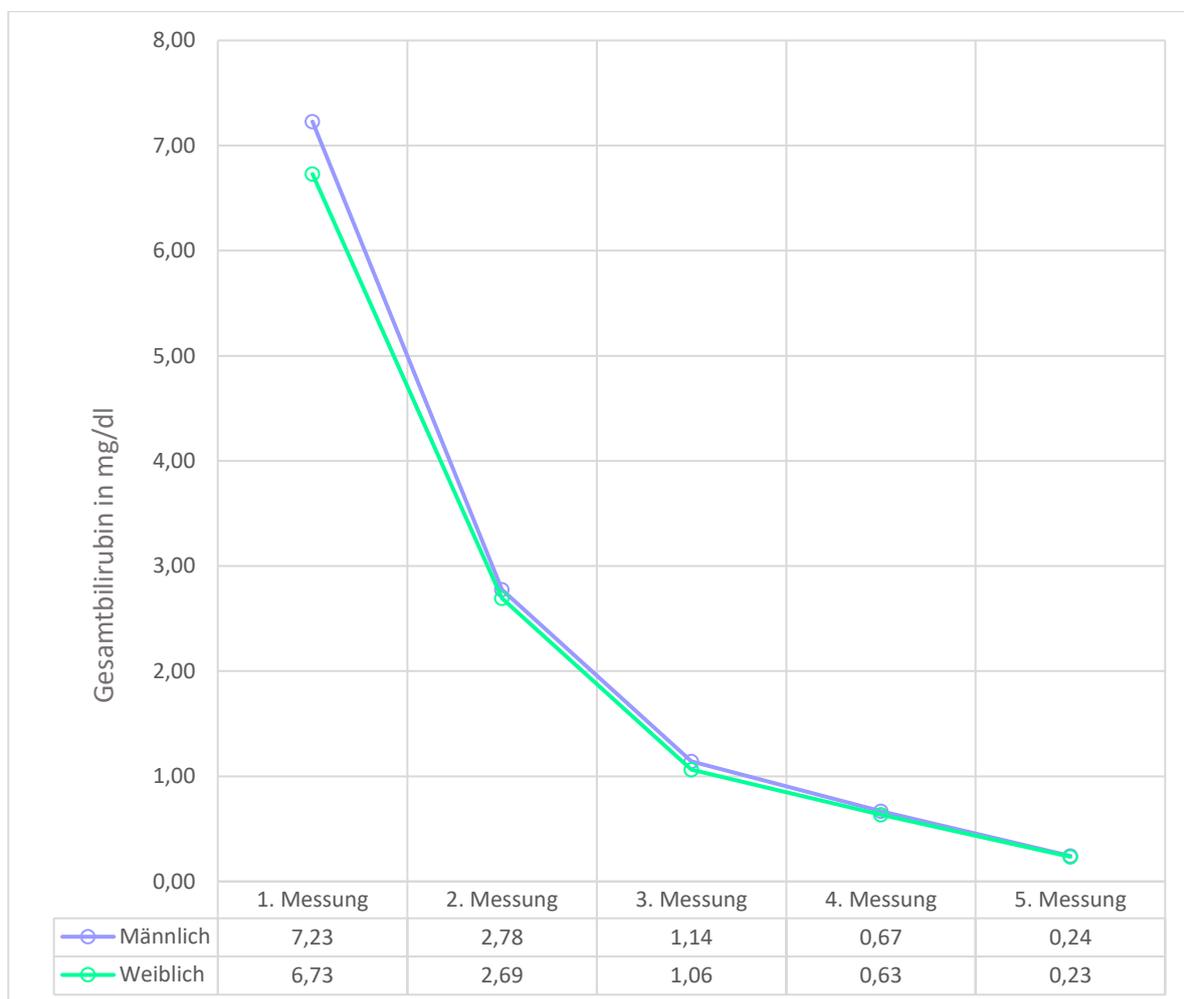


Abbildung 29 Mittelwerte des Gesamtbilirubins zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgeteilt nach Geschlecht des Kindes auf Grundlage des manuell ergänzten Datensatzes.

3.10 Kurzzusammenfassung der Ergebnisse

In der vorliegenden Studie wird erstmals systematisch der Einfluss von antiretroviralen Medikamenten auf den Bilirubinmetabolismus bei intrauterin cART- und HIV-exponierten Neugeborenen und Säuglingen untersucht. Hierbei finden sich bei den ausschließlich nicht gestillten Neugeborenen in den ersten vier Lebenswochen Bilirubinkonzentrationen, die niedriger liegen als im Vergleich zu publizierten Studiendaten von gestillten, aber weder cART- noch HIV-exponierten Neugeborenen (vgl. Abschnitt 3.7).

Dennoch lassen sich in der Studiengruppe signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen cART-Regime-Gruppen bezüglich der Auswirkungen auf die Bilirubinkonzentrationen nachweisen. Die Medikamente bzw. Medikamentengruppen, für die in der Literatur bereits ein Einfluss auf den Bilirubinmetabolismus beschrieben wurde, zeigen auch bei den untersuchten Säuglingen einen Effekt. Die Atazanavir-Gruppe hat in der ersten Lebenswoche signifikant höhere Bilirubinkonzentrationen als die Kontroll-Gruppe ohne Exposition gegenüber einem Medikament mit bekanntem Einfluss auf den Bilirubinmetabolismus. Die INI-Gruppe weist bis einschließlich der sechsten Lebenswoche signifikant höhere Bilirubinkonzentrationen auf als die Kontroll-Gruppe.

Auch wenn ein Effekt nachweisbar ist, so sind die Auswirkungen auf den Bilirubinmetabolismus in dieser Studienpopulation ohne klinische Relevanz. Für weitere in der Schwangerschaft eingesetzte antiretrovirale Medikamente können keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Bilirubinkonzentrationen bei den Medikamenten-exponierten Neugeborenen gezeigt werden.

Nicht medikamentöse Risikofaktoren für eine Hyperbilirubinämie, die in Studien bei nicht HIV- oder cART-exponierten Neugeborenen beschrieben wurden, sind größtenteils auf das vorliegende Studienkollektiv übertragbar, einzige Ausnahmen betreffen den Geburtsmodus und das Regime der postnatalen antiretroviralen Prophylaxe.

Nicht alle nichtmedikamentösen Risikofaktoren sind gleichmäßig auf die drei verschiedenen cART-Regime-Gruppen verteilt. Dies verfälscht jedoch nicht die Hauptergebnisse der vorliegenden Studie, wenn berücksichtigt wird, dass sich in der Kontroll-Gruppe prozentual mehr Kinder befinden, die aufgrund der ungleich verteilten nicht-medikamentösen Risikofaktoren ein höheres Risiko für erhöhte Bilirubinkonzentrationen aufweisen.

4 Diskussion

Kern der vorliegenden Studie ist die Frage, inwieweit Therapien mit INI- und Atazanavir-haltigen cART-Regimen während der Schwangerschaft einen Einfluss auf den Bilirubinmetabolismus der intrauterin exponierten Neugeborenen ausüben.

Eine Vergleichsgruppe zu dem vorliegenden Studienkollektiv aus nicht gestillten Neugeborenen ohne eine cART-Exposition liegt nicht vor. Daher werden in dieser Arbeit als Kontroll-Gruppe Neugeborene herangezogen, die gegenüber einem cART-Regime exponiert sind, das weder INI noch Atazanavir beinhaltet.

Um den Einfluss der unterschiedlichen cART-Regime bestätigen zu können, werden zunächst die Ergebnisse der Analyse des Einflusses von nicht medikamentösen Risikofaktoren auf die Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen erörtert.

Zuerst wird untersucht, inwieweit die nichtmedikamentösen Risikofaktoren, die aus Studien mit größtenteils nicht gestillten und nicht HIV- und cART-exponierten Neugeborenen stammen, übertragbar auf das vorliegende Studienkollektiv sind. Die unterschiedlichen cART-Regime-Vergleichsgruppen sind in Bezug auf die nichtmedikamentösen Risikofaktoren nicht identisch, deshalb wird bei der Analyse der Medikamentenauswirkung die Verteilung der nichtmedikamentösen Risikofaktoren gesondert berücksichtigt.

Anschließend wird die Auswirkung der einzelnen cART-Medikamente diskutiert. Hierzu werden vergleichbare Studien an cART- und HIV-exponierten Neugeborenen mit deutlich kleineren Fallzahlen herangezogen. Diese Vorgehensweise und die hohe Fallzahl der Studienpopulation (n=506) unterstützen die Aussagekraft der Studienergebnisse.

4.1 Vergleich mit Maisels *et al.*

Insgesamt sind die Bilirubinkonzentrationen des Studienkollektivs von Maisels *et al.* höher als die Konzentrationen bei den in der vorliegenden Studie untersuchten Neugeborenen und Säuglingen. Dies erklärt sich am ehesten durch die Tatsache, dass die Daten von Maisels *et al.* von gestillten Neugeborenen erhoben wurden. Inhaltsstoffe der Muttermilch haben einen bekannten Einfluss auf den Bilirubinmetabolismus, sodass Stillen einen Risikofaktor für eine Hyperbilirubinämie darstellt (vgl. Abschnitt 1.10). Der Vergleich mit Maisels *et al.* zeigt, dass die Normwerte von gestillten Kindern nicht auf das vorliegende Studienkollektiv übertragbar sind (40).

Die Bilirubinerhöhungen der vorliegenden Studienpopulation sind in der Regel nicht neurotoxisch oder behandlungsbedürftig, da ab dem 14. Lebenstag die 95. Perzentile der vorliegenden Studienpopulation unterhalb der 75. Perzentile von Maisels *et al.* liegt (40) (vgl. Abbildung 7).

Die unterschiedlichen Maxima der Bilirubinkonzentrationen, die bei Maisels *et al.* an Tag 3 und bei der vorliegenden Studie an Tag 7 ± 3 liegen, könnten durch das unterschiedliche Studienprotokoll (vgl. 3.7) erklärt werden.

Der vierte Messzeitpunkt (7 ± 3 Lebenstage) umfasst den vierten bis zehnten Lebenstag. Da die Daten der vorliegenden Studie auf einem anderen Messprotokoll beruhen als bei Maisels *et al.* und nachträglich den Messzeitpunkten von Maisels *et al.* zugeordnet worden sind, ist anzunehmen, dass das Durchschnittsalter der Probanden der vorliegenden Studie zum vierten Messzeitpunkt niedriger ist als das der Neugeborenen von Maisels *et al.*, da in der vorliegenden Studie für den vierten Messzeitpunkt hauptsächlich Messungen des vierten bis siebten Lebenstages herangezogen werden und bei Maisels *et al.* das Durchschnittsalter vermutlich bei sieben Tagen liegt.

4.2 Vergleich der nichtmedikamentösen Risikofaktoren

Der Bilirubinmetabolismus der cART- und HIV-exponierten Kinder wird nicht nur durch die intrauterine Medikamentenexposition beeinflusst, sondern auch durch weitere Risikofaktoren. Für nicht gestillte, intrauterin cART- und HIV-exponierte Neugeborene existieren keine Studien bezüglich der Risikofaktoren für eine Hyperbilirubinämie, daher werden die Ergebnisse der vorliegenden Studie mit Studien diskutiert und verglichen, die vor allem an gesunden, gestillten, intrauterin nicht cART- oder HIV-exponierten Neugeborenen durchgeführt worden sind.

Chou *et al.* und Keren *et al.* zeigen, dass sowohl Stillen als auch eine kombinierte Ernährung aus Stillen und Formulanahrung ein Risikofaktor für Hyperbilirubinämie des Neugeborenen darstellt (34,42). Darüber hinaus haben die Studien als Outcome neonatale Hyperbilirubinämie definiert als Bilirubinkonzentrationen oberhalb der 95. Perzentile. Die vorliegende Studie untersucht hingegen die Höhe der Bilirubinkonzentrationen im Vergleich zwischen den verschiedenen Risikogruppen (vgl. Tabelle 3) auch mit Bilirubinkonzentrationen unterhalb der 95. Perzentile und auch im definierten Normbereich für gestillte Neugeborene.

4.2.1 Gestationsalter

Die vorliegende Studie zeigt einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Gestationsalter und der Höhe der Bilirubinkonzentrationen bis einschließlich des vierten Messzeitpunktes (\approx 6. Lebenswoche) (vgl. Tabelle 2). Je höher das Gestationsalter der Neugeborenen ist, desto niedriger ist ihre Bilirubinkonzentrationen. Frühgeborene (unter 37+0 SSW) weisen die höchsten Bilirubinkonzentrationen auf und Kinder mit einem Gestationsalter $>40+0$ SSW die niedrigsten Werte. Dies gilt sowohl für die Analyse des Original-Datensatzes als auch für die des ergänzten Datensatzes.

Eine Erklärung für die höheren Bilirubinkonzentrationen bei Frühgeborenen ist unter anderem die verminderte Aktivität von UGT1A1 bei Frühgeborenen und die damit verminderte Abbaufähigkeit von Bilirubin (68).

Diese Ergebnisse decken sich weitestgehend mit den Studien von Norman *et al.*, Chou *et al.* und Newman *et al.*, die in einem frühen Gestationsalter ein erhöhtes Risiko für Hyperbilirubinämien sehen und in einem späten Gestationsalter ein vermindertes Risiko. Lediglich bei Keren *et al.* ist ein Gestationsalter $\geq 40+0$ mit einem erhöhten Risiko verbunden (34,41–43).

In der Zusammenschau der Ergebnisse zeigt sich, dass sowohl bei HIV- und cART-exponierten Neugeborenen als auch bei Neugeborenen ohne ein cART-Exposition ein niedriges Gestationsalter mit einer erhöhten Bilirubinkonzentration korreliert.

4.2.2 Gestationsdiabetes

Aufgrund der kleinen Fallzahl von Müttern mit einem Gestationsdiabetes ($n=19$) ist eine statistische Untersuchung nur eingeschränkt möglich.

Die Bilirubinkonzentrationen der Kinder von Müttern mit einem Gestationsdiabetes sind im Mittel höher als die der Neugeborenen, deren Mütter keinen Gestationsdiabetes haben. Im Original-Datensatz ist in der ersten Lebenswoche der Unterschied zwischen den Gruppen signifikant.

Die Analyse des ergänzten Datensatzes mittels mixed ANOVA zeigt keinen signifikanten Unterschied der Bilirubinkonzentrationen zwischen den beiden Gruppen der Säuglinge von Müttern mit und ohne einem Gestationsdiabetes im Verlauf über drei Monate, obwohl hier ebenfalls die Bilirubinkonzentrationen der Mit-Gestationsdiabetes-Gruppe im Mittelwert höher sind als die der Ohne-Gestationsdiabetes-Gruppe.

Die unterschiedlichen Ergebnisse der beiden Datensätze könnten ursächlich in den unterschiedlichen statistischen Analysemethoden begründet liegen. Die Analyse des Original-Datensatzes findet für jeden Zeitpunkt einzeln statt. Beim ergänzten Datensatz liegt der Schwerpunkt der Analyse auf dem Verlauf der Bilirubinkonzentration über drei Monate. Da nur der erste Messzeitpunkt im Original-Datensatz einen signifikanten Unterschied aufweist, könnte dieser Effekt bei der Analyse über den Verlauf von drei Monaten im ergänzten Datensatz nicht stark genug sein, um ein statistisch signifikantes Ergebnis zu liefern. Des Weiteren sind vier der insgesamt 19 Neugeborenen von Gestationsdiabetikerinnen nicht im ergänzten Datensatz berücksichtigt (vgl. 2.8). Bei der bereits kleinen Fallzahl könnte dies eine weitere Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse sein.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie stimmen - trotz der geringen Fallzahl - mit den Studien von Keren *et al.* und Norman *et al.* überein, die ein Gestationsdiabetes ebenfalls als Risikofaktor für Hyperbilirubinämie anführen (41,42). Mögliche Erklärungen für die höheren Bilirubinkonzentrationen bei den Neugeborenen von Gestationsdiabetikerinnen könnten die gemeinsamen Begleitrisikofaktoren wie zum Beispiel höheres Geburtsgewicht und höheres Alter der Mutter sein (69).

4.2.3 Postnatale Prophylaxe

Die Auswertung des Original-Datensatzes weist für die 10 Tage-AZT-i.v.-Gruppe signifikant höhere Bilirubinkonzentrationen zum Zeitpunkt der zweiten (\approx 2. Lebenswoche), dritten (\approx 4. Lebenswoche) und vierten Messung (\approx 6.Lebenswoche) nach als für die oralen AZT Therapieregime. Die Analyse des ergänzten Datensatzes zeigt keine signifikanten Unterschiede der Bilirubinkonzentrationen zwischen den verschiedenen postnatalen Therapieregimen, obwohl hier ebenfalls die 10 Tage AZT i.v.-Gruppe bis einschließlich des fünften Messzeitpunktes (\approx 3. Lebensmonat) die höchsten Bilirubinkonzentrationen im Durchschnitt aufweist.

Gründe für die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen Original- und ergänztem Datensatz könnten darin begründet liegen, dass prozentual zwar gleich viele Kinder in der AZT i.v.-Gruppe sind, jedoch in der Analyse des ergänzten Datensatzes nur 22 der insgesamt 29 Kinder aus dem Original-Datensatz berücksichtigt werden.

Eine mögliche Ursache für die höheren Bilirubinkonzentrationen bei der 10 Tage AZT i. v.-Gruppe könnte an dem niedrigeren Gestationsalter im Vergleich zu den anderen postnatalen Prophylaxe Gruppen liegen (vgl. Tabelle 12). Grund hierfür ist der lange

Rekrutierungszeitraum der vorliegenden Studie, in der sich die Empfehlungen bezüglich der postnatalen Prophylaxe und des Entbindungsmodus von der vorzeitigen primären Kaiserschnittentbindung zu der vaginalen Spontanentbindung geändert haben (vgl. Abschnitt 4.2.8).

4.2.4 Ethnizität

Neugeborene mit kaukasischer Ethnizität haben in der vorliegenden Studie signifikant höhere Bilirubinkonzentrationen als Neugeborene mit afrikanischer oder mixed Ethnizität. Diese Unterschiede sind bis zu sechs Wochen postnatal signifikant. Dies gilt sowohl für die Analyse des Original-Datensatzes als auch für die Analyse des ergänzten Datensatzes.

Die Ergebnisse in der vorliegenden Studie bezüglich der niedrigeren Bilirubinkonzentrationen bei Neugeborenen afrikanischer oder mixed Ethnizität im Vergleich zu denen mit kaukasischer Herkunft decken sich mit den Aussagen von Chou *et al.* und Newman *et al.* Sie zeigen, dass Neugeborene von Müttern mit afrikanischer Ethnizität ein vermindertes Risiko für eine Hyperbilirubinämie haben (34,43). Dagegen kann Keren *et al.* keinen signifikanten Einfluss der mütterlichen Ethnizität auf erhöhte kindliche Bilirubinkonzentrationen nachweisen (42). Keine der Studien untersucht mixed Neugeborene, es wird lediglich die Ethnizität der Mutter erfasst (34,42,43).

Die unterschiedliche Prädisposition zwischen den Ethnizitäten für neonatale Hyperbilirubinämie ist unter anderem durch die Polymorphismen des *UGT1A1*-Gens zu erklären und der damit verbundenen unterschiedlichen Aktivität der *UGT1A1*. So ist zum Beispiel der *UGT1A1*28* Genotyp, der einer der Gründe für das Gilbert-Meulengracht-Syndrom ist, in der kaukasischen Population mit 11-16% relativ häufig (29). Dementsprechend zeigen große Populationsstudien, dass afrikanische Neugeborene niedrigere Bilirubinkonzentrationen aufweisen als kaukasische Neugeborene (70). Zwar wird in der vorliegenden Studie der Genotyp der *UGT1A1* nicht untersucht, auf Grund der Ergebnisse vorangegangener Studien ist jedoch anzunehmen, dass die Unterschiede in der Bilirubinkonzentration zwischen den verschiedenen Ethnizitäten zumindest zum Teil auf Polymorphismen des *UGT1A1*-Gens zurückzuführen sind. Darüber hinaus sind weitere Polymorphismen der am Bilirubinmetabolismus beteiligten Enzyme und Transporter möglich. Die Aktivität der *UGT1A1* stellt nur einen von zahlreichen Mechanismen dar, der den Bilirubinmetabolismus von Neugeborenen beeinflussen kann (29).

4.2.5 APGAR 5

Die beiden Gruppen von Neugeborenen mit einem hohen APGAR 5 (9-10) und einem niedrigen APGAR 5 (5-8) unterscheiden sich nur bei der Analyse des Original-Datensatzes zum Zeitpunkt der zweiten Messung (\approx 2. Lebenswoche) signifikant voneinander. Die Neugeborenen der Gruppe mit einem niedrigen APGAR 5 weisen höhere Bilirubinkonzentrationen auf als die der Gruppe mit einem höheren APGAR 5. Bei der Analyse des ergänzten Datensatzes kann aber kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen gezeigt werden.

Eine mögliche Erklärung für die signifikanten Unterschiede bei der Analyse des Original-Datensatzes könnte im Zusammenhang mit der Frühgeburtlichkeit stehen und der damit assoziierten Unreife, dem niedrigen Geburtsgewicht und dem wiederum damit verbundenen Risiko für einen niedrigen APGAR 5 sein.

Die Analyse des vorliegenden Patientenkollektivs weist auch ein signifikant niedrigeres Gestationsalter für die Gruppe mit dem niedrigen APGAR 5 im Vergleich zu der mit dem hohen APGAR 5 nach. Da ein niedrigeres Gestationsalter mit höheren Bilirubinkonzentrationen assoziiert ist (vgl. Abschnitt 4.2.1), könnte dies eine mögliche Erklärung für die höheren Bilirubinkonzentrationen in der Gruppe mit einem niedrigeren APGAR 5 sein.

Die Studienlage zu diesem Thema stellt sich widersprüchlich dar. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe des APGAR 5 und Bilirubinkonzentrationen ist bisher nicht in der Literatur beschrieben. Für ein niedriges Geburtsgewicht („Small-for-gestational-age“), das eher mit Unreife und niedrigen APGAR 5 Werten assoziiert ist, beschreiben Norman *et al.* ein erhöhtes Risiko und Keren *et al.* dagegen ein niedrigeres Risiko für erhöhte Bilirubinkonzentrationen (41,42).

4.2.6 Alter der Mutter

Die vorliegende Studie weist keinen Zusammenhang zwischen dem Alter der Mutter bei Geburt und der Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen nach im Gegensatz zu den Studien von Norman *et al.*, Chou *et al.* und Newman *et al.*, die alle ein erhöhtes Risiko für Neugeborene von älteren Müttern nachweisen. Jedoch beschreiben die Studien die Effektgröße als sehr klein und als klinisch irrelevant (34,41,43).

In der vorliegenden Studie ist die Fallzahl mit $n=506$ deutlich kleiner als in den Studien von Norman *et al.* ($n=1.261.948$), Newman *et al.* ($n=51.387$) und Chou *et al.* ($n=5.507$).

Ein statistisch schwacher Effekt ist bei kleiner Fallzahl möglicherweise nicht nachweisbar, obwohl das Durchschnittsalter der Mütter in den Studien Norman *et al.*, Chou *et al.* und Newman *et al.* sich nicht von der vorliegenden Studie unterscheidet (34,41,43).

4.2.7 Neonataler Drogenentzug

Weder die Analyse des Original-Datensatzes noch die Analyse des ergänzten Datensatzes zeigt einen Zusammenhang zwischen neonatalem Drogenentzug und der Höhe der Bilirubinkonzentration auf. Beim ersten Messzeitpunkt (\approx 1. Lebenswoche) sind die Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen mit neonatalem Drogenentzug niedriger als die der Neugeborenen ohne neonatalen Drogenentzug. Für den zweiten (\approx 2. Lebenswoche), dritten (\approx 4. Lebenswoche) und vierten Messzeitpunkt (\approx 6. Lebenswoche) verhält es sich umgekehrt. Zum fünften Messzeitpunkt sind die Bilirubinkonzentrationen annähernd gleich. Insgesamt ist die Gruppe der Neugeborenen mit einem neonatalen Drogenentzug ($n=10$) sehr klein. Eine mögliche Erklärung für die geringe Anzahl könnte sein, dass Drogenabusus während der Schwangerschaft häufig mit diversen Ausschlusskriterien, wie z.B. Non-Adhärenz, verbunden ist.

4.2.8 Geburtsmodus

In der vorliegenden Studie ist die Geburt via Kaiserschnitt im Vergleich zu einer vaginalen Entbindung mit einer erhöhten Bilirubinkonzentration verbunden. Der Unterschied ist bis zur sechsten Lebenswoche signifikant. Dies gilt sowohl für die Analyse des Original-Datensatzes als auch für die Analyse des ergänzten Datensatzes.

Norman *et al.* und Keren *et al.* sehen eine Kaiserschnittentbindung jedoch mit einem verminderten Risiko für erhöhte Bilirubinkonzentrationen assoziiert (41,42).

Das niedrigere Gestationsalter der Kaiserschnitt-Gruppe in der vorliegenden Studie könnte für diese widersprüchlichen Ergebnisse verantwortlich sein. Bei Norman *et al.* sind nur Neugeborenen mit einem Gestationsalter $> 37+0$ SSW eingeschlossen und bei Keren *et al.* zwar 20% Frühgeborene mit einem Gestationsalter $< 37+0$, die genaue Verteilung auf die verschiedenen Entbindungsgruppen sind jedoch nicht veröffentlicht worden (41,42).

Das unterschiedliche Gestationsalter zwischen der Kaiserschnitt- und Kein-Kaiserschnitt-Gruppe in der vorliegenden Studie kann dem langen Rekrutierungszeitraum von elf Jahren geschuldet sein. Frühere Leitlinien empfahlen für HIV-infizierte Schwan-

gere einen geplanten Kaiserschnitt ab 37+0 SSW, um das Transmissionsrisiko so gering wie möglich zu halten. Erst in späteren Leitlinien änderte sich die Vorgehensweise, weil es durch die bessere medikamentöse Suppression der Virusreplikation HIV-infizierten Schwangeren ermöglicht werden konnte vaginal zu entbinden. Die Studie von Warszawski et al. 2008 zeigt, dass nicht der elektive Kaiserschnitt sondern eine niedrige Viruslast entscheidend ist, um eine Mutter-Kind-Transmission zu verhindern (71). Durch die spontane Entbindung steigt das Gestationsalter an.

4.2.9 Parität

Die Neugeborenen und Säuglinge der Erstgebärenden haben in der vorliegenden Studie erhöhte Bilirubinkonzentrationen im Vergleich zu den Kindern der Pluripara. Allerdings ist der Unterschied nur zum Zeitpunkt der dritten und vierten Messung signifikant. Wesentliche Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht zu erkennen. Dies gilt sowohl für die Analyse des Original-Datensatzes als auch für den ergänzten Datensatz.

Auch Norman *et al.* können für die Gruppe der Primipara ein erhöhtes Risiko für Hyperbilirubinämie zeigen, jedoch beschreiben sie Primipara als ein Risikofaktor mit großem Effekt (41).

4.2.10 Geschlecht

Die vorliegende Studie zeigt, dass männliche Neugeborene im Vergleich zu weiblichen Neugeborenen bis zum Alter von 28 Tagen höhere Bilirubinkonzentrationen aufweisen. Die Unterschiede sind jedoch nur im Original-Datensatz zum zweiten Messzeitpunkt statistisch signifikant. Im ergänzten Datensatz kann kein signifikanter Unterschied gezeigt werden. Norman *et al.*, Chou *et al.* und Newman *et al.* beschreiben für männliche Neugeborene ebenfalls ein erhöhtes Risiko neonataler Hyperbilirubinämie. Der Zusammenhang zwischen männlichem Geschlecht und erhöhten Bilirubinkonzentrationen ist jedoch nur schwach. Daher besteht die Möglichkeit, dass die vorliegende Studie aufgrund der kleineren Fallzahl keinen signifikanten Zusammenhang zeigt, im Gegensatz zu den Studien von Norman *et al.*, Chou *et al.* und Newman *et al.* mit wesentlich größeren Fallzahlen (vgl. Abschnitt 4.2.6, (34,41,43)).

Der genaue Mechanismus, der für die höheren Bilirubinkonzentrationen bei Jungen im Vergleich zu Mädchen verantwortlich ist, bleibt unklar. Auch vorangegangene Studien klären diesen Zusammenhang nicht abschließend (29).

4.2.11 Abschließende Beurteilung der Risikofaktoren für Hyperbilirubinämie bei exponierten und nicht exponierten Neugeborenen

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Risikofaktoren von Studienpopulationen mit mehrheitlich gesunden, gestillten und nicht intrauterin cART- und HIV-exponierten Neugeborenen, auf die Neugeborenen der vorliegenden Studie übertragbar sind. Dies bezieht sich auf Faktoren, wie Gestationsalter bei Geburt, Gestationsdiabetes, Ethnizität, Parität und das Geschlecht des Kindes.

Der Geburtsmodus beeinflusst ebenfalls die Höhe der Bilirubinkonzentration. Allerdings widersprechen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit den Resultaten der Studien an mehrheitlich gesunden und nicht intrauterin cART- und HIV-exponierten Neugeborenen, hervorgerufen durch das jüngeren Gestationsalter in der Kaiserschnitt-Gruppe in der vorliegenden Studie (vgl. Abschnitt 4.2.8).

Die vorliegende Studie zeigt keinen Zusammenhang zwischen dem Alter der Mutter bei der Geburt und der Bilirubinkonzentration der Neugeborenen. Dies steht im Gegensatz zu Studien an mehrheitlich gesunden Neugeborenen, in denen das Alter der Mutter allerdings auch nur als schwacher Risikofaktor für neonatale Hyperbilirubinämie gewertet wird (34,41–43). Darüber hinaus untersucht die vorliegende Studie die Höhe der Bilirubinkonzentrationen und nicht nur pathologisch erhöhte Bilirubinkonzentrationen im Sinne einer Hyperbilirubinämie. Dies könnte die widersprüchlichen Ergebnisse der vorliegenden Studie im Vergleich zu den Studien an intrauterin nicht cART- oder HIV-exponierten Neugeborenen erklären.

4.2.12 Verteilung der Risikofaktoren auf die unterschiedlichen Medikamentengruppen

Lediglich drei der untersuchten Risikofaktoren - Gestationsdiabetes, Kaiserschnittentbindung und postnatale Prophylaxe - unterscheiden sich signifikant in ihrer Verteilung auf die untersuchten Medikamentengruppen Atazanavir, INI und Kontrolle.

Für die postnatale Prophylaxe kann bei der zweiten (\approx 2. Lebenswoche), dritten (\approx 4. Lebenswoche) und vierten Messung (\approx 6. Lebenswoche) nachgewiesen werden, dass die Bilirubinkonzentration der Neugeborenen und Säuglinge mit postnataler Expositionsprophylaxe mittels 10-tägiger intravenöser AZT-Gabe höher sind, als die Bilirubinkonzentration der Neugeborenen und Säuglinge, die eine 14-tägige orale AZT-Gabe als postnatales Prophylaxeregime erhalten haben.

Der prozentuale Anteil von Neugeborenen, die 10 Tage AZT i.v. als postnatales Prophylaxeregime erhalten haben, unterscheiden sich zwischen den einzelnen Gruppen deutlich, so weisen die INI-Gruppe mit 0,0% und die Atazanavir-Gruppe mit 0,8% einen wesentlich geringeren Anteil im Vergleich zur Kontroll-Gruppe mit 7,9% auf. Die Neugeborenen und Säuglinge mit einer intrauterinen INI- oder Atazanavir-Exposition haben trotz der ungleichen Verteilung dieses Risikofaktors signifikant höhere Bilirubin-konzentrationen.

Der Risikofaktor mütterlicher Gestationsdiabetes ist zwar unterschiedlich zwischen den Medikamentengruppen verteilt ($p=0,05$), jedoch aufgrund der kleinen Fallzahl nur eingeschränkt beurteilbar ($n=19$). Dies könnte zu einer leichten Verfälschung der Ergebnisse führen, da prozentual mehr Gestationsdiabetesfälle in der INI- (9,4%) und Atazanavir-Gruppe (7,5%) im Vergleich zur Kontroll-Gruppe (2%) vorhanden sind. Die Gestationsdiabetes-Gruppe weist beim ersten Messzeitpunkt signifikant höhere Bilirubin-konzentrationen auf als die Nicht-Gestationsdiabetes-Gruppe. Dies stimmt mit anderen Studien überein, die Gestationsdiabetes ebenfalls als Risikofaktor für eine Hyperbilirubinämie ansehen (41,42).

Umgekehrt verhält es sich mit dem Risikofaktor einer Entbindung durch einen Kaiserschnitt. Dieser ist in der vorliegenden Studie im Vergleich zur vaginalen Entbindung im gesamten Beobachtungszeitraum von drei Monaten mit signifikant höheren Bilirubin-konzentrationen assoziiert. Dieser Effekt muss jedoch nicht zwingend an dem Kaiserschnitt an sich liegen, sondern kann auch, wie in der vorliegenden Studie gezeigt wird, verbundenen sein mit einem niedrigerem Gestationsalter, das ebenfalls als Risikofaktor für eine Hyperbilirubinämie anzusehen ist (vgl. Abschnitt 4.2.8). Obwohl der prozentuale Anteil der Neugeborenen, die per Kaiserschnitt geboren worden sind, in der Kontroll-Gruppe mit 72% am höchsten im Vergleich zu der INI-Gruppe (50%) und Atazanavir-Gruppe (63,3%) ist, weisen die Neugeborenen und Säuglinge der INI- und Atazanavir-Gruppe höhere Bilirubin-konzentrationen im Vergleich zur Kontroll-Gruppe auf (vgl. 4.2.8).

Insgesamt sind die meisten Risiko-/Einflussfaktoren auf die untersuchten Medikamentengruppen gleichmäßig verteilt. Eine Verfälschung der Ergebnisse der Studie durch ungleich verteilte Risiko-/Einflussfaktoren ist nicht zu erwarten, mit Ausnahme des Gestationsdiabetes – der aufgrund der kleinen Fallzahl auch nur eingeschränkt beurteilbar ist - unterstützen sie sogar die Ergebnisse dieser Studie, da bei einer Gleichverteilung der Risikofaktoren Kaiserschnitt und postnatale Prophylaxe eventuell sogar noch

stärkere Unterschiede zwischen Atazanavir- und INI-Gruppe zur Kontroll-Gruppe zu erwarten wären.

4.3 Integrase-Inhibitoren

In der vorliegenden Arbeit sind nur vier Kinder eingeschlossen, deren Mütter eine Dolutegravir-haltige cART eingenommen haben. Diese Kinder werden aufgrund der kleinen Fallzahl nicht einzeln untersucht, sondern zusammen mit der Gruppe von Raltegravir-exponierten Kindern (n=29) untersucht.

Für diese INI-Gruppe kann bei der Analyse des ergänzten Datensatzes gezeigt werden, dass die Bilirubinkonzentrationen bis einschließlich der sechsten Lebenswoche signifikant höher liegen als die der Kontroll-Gruppe. Zum Zeitpunkt der dritten und vierten Messung ist die Bilirubinkonzentration der INI-Gruppe auch signifikant höher als die der Atazanavir-Gruppe, deren Bilirubinkonzentrationen ab der dritten Messung in etwa der Kontroll-Gruppe entspricht.

Die Analyse des Original-Datensatzes ergibt nur für die Messung in der ersten Lebenswoche für die INI-Gruppe signifikant höhere Bilirubinkonzentrationen im Vergleich zur Kontroll-Gruppe. Zu den anderen Messzeitpunkten liegt die Bilirubinkonzentration der INI-Gruppe im Mittel durchgehend höher als die Bilirubinkonzentrationen der Kontroll-Gruppe, allerdings sind diese Unterschiede nicht signifikant.

Die Ergebnisse der Analyse des ergänzten Datensatzes zeigen, dass die INI-haltigen cART-Regime während der Schwangerschaft längerfristige Auswirkungen haben im Vergleich zur cART mit dem PI Atazanavir. Da dieser langfristige Verlauf bei der Analyse des Original-Datensatzes nicht statistisch belegt werden kann, sollten die Ergebnisse mittels eines größeren Datenkollektivs weiter erforscht werden.

Diese Ergebnisse lassen den Rückschluss zu, dass es einen Zusammenhang zwischen der intrauterinen Dolutegravir- und Raltegravir-Exposition und den erhöhten Bilirubinkonzentrationen nach der Geburt gibt. Diesen möglichen Zusammenhang in Bezug auf Dolutegravir beschreiben auch Pain *et al.* und Schalkwijk *et al.* anhand von zwei Fallbeispielen und Clarke *et al.* für Raltegravir (17,18,47) .

Pain *et al.* berichten von einem Frühgeborenen von 35+2 SSW, dessen Mutter die letzten zwei Wochen vor Entbindung Dolutegravir und Atazanavir zur Therapie der HIV-Infektion erhalten hat. Es wird gezeigt, dass die Konzentrationen von Atazanavir im Neugeborenenblut nicht höher sind als im mütterlichen Blut und ab dem 3. Lebens- tag nicht mehr nachweisbar sind (Nachweisgrenze 10 ng/ml). Dolutegravir hingegen

ist im Neugeborenenblut bis zum 18. Lebenstag nachweisbar (Nachweisgrenze 10 ng/ml), die Halbwertszeit liegt bei 40 Stunden. Das Frühgeborene erhielt aufgrund einer behandlungspflichtigen Hyperbilirubinämie vom vierten bis zum neunten Lebenstag eine Fototherapie, die maximale Bilirubinkonzentration war am fünften Lebenstag 10,2 mg/dl (17).

Schalkwijk *et al.* berichten von einem Reifgeborenen, das mittels Kaiserschnitts entbunden wurde und dessen Mutter während der gesamten Schwangerschaft eine Dolutegravir-haltige cART erhielt. Im Nabelschnurblut konnte eine 1,25-fach erhöhte Dolutegravirkonzentration im Vergleich zum mütterlichen Blut gemessen werden, was auf eine gute Plazentagängigkeit hinweist. Zudem war die Halbwertszeit von Dolutegravir bei dem Neugeborenen um das 5-fache verlängert. Der Säugling wies in den ersten sechs Lebenswochen leichte Bilirubinerhöhungen mit einem Ikterus auf. Bei beiden Fallbeispielen konnten erhöhte Dolutegravir- und Bilirubinkonzentrationen beim Neugeborenen nachgewiesen werden (47).

Die Publikationen von Pain *et al.* und Schalkwijk *et al.* zeigen, dass Dolutegravir gut plazentagängig ist und offenbar bei Neugeborenen im Vergleich zu Erwachsenen länger persistierende erhöhte Konzentrationen mit langsamerer Elimination aufweisen kann (17,47). Auch wenn die vorliegende Studie bei den Neugeborenen keine Medikamentenspiegel untersucht, ist anzunehmen, dass die Neugeborenen auch intrauterin in erhöhtem Maße gegenüber Dolutegravir exponiert sind und vermutlich ebenfalls postnatal persistierende Dolutegravir-Spiegel im Blut aufweisen, weil der Abbau von Dolutegravir vermindert ist, bedingt durch eine Funktionsminderung der UGT1A1 hervorgerufen durch die Unreife des Enzyms.

Ein Zusammenhang zwischen dem Bilirubinmetabolismus und Dolutegravir ist nicht auszuschließen, wird berücksichtigt, dass das Gesamtbilirubin und Dolutegravir einen gemeinsamen Eliminationsweg über die UGT1A1 haben und über diesen Weg Dolutegravir den Abbau von Bilirubin hemmen kann. Dies wäre eine mögliche Erklärung für die länger persistierenden erhöhten Bilirubinkonzentrationen in der INI-Gruppe.

Die kleine Anzahl von Neugeborenen (n=4) mit intrauteriner Dolutegravir-Exposition und die Tatsache, dass Raltegravir- und Dolutegravir-exponierte Kinder zusammengefasst als INI-Gruppe untersucht werden, schränkt die Aussagekraft dieser Studie ein. Zur Untermauerung der Hypothese sollten Studien mit größeren Fallzahlen und Medikamentenkonzentrationsmessungen im Neugeborenenblut erfolgen.

Aktuell liegen noch keine weiteren Studien vor, die einen Langzeitverlauf bis zum dritten Lebensmonat der Bilirubinkonzentrationen von INI-exponierten nicht HIV-infizierten Neugeborenen untersucht haben.

Raltegravir ist in der vorliegenden Arbeit mit n=29 der Hauptvertreter in der INI-Gruppe. Auch für diesen INI können bereits vereinzelt erhöhte Bilirubinkonzentrationen nach intrauteriner Exposition gezeigt werden.

Clarke *et al.* untersuchen in ihrer Studie die Auswirkungen von intrauteriner Raltegravir-Exposition bei reifen Neugeborenen an 19 Mutter-Kind-Paaren. Der Beobachtungszeitraum bezieht sich auf die ersten zwei Wochen nach Entbindung (18). Sie zeigen eine erhöhte Raltegravir-Konzentration im Nabelschnurblut der Neugeborenen, die Raltegravir Placenta-Transfer Ratio liegt im Durchschnitt bei 1,48 (0,32-4,33). Die Raltegravir-Eliminationszeit ist sehr variabel und bei einigen Neugeborenen extrem verlangsamt ($t_{1/2}$ 26,6 Std. (Minimum 9,3 Std., Maximum 184 Std.)). Die Studie berichtet, dass die verlängerten Abbauzeiten der Raltegravir-Konzentration höchstwahrscheinlich durch die niedrige Enzymaktivität der UGT1A1 und den enterohepatischen Kreislauf hervorgerufen werden. Diese Hypothese können sie jedoch nicht durch einen signifikanten Zusammenhang belegen. Aufgrund der teilweise hohen Raltegravir-Konzentrationen erachten sie ein erhöhtes Risiko für neurotoxische Hyperbilirubinämien für möglich, vor allem bei Frühgeborenen mit weiteren Risikofaktoren. Da in der Studie nur Neugeborene ohne weitere Risikofaktoren für eine Hyperbilirubinämie eingeschlossen sind, können die Autoren diese Hypothese nicht weiter untersuchen (18).

In der vorliegenden Studie werden zwar keine neurotoxischen Bilirubinerhöhungen gemessen, es können aber signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Medikamentengruppen gezeigt werden.

Vor allem die verlängerten Eliminationszeiten für Raltegravir und die Tatsache, dass sowohl Raltegravir als auch Bilirubin durch die UGT1A1 abgebaut werden und zudem beide an Albumin binden (18), sind mögliche Erklärungsansätze für die langanhaltenden Unterschiede zwischen der Raltegravir- und der Kontroll-Gruppe in der vorliegenden Studie.

Diese Arbeit untersucht erstmals die Auswirkungen einer intrauterinen Exposition einer cART mit und ohne INIs auf den Bilirubinspiegel der Neugeborenen bzw. Säuglinge über einen Zeitraum von drei Monaten nach der Entbindung.

Es kann ein signifikanter Unterschied der Bilirubinkonzentration zwischen den beiden Gruppen bei der ersten Messung und bei der Analyse des ergänzten Datensatzes auch im Verlauf der ersten sechs Lebenswochen gezeigt werden.

Im Unterschied zu Clarke *et al.* können die Bilirubinkonzentrationen, der intrauterin Raltegravir-exponierten Neugeborenen mit den Bilirubinkonzentrationen einer Vergleichsgruppe, die ebenfalls gegenüber antiretroviralen Medikamenten exponiert sind und ein ähnliches Risikoprofil aufweisen, verglichen werden. Die Hypothese, dass die erhöhten Bilirubinkonzentrationen durch die intrauterine Raltegravir-Exposition hervorgerufen werden, kann durch den Vergleich mit einer Kontroll-Gruppe mit ähnlichem Risikoprofil und dem Nachweis signifikanter Unterschiede der Bilirubinkonzentrationen gestützt werden.

Die bis zur sechsten Lebenswoche persistierenden höheren Bilirubinkonzentrationen bei Kindern der INI-Gruppe im Vergleich zu der Kontroll-Gruppe sind vermutlich durch die hohen Plazentatransferraten von Raltegravir zu erklären (vgl. Abschnitt.1.12.1.1). Die Raltegravirkonzentration ist bei den Neugeborenen bis zu 15-fach höher als im mütterlichen Blut (19). Die Ergebnisse lassen vermuten, dass der vollständige Abbau von Raltegravir im Neugeborenen mehrere Wochen benötigt und somit in diesem Zeitraum die UDP-Glukuronyltransferase gehemmt wird.

Gerade im Hinblick auf den in Zukunft zu erwartenden häufigeren Einsatz von Raltegravir auch in der Schwangerschaft aufgrund der neuen nationalen und internationalen Leitlinien, die INIs als bevorzugte Substanz für das initiale cART-Regime empfehlen, sind weitere Studien mit größeren Teilnehmerzahlen sinnvoll, um diese möglichen Zusammenhänge weiter zu untersuchen.

4.4 Protease-Inhibitor Atazanavir

In der vorliegenden Studie können sowohl für die Analyse des Original- als auch für den ergänzten Datensatz signifikante Unterschiede zwischen der Atazanavir- und der Kontroll-Gruppe innerhalb der ersten Lebenswoche gezeigt werden. Der Median der Bilirubinkonzentration der Atazanavir-Gruppe liegt deutlich über dem der Kontroll-Gruppe. In der zweiten Lebenswoche sind die Bilirubinkonzentrationen der Atazanavir-Gruppe weiterhin höher als die der Kontroll-Gruppe, allerdings ist dieser Unterschied statistisch nicht signifikant. Ab der dritten Messung (\approx 4. Lebenswoche) gleichen sich die Mediane der beiden Gruppen an.

Im Gegensatz zu Raltegravir und Dolutegravir liegen für Atazanavir eine Reihe von Studien vor (vgl. 1.12.1.4), die unter anderem auch die Auswirkungen einer intrauterinen Atazanavir-Exposition auf den kindlichen Bilirubinmetabolismus untersucht haben. Die Ergebnisse dieser Studien widersprechen zum Teil den hier vorliegenden Ergebnissen, liefern jedoch auch Erklärungsansätze für die Unterschiede der Bilirubinkonzentrationen zwischen den Gruppen Atazanavir- und Kontroll-Gruppe. Im Gegensatz zu der vorliegenden Studie untersucht keine der vorangegangenen Studien die Bilirubinkonzentrationen einer Vergleichsgruppe mit ebenfalls intrauterin cART-exponierten Kindern, sondern nehmen als Maßstab die Normwerte gesunder nicht cART-exponierter Neugeborener. Da jedoch bei HIV-infizierten Schwangeren nicht die Option besteht, während der Schwangerschaft auf antiretrovirale Medikamente zu verzichten und somit immer eine Medikamentenexposition des Kindes in Kauf genommen werden muss, ist es von besonderem Interesse, wie sich die Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen unter den verschiedenen antiretroviralen Therapieregimen entwickeln.

Die nicht randomisierte multizentrische Studie von Conradie *et al.* untersucht die pharmakokinetischen Eigenschaften von Atazanavir während der Schwangerschaft durch den Vergleich zweier Gruppen bestehend aus jeweils 20 bzw. 21 HIV-infizierten Schwangeren mit einer cART aus Lamivudin, AZT und mit jeweils 300mg oder 400 mg Atazanavir geboostert mit 100mg RTV. Dabei wurden sowohl die mütterlichen als auch die kindlichen Bilirubinkonzentrationen gemessen (72). In der 400mg Gruppe haben doppelt so viele Patientinnen (62%) erhöhte totale Bilirubinkonzentrationen (definiert als über 2,5fach über Normwert) im Vergleich zur 300mg Gruppe mit 30%. Die Studie zeigt keinen Zusammenhang zwischen der Atazanavir-Konzentration im Nabelschnurblut und der neonatalen Bilirubinkonzentration (72).

In einer Subanalyse dieser Studie untersuchen Eley *et al.* die Auswirkungen von Atazanavir auf den Bilirubinmetabolismus unter Berücksichtigung des *UGT1A1* Genotyps sowohl bei den Müttern als auch deren Kindern (51). Die Subanalyse zeigt nur bei den Müttern signifikante Unterschiede zwischen dem Genotyp der *UGT1A1* und der Bilirubinkonzentration, bei den Neugeborenen hingegen nicht.

Conradie *et al.* zeigen eine schwache Korrelation zwischen der mütterlichen Bilirubinkonzentration bei Entbindung (Korrelationskoeffizient $R^2=0,279$) oder dem Mittel der

letzten vier SSW (Korrelationskoeffizient $R^2=0,161$) und den neonatalen Bilirubinkonzentrationen (72). In der vorliegenden Studie werden mütterliche Bilirubinkonzentrationen vor Entbindung nicht erfasst. Die Frage, ob die erhöhten Bilirubinkonzentrationen der Atazanavir-exponierten Neugeborenen in der vorliegenden Studie nicht zum Teil auch durch die möglicherweise erhöhten Bilirubinkonzentrationen der Mütter hervorgerufen werden, lässt sich nicht klären. Zumal Eley *et al.* einen Zusammenhang zwischen der mütterlichen Atazanavir-Therapie und der mütterlichen Bilirubinkonzentration zeigen (51).

In der Studie von Conradie *et al.* scheint die Dosis von Atazanavir keinen Einfluss auf die kindlichen Bilirubinkonzentrationen zu haben, in der Subanalyse von Eley *et al.* besteht kein signifikanter Unterschied zwischen 300mg und 400mg täglicher Atazanavir-Einnahme in Bezug auf die kindlichen Bilirubinkonzentrationen (51,72).

In beiden Behandlungssträngen entwickeln 50% (10/20) der Neugeborenen einen Ikterus und jeweils drei Kinder benötigen eine Fototherapie. Der Grad der Bilirubinerhöhung ist in der 400mg Atazanavir-Gruppe höher. So haben hier 9/20 (45%) Neugeborenen ein erhöhtes Gesamtbilirubin und 4/20 (20%) eine Grad 3-4 (8,1-13mg/dl) Bilirubinerhöhung, in der 300mg Atazanavir-Gruppe haben nur 5/20 (25%) ein erhöhtes totales Bilirubin und 3/20 (15%) Grad 3-4 Bilirubinerhöhungen (51,72).

Die nachgewiesenen erhöhten Bilirubinkonzentrationen bei Neugeborenen, die während der Schwangerschaft Atazanavir exponiert waren, erachten Conradie *et al.* als klinisch nicht relevant, da auch bei bis zu 60% der gesunden Neugeborenen erhöhte Bilirubinkonzentrationen gemessen werden (72). In der vorliegenden Studie kann für die erste Lebenswoche eine signifikante Erhöhung der Bilirubinkonzentrationen bei Atazanavir-exponierten Neugeborenen im Vergleich zu der Kontroll-Gruppe gezeigt werden. Zwar liegen die Bilirubinkonzentrationen der Atazanavir-Exponierten ebenfalls im physiologischen Rahmen gesunder Neugeborener, jedoch sind die erhöhten Werte in der ersten Woche vor allem im Hinblick auf die Plazentatransferrate von Atazanavir durchaus in direktem Zusammenhang mit der mütterlichen Atazanavir-Einnahme zu sehen. Da Conradie *et al.* keinen direkten Zusammenhang zwischen der Atazanavir-Konzentration im Nabelschnurblut und der kindlichen Bilirubinkonzentrationen zeigen, ist anzunehmen, dass bei Atazanavir kein linearer Zusammenhang zwischen der Medikamentendosis und der Höhe der Bilirubinkonzentration vorliegt (72). Unabhängig von der Dosierung scheint eine intrauterine Atazanavir-Exposition ein Risikofaktor für

erhöhte Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen vor allem in der ersten Lebenswoche zu sein.

Mandelbrot *et al.* untersuchen in einer retrospektiven Studie mit 22 Müttern und 23 Kindern (ein Zwillingsspaar) den Einfluss von Atazanavir in der Schwangerschaft auf eine neonatale Hyperbilirubinämie. Alle Frauen nehmen während der Schwangerschaft eine cART mit Atazanavir und Ritonavir ein. Alle Kinder sind reif geboren und bei allen ist eine hämolytische Anämie ausgeschlossen. Die Ethnizität der Mütter und Kinder wird nicht beschrieben (16).

Wie in der Studie von Conradie *et al.* liegt auch in dieser Studie bei den meisten Müttern (17 von 21 Müttern, eine Frau ohne Daten) eine erhöhte Bilirubinkonzentration bei Entbindung vor (16,72). Die Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen sind bei Geburt signifikant höher als die mütterlichen Bilirubinkonzentrationen (16).

Mandelbrot *et al.* zeigen eine häufige Assoziation von Hyperbilirubinämie bei Neugeborenen, deren Mütter während der Schwangerschaft Atazanavir eingenommen haben. Allerdings weist die Studie keine Vergleichsgruppe mit cART ohne Atazanavir-exponierten Neugeborenen auf, die diese Aussage stützen könnte. Für die Hyperbilirubinämie werden zwei mögliche Erklärungen diskutiert. Zum einen könnte der Anstieg des neonatalen Bilirubins durch plazentaren Transfer von unkonjugiertem Bilirubin der Mutter auf das Neugeborene erklärt werden, auch Conradie *et al.* weisen hierfür einen schwachen Zusammenhang nach. Zum anderen besteht die Möglichkeit, dass über die Plazenta transferiertes Atazanavir den Bilirubinmetabolismus des Fetus direkt beeinflusst (16,72).

Die vorliegende Studie untermauert die Ergebnisse von Mandelbrot *et al.* durch einen Vergleich mit einer Kontroll-Gruppe mit cART ohne Atazanavir-exponierten Neugeborenen. Die Atazanavir-Gruppe hat eine signifikant höhere Bilirubinkonzentration in der ersten Lebenswoche im Vergleich zu den Neugeborenen der Kontroll-Gruppe. Ob der Unterschied der Bilirubinkonzentration durch plazentaren Transfer von mütterlichem Bilirubin oder durch plazentaren Transfer von Atazanavir oder durch beide Faktoren hervorgerufen wird, kann in dieser Studie nicht abschließend beantwortet werden unter anderem aufgrund der fehlenden Daten hinsichtlich mütterlicher Bilirubinkonzentrationen.

Die höheren Bilirubinkonzentrationen bis zur vierten Lebenswoche in der Atazanavir-Gruppe im Vergleich zur Kontroll-Gruppe sind vermutlich nicht allein durch den plazentaren Transfer von mütterlichem Bilirubin bedingt. Es liegt nahe, dass das über die Plazenta transferierte Atazanavir über eine Inhibition des Schlüsselenzyms die UGT1A1 für den Bilirubinabbau den Bilirubinmetabolismus beeinflusst. Hierbei können *UGT1A1* Polymorphismen die Auswirkung auf den Bilirubinmetabolismus zusätzlich beeinflussen (28).

In einer prospektiven nicht verblindeten multizentrischen Studie untersuchen Mirochnik *et al.* an 38 Mutter-Kind Paaren die Auswirkungen von Atazanavir/ Ritonavir mit und ohne Tenofovir-Einnahme während der Schwangerschaft. 14 der 38 eingeschlossenen Frauen haben während der Schwangerschaft erhöhte Bilirubinkonzentrationen, unabhängig von der Tenofovir-Einnahme. Bei den Neugeborenen werden keine stark erhöhten Bilirubinkonzentrationen gemessen, die höchsten gemessenen Werte sind 8,8 mg/dl am 1.-2. Lebenstag und 7,8 mg/dl am 4.-8. Lebenstag. Ob es Unterschiede zwischen den beiden Behandlungssträngen in Bezug auf die Bilirubinkonzentration der Neugeborenen gibt, wird in der Publikation nicht erwähnt (50).

Die vorliegende Studie kann bei den Neugeborenen ebenfalls kein Unterschied in der Höhe der Bilirubinkonzentration zwischen den Gruppen mit und ohne intrauterine Tenofovir Exposition zeigen, die mütterlichen Bilirubinkonzentrationen wurden nicht untersucht. Allerdings weisen die Neugeborenen der vorliegenden Studie in der Mehrzahl der Fälle höhere Bilirubinkonzentrationen auf, als die bei Mirochnick *et al.* untersuchten Neugeborenen (50), eine mögliche Ursache könnte die unterschiedliche ethnische Zusammensetzung der Gruppen sein. Der Anteil an kaukasischen Kindern liegt in der vorliegenden Studie in der Atazanavir-Gruppe mit knapp 27,5% deutlich höher als bei Mirochnick *et al.* mit knapp 8%. Auch können für kaukasische Kinder signifikant höhere Bilirubinkonzentrationen im Vergleich zu afrikanischen Kindern nachgewiesen werden. Weitere Erklärungsmöglichkeiten könnten die unterschiedliche Verteilung von Risikofaktoren sein, die bei Mirochnick *et al.* nicht berücksichtigt werden (50).

Eine neurotoxische Bilirubinerhöhung kann in der vorliegenden Studie für die Neugeborenen die intrauterin Atazanavir exponiert sind, nicht gezeigt werden. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Beobachtungen aus anderen Studien (16,50,51,72).

In der vorliegenden Studie werden erstmals die Auswirkungen von intrauteriner Atazanavir-Exposition auf den Bilirubinmetabolismus von Neugeborenen im Vergleich zu einer Gruppe mit intrauterin cART-exponierten Neugeborenen anderer Regime verglichen. Es kann gezeigt werden, dass in den ersten sieben Lebenstagen intrauterin Atazanavir-exponierte Neugeborene im Vergleich zu anderen cART-exponierten Neugeborenen eine signifikant höhere Bilirubinkonzentration haben. Nach der ersten Lebenswoche können jedoch keine signifikanten Unterschiede der Bilirubinkonzentration in Abhängigkeit zur intrauterinen Atazanavir-Exposition festgestellt werden, wie die Untersuchungen des Langzeitverlaufs der Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen über die ersten drei Lebensmonate zeigen.

Die Erhöhung der Bilirubinkonzentration ist im Mittel innerhalb der physiologischen Spannweite, wie in den anderen Studien ebenfalls dargestellt wird.

Die Plazentatransferrate für Atazanavir liegt niedriger als für INIs (vgl. Abschnitt 1.12.1.4). Die Atazanavir-Konzentration im Blut des Neugeborenen ist niedriger als bei der Mutter (19). Der Zeitraum bis zum vollständigen Abbau von Atazanavir ist beim Neugeborenen vermutlich kürzer als bei INIs, daher kann angenommen werden, dass der Abbau von Bilirubin nur in der ersten Lebenswoche gehemmt wird.

Im Hinblick auf die hier beschriebenen Auswirkungen auf den neonatalen Bilirubinmetabolismus ist der Einsatz von Atazanavir als bevorzugter PI (vgl. (9)) während der Schwangerschaft als unbedenklich und sicher einzustufen. Die statistisch signifikanten Bilirubinerhöhungen der Atazanavir-Exponierten im Vergleich zu der Kontroll-Gruppe befinden sich in einem klinisch unbedenklichen Rahmen. Diese Arbeit beschäftigt sich jedoch nur mit den Auswirkungen auf die Bilirubinkonzentrationen der Neugeborenen und keinen weiteren möglichen unerwünschter Arzneimittelwirkungen. Weitere randomisierte Studien mit Langzeitbeobachtungen der Exponierten sollten erfolgen, um die Sicherheit dieser und anderer antiretroviralen Therapien während der Schwangerschaft zu bestätigen.

4.5 Auswirkungen weiterer antiretroviraler Medikamente

Mit Ausnahme der antiretroviralen Medikamente Atazanavir, Raltegravir und Dolutegravir finden sich in der vorliegenden Studie keine erhöhten Bilirubinkonzentrationen durch die intrauterine Exposition mit anderen antiretroviralen Medikamenten. Dies

stimmt mit den Angaben aus den Fachinformationen der einzelnen Medikamente überein. Dort wird ebenfalls von keiner bekannten Beeinflussung des kindlichen Bilirubinmetabolismus nach maternaler Einnahme während der Schwangerschaft berichtet.

Beitune *et al.* untersuchen die Effekte antiretroviraler Medikamente unter anderem auf den Gesamt-Bilirubinspiegel der Neugeborenen am Entbindungstag. Es können dabei keine signifikanten Unterschiede der Bilirubinkonzentration im Nabelschnurblut zwischen der Kontroll-Gruppe mit gesunden Frauen (n=12), der AZT-Monotherapie Gruppe (n=18) und der Triple-Therapie Gruppe mit AZT, Lamivudin und Nelfinavir (n=22) gezeigt werden (73).

4.6 Limitationen

Die vorliegende Studie liefert Erkenntnisse über den Einfluss unterschiedlicher cART Regime während der Schwangerschaft auf die Bilirubinkonzentration der Neugeborenen und der jungen Säuglinge unter Berücksichtigung nichtmedikamentöser Risikofaktoren. Bei der Interpretation der Ergebnisse dieser Studie sollten folgende Limitationen berücksichtigt werden:

Bei der Betrachtung der im Studienprotokoll vorgegebenen Messtage im Vergleich zu den tatsächlichen Messtagen fällt die zum Teil große Varianz auf. Dieser Umstand kann zu einer möglichen verzerrten Darstellung der Ergebnisse führen. Jedoch wird das Soll des Studienprotokolls in der Standardabweichung des Mittelwertes der Messtage erfüllt.

Aufgrund der geringen Fallzahlen werden für die statistische Auswertung in der INI-Gruppe Dolutegravir und Raltegravir zusammengefasst, dies trotz unterschiedlich hoher Plazentatransferraten (44). Des Weiteren sind die einzelnen cART-Regime-Gruppen, welche miteinander verglichen wurden, unterschiedlich groß. Die Anzahl mit n=32 bei der INI-Gruppe liegt nicht so hoch wie ursprünglich bei der Studienplanung erwartet. Die Aussagekraft der vorliegenden Studie mit einer so kleinen Patientenzahl in dieser Medikamentengruppe und einer wesentlich größeren Vergleichsgruppe ist begrenzt. Es gibt trotz der Limitationen der vorliegenden Studie in diesem Bereich signifikante Unterschiede in der Langzeitbetrachtung der Bilirubinkonzentrationen.

Die vorliegende Studie ist monozentrisch durchgeführt worden und repräsentiert in ihrer Studienpopulation daher nicht vollumfänglich das gesamte betroffene Patientenkollektiv. Allerdings ist das Einzugsgebiet der HIV-Kindertagesklinik der Charité, Campus Virchow Klinikum, vergleichsweise groß und umfasst neben dem Großraum Berlin

ebenfalls weite Teile Brandenburgs und stellt in Deutschland damit eines der größten Zentren für die Versorgung HIV-infizierter Schwangerer und deren Kinder dar. Des Weiteren gewährleistet das monozentrische Studiendesign ein einheitliches Vorgehen bei der Erhebung der Daten.

Darüber hinaus ist die Studie nicht randomisiert und ein Bias kann daher nicht ausgeschlossen werden. Des Weiteren könnten aufgrund der Tatsache, dass diese Studie retrospektiv ist, weitere Faktoren, die Auswirkungen auf den Bilirubinmetabolismus der Neugeborenen haben, nicht erfasst worden sein. Um diese Limitation weitestgehend zu eliminieren, werden in dieser Studie auch bisher bekannte nicht medikamentöse Risikofaktoren bei der Analyse berücksichtigt.

4.7 Fazit

Die vorliegende retrospektive Studie zeigt an einem großen Studienkollektiv intrauterin HIV- und cART-exponierter Kinder, dass eine pränatale Exposition gegenüber INIs wie Raltegravir und Dolutegravir oder dem Proteaseinhibitor Atazanavir zu einer statistisch signifikanten Bilirubinerhöhung der Neugeborenen und jungen Säuglinge im Vergleich zu einer Kontroll-Gruppe führt, deren Mütter während der Schwangerschaft ein anderes cART Regime erhielten. So kann die vorliegende Studie für Atazanavir-exponierte Neugeborene im Vergleich zur Kontroll-Gruppe in der ersten Lebenswoche und für INI-Exponierte im Vergleich zur Kontroll-Gruppe bis zur sechsten Lebenswoche signifikant höhere Bilirubinkonzentrationen nachweisen.

Die erhöhten Werte sind jedoch in dieser ausnahmslos nicht gestillten Studienpopulation klinisch nicht relevant. Daher stellen sowohl Atazanavir als auch der INI Raltegravir bezüglich des Bilirubinmetabolismus eine sichere Option der antiretroviralen Therapie in der Schwangerschaft dar.

Die Unterschiede zwischen INIs und Atazanavir könnten durch die verschiedenen Plazentatransferraten begründet sein, welche zu unterschiedlichen Konzentrationen der Medikamente im Kreislauf des Neugeborenen führen.

Abhängig von der ART-Konzentration bzw. der Elimination ist der Abbau von Bilirubin über den gemeinsamen Abbauweg UGT1A1 behindert. Diese These wird durch die Ergebnisse der Studie untermauert. Der Wirkstoff Atazanavir wird nur in geringem Maße über die Plazenta transferiert, und hemmt daher vermutlich nur in der ersten Lebenswoche den Abbau von Bilirubin durch den gemeinsamen Abbauweg UGT1A1.

Dahingegen werden INIs, v.a. Raltegravir, in höherem Maße über die Plazenta transferiert und sind somit in höherer Konzentration im Organismus des Neugeborenen vorhanden. Daher benötigt der Abbau von INIs mehr Zeit und der gemeinsame Abbauweg UGT1A1 von INIs und Bilirubin wird somit über einen längeren Zeitraum gehemmt, deshalb sind die Bilirubinkonzentrationen bis zur sechsten Lebenswoche erhöht. Für die anderen antiretroviralen Medikamente (vgl. Tabelle 4), die in verschiedenen cART-Kombinationen verwendet werden, können in der Einzelanalyse keine signifikanten Unterschiede der Bilirubinkonzentration nachgewiesen werden.

Der Vergleich der Bilirubin-Perzentilen der vorliegenden nicht gestillten Studienpopulation mit der gestillten Studienpopulation von Maisels *et al.* zeigt ab dem 14. Lebens- tag für die nichtgestillten Neugeborenen deutlich niedrigere Bilirubinkonzentrationen. Des Weiteren kann erstmals gezeigt werden, dass die bekannten nichtmedikamentö- sen Risikofaktoren für erhöhte Bilirubinkonzentrationen aus Studien an nicht HIV- und cART- exponierten Neugeborenen, auf das Studienkollektiv aus HIV- und cART- ex- ponierten, nicht HIV-infizierten Neugeborenen weitestgehend übertragbar sind (vgl. 4.2).

4.8 Perspektiven für zukünftige Forschungsansätze

Im Hinblick auf den steigenden Einsatz von INIs während der Schwangerschaft bei HIV-infizierten Frauen sind die Ergebnisse dieser Studie von hoher klinischer Rele- vanz.

Es wird vermutet, dass INIs unter anderem aufgrund der hohen Plazentatransferrate über einen Zeitraum von mehreren Wochen nach der Geburt im kindlichen Organismus verbleiben und den Abbau von Bilirubin beeinflussen. Im Hinblick auf den Biliru- binmetabolismus zeigt die vorliegende Studie keine behandlungsbedürftigen Auswir- kungen. Mit Ausnahme von Dolutegravir (15) gibt es bisher auch keine Hinweise auf unerwünschte Arzneimittelwirkungen bei Säuglingen beziehungsweise Kleinkindern durch eine intrauterine INI-Exposition innerhalb der ersten 18 Lebensmonate. Lang- zeitbeobachtungsstudien wären hier wünschenswert.

Der Vergleich der Bilirubinkonzentrationen zwischen dem vorliegenden nicht gestillten Studienkollektiv und dem gestillten Studienkollektiv von Maisels *et al.* zeigt höhere Bi- lirubinkonzentrationen für das gestillte Studienkollektiv. Dies ist insbesondere in Hin- blick auf eine zunehmende Anzahl an Frauen in Europa, die unter einer cART stillen

(24), von großer Relevanz. Ob durch diesen zusätzlichen Risikofaktor klinisch relevante Bilirubinkonzentrations-Erhöhungen der Neugeborenen und jungen Säuglinge entstehen werden, sollte ebenfalls in zukünftigen Studien untersucht werden. Der Transfer antiretroviraler Medikamente über die Muttermilch kann zu einer deutlich längeren cART-Exposition der gestillten Kinder führen. Valide Transfer-Daten, insbesondere von INIs, sind aktuell Gegenstand der Forschung. Für einzelne ART Substanzen liegen bereits erste Daten vor (74). Die Deutsch-Österreichischen Leitlinien bezüglich des Stillens sind aktuell in Bearbeitung. Klinische Relevanz könnten die Unterschiede der Bilirubinkonzentrationen zwischen den cART-Regimen, vor allem bei einem Zusammentreffen mehrerer Risikofaktoren bei einer gestillten Studienpopulation haben. Wünschenswert wären daher Studien mit einem prospektiven randomisierten Design und vergleichbaren Gruppengrößen unter Berücksichtigung der durch diese Studie verifizierten nichtmedikamentösen Risikofaktoren.

Literaturverzeichnis

1. UNAIDS. Homepage [Internet]. Our Goal - Ending the AIDS epidemic by 2030. [zitiert 13. September 2019]. Verfügbar unter: <https://www.unaids.org/en/Homepage>
2. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). On the Fast-Track to end AIDS. UNAIDS 2016-2021 Strategy [Internet]. Genf, Schweiz: UNAIDS; 2015 [zitiert 4. Januar 2019]. Verfügbar unter: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/20151027_UNAIDS_PCB37_15_18_EN_rev1.pdf
3. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). 90-90-90 An ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic [Internet]. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS); 2014 [zitiert 4. Januar 2019]. Verfügbar unter: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/90-90-90_en.pdf
4. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Fact Sheet - Global AIDS Update 2019 [Internet]. UNAIDS; [zitiert 17. August 2019]. Verfügbar unter: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_Factheet_en.pdf
5. Robert Koch Institut. Schätzung der Zahl der HIV-Neuinfektionen und der Gesamtzahl von Menschen mit HIV in Deutschland Stand Ende 2017. Epidemiol Bull. 2018;47:510–26.
6. Deutsche AIDS-Gesellschaft e. V. (DAIG), Österreichische AIDS-Gesellschaft (ÖAG), Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin (DGIM), Deutsche STI-Gesellschaft (DSTIG), Deutsche Gesellschaft für Infektiologie (DGI), Gesellschaft für Virologie (GfV), Deutsche Arbeitsgemeinschaft niedergelassener Ärzte in der Versorgung HIV-Infizierter (DAGNÄ), und der Deutschen AIDS-Hilfe (DAH), Herausgeber. Deutsch-Österreichische Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-1-Infektion [Internet]. 2017 [zitiert 4. Januar 2019]. Verfügbar unter: <https://daignet.de/site-content/hiv-therapie/leitlinien-1/deutsch-oesterreichische-leitlinien-zur-antiretroviralen-therapie-der-hiv-1-infektion>
7. AIDSinfo. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. [Internet]. Department of Health and Human Services.; 2019 [zitiert 31. August 2019]. Verfügbar unter: <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>
8. AIDSinfo. Panel on Treatment of HIV-Infected Pregnant Women and Prevention of Perinatal Transmission. Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Pregnant HIV-1-Infected Women for Maternal Health and Interventions to Reduce Perinatal HIV Transmission in the United States. [Internet]. U.S. Department of Health and Human Services; 2017 [zitiert 25. März 2019]. Verfügbar unter: <https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/PerinatalGL.pdf>
9. Deutsche AIDS-Gesellschaft e. V (DAIG). Deutsch-Österreichische Leitlinie zur HIV-Therapie in der Schwangerschaft und bei HIV-exponierten Neugeborenen.

Österreichische AIDS-Gesellschaft (ÖAIG), Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), Deutsche Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin (DGKJ), Deutsche Arbeitsgemeinschaft niedergelassener Ärzte in der Versorgung, von HIV- und AIDS-Patienten (DAGNÄ), Deutsche AIDS-Hilfe (DAH), Pädiatrische Arbeitsgemeinschaft AIDS Deutschland (PAAD), Robert-Koch-Institut (RKI), Herausgeber. 2017.

10. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ, VanDyke R, Bey M, Shearer W, Jacobson RL. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med*. November 1994;331(18):1173–80.
11. Mandelbrot L, Tubiana R, Le Chenadec J, Dollfus C, Faye A, Pannier E, Matheron S, Khuong M-A, Garrait V, Reliquet V, Devidas A, Berrebi A, Allisy C, Elleau C, Arvieux C, Rouzioux C, Warszawski J, Blanche S, ANRS-EPF Study Group. No perinatal HIV-1 transmission from women with effective antiretroviral therapy starting before conception. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1. Dezember 2015;61(11):1715–25.
12. Townsend CL, Byrne L, Cortina-Borja M, Thorne C, de Ruiter A, Lyall H, Taylor GP, Peckham CS, Tookey PA. Earlier initiation of ART and further decline in mother-to-child HIV transmission rates, 2000-2011. *AIDS*. April 2014;28(7):1049–57.
13. Robert Koch Institut. HIV/AIDS in Deutschland – Änderung der Eckdaten der Schätzung. 14. Februar 2019; Verfügbar unter: https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/HIVAIDS/Eckdaten/EckdatenDeutschland.pdf?__blob=publication-File
14. Zash R, Makhema J, Shapiro RL. Neural-Tube Defects with Dolutegravir Treatment from the Time of Conception. *N Engl J Med*. 2018;379(10):979–81.
15. Dr. med. Walli R. Rote-Hand-Brief zu Tivicay (Dolutegravir), Triumeq (Dolutegravir/Abacavir/Lamivudin), Juluca (Dolu-tegravir/ Rilpivirin): Berichte über Neuralrohrdefekte bei Neugeborenen von Frauen, die zur Zeit der Konzeption Dolutegravir eingenommen haben [Internet]. ViiV Healthcare GmbH; 2018 [zitiert 17. August 2019]. Verfügbar unter: https://www.bfarm.de/SharedDocs/Risikoinformationen/Pharmakovigilanz/DE/RHB/2018/rhb-dolutegravir.pdf;jsessionid=527BCC7F224FFBD2CF8B263022C7AC1D.2_cid329?__blob=publication-File&v=3
16. Mandelbrot L, Mazy F, Floch-Tudal C, Meier F, Azria E, Crenn-Hebert C, Treluyer JM, Herinomenzanahary E, Ferreira C, Peytavin G. Atazanavir in pregnancy: impact on neonatal hyperbilirubinemia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. Juli 2011;157(1):18–21.
17. Pain JB, Lê MP, Caseris M, Amiel C, Lassel L, Charpentier C, Desnoyer A, Farnoux C, Pialoux G, Descamps D, Peytavin G. Pharmacokinetics of dolutegravir in a premature neonate after HIV treatment intensification during pregnancy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(6):3660–2.

18. Clarke DF, Acosta EP, Rizk ML, Bryson YJ, Spector SA, Mofenson LM, Handelsman E, Teppler H, Welebob C, Persaud D, Cababasay MP, Wang J, Mirochnick M, International Maternal Pediatric Adolescent AIDS Clinical Trials (IMPAACT) P1097 Study Team. Raltegravir pharmacokinetics in neonates following maternal dosing. *J Acquir Immune Defic Syndr*. November 2014;67(3):310–5.
19. McCormack SA, Best BM. Protecting the fetus against HIV infection: a systematic review of placental transfer of antiretrovirals. *Clin Pharmacokinet*. November 2014;53(11):989–1004.
20. Feiterna-Sperling C, Weizsaecker K, Bühner C, Casteleyn S, Loui A, Schmitz T, Wahn V, Obladen M. Hematologic effects of maternal antiretroviral therapy and transmission prophylaxis in HIV-1-exposed uninfected newborn infants. *J Acquir Immune Defic Syndr*. Mai 2007;45(1):43–51.
21. Cecchini DM, Martinez MG, Morganti LM, Rodriguez CG. Antiretroviral Therapy Containing Raltegravir to Prevent Mother-to-Child Transmission of HIV in Infected Pregnant Women. *Infect Rep*. Mai 2017;9(2):7017.
22. WHO. HIV/AIDS Mother-to-child transmission of HIV [Internet]. WHO. [zitiert 20. August 2019]. Verfügbar unter: <http://www.who.int/hiv/topics/mtct/en/>
23. Waitt C, Low N, Van de Perre P, Lyons F, Loutfy M, Aebi-Popp K. Does U=U for breastfeeding mothers and infants? Breastfeeding by mothers on effective treatment for HIV infection in high-income settings. *Lancet HIV*. 2018;5(9):e531–6.
24. Kahlert C, Aebi-Popp K, Bernasconi E, Martinez de Tejada B, Nadal D, Paioni P, Rudin C, Staehelin C, Wagner N, Vernazza P. Is breastfeeding an equipoise option in effectively treated HIV-infected mothers in a high-income setting? *Swiss Med Wkly*. 2018;148:w14648.
25. Cohen RS, Wong RJ, Stevenson DK. Understanding neonatal jaundice: a perspective on causation. *Pediatr Neonatol*. Juni 2010;51(3):143–8.
26. Silbernagl S, Lang F. Taschenatlas Pathophysiologie. Thieme; 2017.
27. Püschel GP, Kühn H, Kietzmann T, Höhne W, Christ B. Taschenlehrbuch Biochemie. Thieme; 2011.
28. Panagopoulos P, Maltezos E, Hatzakis A, Paraskevis D. Hyperbilirubinemia in atazanavir treated HIV-infected patients: the impact of the UGT1A1*28 allele. *Pharmgenomics Med*. 2017;10:205–8.
29. Mazur-Kominek K, Romanowski T, Bielawski K, Kielbratowska B, Preis K, Domżalska-Popadiuk I, Słomińska-Frączek M, Sznurkowska K, Renke J, Plata-Nazar K, Śledzińska K, Sikorska-Wiśniewska G, Góra-Gębka M, Liberek A. Association between uridin diphosphate glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1) gene polymorphism and neonatal hyperbilirubinemia. *Acta Biochim Pol*. 2017;64(2):351–6.

30. Anna-Elisa Schulze-Schleithoff, Pschyrembel Redaktion. Hyperbilirubinämie [Internet]. 2016 [zitiert 6. Januar 2019]. Verfügbar unter: <https://www.pschyrembel.de/Hyperbilirubin%C3%A4mie/K0A89>
31. Mathias Plauth. Ikterus [Internet]. 2017 [zitiert 14. Dezember 2018]. Verfügbar unter: <https://www.pschyrembel.de/ikterus/K0AJH/doc/>
32. Maruo Y, Morioka Y, Fujito H, Nakahara S, Yanagi T, Matsui K, Mori A, Sato H, Tukey RH, Takeuchi Y. Bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase variation is a genetic basis of breast milk jaundice. *J Pediatr.* Juli 2014;165(1):36-41.e1.
33. Dennery PA, Seidman DS, Stevenson DK. Neonatal hyperbilirubinemia. *N Engl J Med.* Februar 2001;344(8):581–90.
34. Chou SC, Palmer RH, Ezhuthachan S, Newman C, Pradell-Boyd B, Maisels MJ, Testa MA. Management of hyperbilirubinemia in newborns: measuring performance by using a benchmarking model. *Pediatrics.* Dezember 2003;112(6 Pt 1):1264–73.
35. Gesellschaft für Neonatologie und pädiatrische Intensivmedizin (GNPI). Hyperbilirubinämie des Neugeborenen – Diagnostik und Therapie. Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin (DGKJ), Deutschen Gesellschaft für Perinatalmedizin (DGPM), Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), Herausgeber. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF); 2015.
36. McDonagh AF. Controversies in bilirubin biochemistry and their clinical relevance. *Semin Fetal Neonatal Med.* Juni 2010;15(3):141–7.
37. Ng MC, How CH. When babies turn yellow. *Singap Med J.* November 2015;56(11):599–602; quiz 603.
38. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Neonatal jaundice Clinical Guideline [Internet]. National Collaborating Centre for Women’s and Children’s Health; 2016. Verfügbar unter: <https://www.nice.org.uk/guidance/cg98/evidence/full-guideline-245411821>
39. Bhutani VK, Johnson L, Emidio MS. Predictive Ability of a PredischARGE Hour-specific Serum Bilirubin for Subsequent Significant Hyperbilirubinemia in Healthy Term and Near-term Newborns. *Pediatrics.* Januar 1999;103(1).
40. Maisels MJ, Clune S, Coleman K, Gendelman B, Kendall A, McManus S, Smyth M. The natural history of jaundice in predominantly breastfed infants. *Pediatrics.* August 2014;134(2):e340-5.
41. Norman M, Åberg K, Holmsten K, Weibel V, Ekéus C. Predicting Nonhemolytic Neonatal Hyperbilirubinemia. *Pediatrics.* Dezember 2015;136(6):1087–94.
42. Keren R, Bhutani VK, Luan X, Nihtianova S, Cnaan A, Schwartz JS. Identifying newborns at risk of significant hyperbilirubinaemia: a comparison of two recommended approaches. *Arch Child.* April 2005;90(4):415–21.

43. Newman TB, Escobar GJ, Gonzales VM, Armstrong MA, Gardner MN, Folck BF. Frequency of neonatal bilirubin testing and hyperbilirubinemia in a large health maintenance organization. *Pediatrics*. November 1999;104(5 Pt 2):1198–203.
44. Rimawi BH, Johnson E, Rajakumar A, Tao S, Jiang Y, Gillespie S, Schinazi RF, Mirochnick M, Badell ML, Chakraborty R. Pharmacokinetics and Placental Transfer of Elvitegravir, Dolutegravir, and Other Antiretrovirals during Pregnancy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(6).
45. Clarke DF, Wong RJ, Wenning L, Stevenson DK, Mirochnick M. Raltegravir in vitro effect on bilirubin binding. *Pediatr Infect J*. September 2013;32(9):978–80.
46. ViiV Healthcare GmbH. Fachinformation Triumeq® 50 mg/600 mg/300 mg Filmtabletten. Rote Liste Service GmbH Fachinfo-Service; 2016.
47. Schalkwijk S, Feiterna-Sperling C, Weizsäcker K, Colbers A, Bühner C, Greupink R, Russel FG, Burger D, PANNA network. Substantially lowered dolutegravir exposure in a treatment-experienced perinatally HIV-1-infected pregnant woman. *AIDS*. Juli 2016;30(12):1999–2001.
48. Lewis JM, Railton E, Riordan A, Khoo S, Chaponda M. Early experience of dolutegravir pharmacokinetics in pregnancy: high maternal levels and significant foetal exposure with twice-daily dosing. *AIDS*. 2016;30(8):1313–5.
49. Margolis AM, Heverling H, Pham PA, Stolbach A. A review of the toxicity of HIV medications. *J Med Toxicol*. März 2014;10(1):26–39.
50. Mirochnick M, Best BM, Stek AM, Capparelli EV, Hu C, Burchett SK, Rossi SS, Hawkins E, Basar M, Smith E, Read JS, IMPAACT 1026s Study Team. Atazanavir pharmacokinetics with and without tenofovir during pregnancy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. April 2011;56(5):412–9.
51. Eley T, Huang SP, Conradie F, Zorrilla CD, Josipovic D, Botes M, Osiyemi O, Hardy H, Bertz R, McGrath D. Clinical and pharmacogenetic factors affecting neonatal bilirubinemia following atazanavir treatment of mothers during pregnancy. *AIDS Res Hum Retroviruses*. Oktober 2013;29(10):1287–92.
52. European AIDS Clinical Society (EACS). EACS Leitlinien Version 10.0 [Internet]. 2019 [zitiert 10. Februar 2020]. Verfügbar unter: https://www.eacsociety.org/files/guidelines-10.0_final_german.pdf
53. Simon LV, Bragg BN. APGAR Score. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 [zitiert 19. August 2019]. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470569/>
54. Universität Zürich (UZH). Datenanalyse mit SPSS [Internet]. 2018 [zitiert 4. November 2018]. Verfügbar unter: https://www.methodenberatung.uzh.ch/de/datenanalyse_spss.html
55. Untersteiner H. Biostatistik - Datenauswertung mit Excel und SPSS für Naturwissenschaftler und Mediziner. Wien: Facultas; 2005.

56. Kuckartz U, Rädiker S, Ebert T, Schehl J. Statistik: Eine verständliche Einführung. VS Verlag für Sozialwissenschaften; 2010.
57. Rasch B, Frieze M, Hofmann W, Naumann E. Quantitative Methoden 1. Einführung in die Statistik für Psychologen und Sozialwissenschaftler. Springer; 2010.
58. Universität Zürich (UZH). Methodenberatung - t-Test für unabhängige Stichproben [Internet]. 2018 [zitiert 1. Oktober 2017]. Verfügbar unter: http://www.methodenberatung.uzh.ch/de/datenanalyse/unterschiede/zentral/ttestunabh.html#K3_3
59. Rasch B, Frieze M, Hofmann W, Naumann E. Quantitative Methoden 2 Einführung in die Statistik für Psychologen und Sozialwissenschaftler - Verfahren für Rangdaten - Der Mann-Whitney-U-Test. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2014.
60. Universität Zürich (UZH). Methodenberatung - Mann-Whitney-U-Test [Internet]. 2018 [zitiert 1. Oktober 2017]. Verfügbar unter: <http://www.methodenberatung.uzh.ch/de/datenanalyse/unterschiede/zentral/mann.html>
61. Universität Zürich (UZH). Methodenberatung - einfaktorielle Varianzanalyse (ohne Messwiederholung) [Internet]. 2018 [zitiert 4. Oktober 2017]. Verfügbar unter: https://www.methodenberatung.uzh.ch/de/datenanalyse_spss/unterschiede/zentral/evarianz.html
62. Universität Zürich (UZH). Methodenberatung - Kruskal-Wallis-Test [Internet]. 2018 [zitiert 5. Oktober 2017]. Verfügbar unter: <http://www.methodenberatung.uzh.ch/de/datenanalyse/unterschiede/zentral/kruskal.html>
63. Hemmerich WA. Einstieg in die mixed ANOVA | StatistikGuru [Internet]. [zitiert 6. Januar 2019]. Verfügbar unter: <https://statistikguru.de/spss/mixed-anova/einstieg-in-die-mixed-anova.html>
64. Hemmerich WA. Mixed ANOVA: Anwendungsbeispiele | StatistikGuru [Internet]. [zitiert 6. Januar 2019]. Verfügbar unter: <https://statistikguru.de/spss/mixed-anova/anwendungsbeispiele-3.html>
65. Hemmerich WA. Mixed ANOVA: Voraussetzungen | StatistikGuru [Internet]. [zitiert 6. Januar 2019]. Verfügbar unter: <https://statistikguru.de/spss/mixed-anova/voraussetzungen-8.html>
66. Hemmerich WA. Mixed ANOVA: Varianzgleichheit überprüfen | StatistikGuru [Internet]. [zitiert 6. Januar 2019]. Verfügbar unter: <https://statistikguru.de/spss/mixed-anova/varianzgleichheit-ueberpruefen.html>
67. Universität Zürich (UZH). Methodenberatung - Einfaktorielle Varianzanalyse (mit Messwiederholung) [Internet]. [zitiert 4. Oktober 2017]. Verfügbar unter: https://www.methodenberatung.uzh.ch/de/datenanalyse_spss/unterschiede/zentral/evarianzmessw.html

68. Yanagi T, Nakahara S, Maruo Y. Bilirubin Uridine Diphosphate-glucuronosyl-transferase Polymorphism as a Risk Factor for Prolonged Hyperbilirubinemia in Japanese Preterm Infants. *J Pediatr*. 2017;190:159-162.e1.
69. Pons RS, Rockett FC, de Almeida Rubin B, Oppermann MLR, Bosa VL. Risk factors for gestational diabetes mellitus in a sample of pregnant women diagnosed with the disease. *Diabetol Metab Syndr*. 11. November 2015;7(Suppl 1):A80.
70. Beutler E, Gelbart T, Demina A. Racial variability in the UDP-glucuronosyltransferase 1 (UGT1A1) promoter: a balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism? *Proc Natl Acad Sci U A*. Juli 1998;95(14):8170–4.
71. Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, Blanche S, Teglas J-P, Dollfus C, Faye A, Burgard M, Rouzioux C, Mandelbrot L, ANRS French Perinatal Cohort. Mother-to-child HIV transmission despite antiretroviral therapy in the ANRS French Perinatal Cohort. *AIDS Lond Engl*. 11. Januar 2008;22(2):289–99.
72. Conradie F, Zorrilla C, Josipovic D, Botes M, Osiyemi O, Vandeloise E, Eley T, Child M, Bertz R, Hu W, Wirtz V, McGrath D. Safety and exposure of once-daily ritonavir-boosted atazanavir in HIV-infected pregnant women. *HIV Med*. Oktober 2011;12(9):570–9.
73. El Beitune P, Duarte G, Campbell O, Quintana SM, Rodrigues LC. Effects of antiretroviral agents during pregnancy on liver enzymes and amylase in HIV-exposed, uninfected newborn infants. *Braz J Infect Dis Off Publ Braz Soc Infect Dis*. Juni 2007;11(3):314–7.
74. Feiterna-Sperling C, Krüger R, Amara A, Khoo S, Waitt C. Pharmacokinetics of maraviroc in plasma and breastmilk in a treatment-experienced perinatally HIV-1-infected woman. *AIDS Lond Engl*. 1. Dezember 2019;33(15):2443–4.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Johannah Marie Killing, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Auswirkungen der antiretroviralen Therapie HIV-1-infizierter schwangerer Frauen auf den Bilirubinmetabolismus der exponierten Säuglinge“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen werden von mir verantwortet.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

Besonderer Dank gilt meiner Doktormutter PD Dr. Renate Krüger und meiner Betreuerin Dr. Cornelia Feiterna-Sperling für die Überlassung des Themas, die hervorragende Betreuung und die konstruktive Unterstützung auf dem Weg zur Promotion.

Mein persönlicher Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden für den emotionalen Beistand und die Motivation bei der Fertigstellung meiner Promotion und meinem erfolgreichen Studium der Humanmedizin.