

Aus dem Institut für Medizinische Immunologie
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Untersuchungen zur zellulären Immunrekonstitution
unter besonderer Berücksichtigung der
Helferzellfunktion sowie deren Abhängigkeit vom
verwendeten Thymidinanalogon in einer Gruppe
antiretroviral behandelter, chronisch HIV-infizierter
Patienten**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von
Tobias Glaunsinger
aus Berlin

Dekane: Prof. Dr. Joachim W. Dudenhausen
Prof. Dr. med. Martin Paul

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. R. von Baehr
2. Prof. Dr. med. H.-D. Volk
3. Prof. h. c. Dr. med. M. Scholz

Datum der Promotion: 21. Juni 2004

Meinen Eltern und Mark in Liebe gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	<u>EINLEITUNG</u>	6
1.1	DIE HIV-INFEKTION	6
1.2	DAS HI-VIRUS	6
1.2.1	VIRALE GENE UND DEREN PRODUKTE	6
1.2.2	DER VIRALE REPLIKATIONSZYKLUS	7
1.3	IMMUNPATHOGENESE DER HIV-INFEKTION	7
1.3.1	DER „ZYTOPATHISCHE EFFEKT“	8
1.3.2	DIE INDIREKTE „IMMUNVERMITTELTE“ SCHÄDIGUNG	8
1.3.2.1	Apoptose	8
1.3.2.2	Immunaktivierung	9
1.3.2.3	Zytokine	10
1.3.3	T-ZELL-DYNAMIK	11
1.3.3.1	Zerstörung reifer T-Zellen	12
1.3.3.2	Gestörte Neubildung von T-Zellen	12
1.3.3.2.1	Knochenmark	13
1.3.3.2.2	Thymus	13
1.3.3.3	Umverteilung in lymphatische Gewebe	14
1.3.4	LYMPHKNOTENPATHOLOGIE	14
1.3.5	FUNKTIONELLE DEFEKTE VON IMMUNZELLEN	14
1.3.5.1	Antigenspezifische Aktivierung von T-Lymphozyten	15
1.3.5.2	Defekte antigenpräsentierender Zellen (APCs)	16
1.3.5.3	Funktionelle Defekte der T-Helferzellen	16
1.4	ANTIRETROVIRALE THERAPIE	18
1.5	STÖRUNG DER T-ZELL-FUNKTION DURCH NUKLEOSIDANALOGA	19
1.6	IMMUNREKONSTITUTION	20
1.7	KLINISCH BEDEUTSAME SURROGATMARKER DER HIV-INFEKTION	23
1.7.1	T-HELPERZELLKONZENTRATION	23
1.7.2	HIV-VIRUSLAST	23
1.7.3	EINFLUSS UNTERSCHIEDLICHER NUKLEOSIDANALOGA AUF DIE IMMUNREKONSTITUTION	24
1.8	DIE UNTERSUCHUNG – FRAGESTELLUNG UND ZIELE	25
2	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	26
2.1	PATIENTEN	26
2.2	KONTROLLGRUPPE	27
2.3	DER LYMPHOZYTENTRANSFORMATIONSTEST (LTT)	28
2.3.1	TESTPRINZIP	28
2.3.2	TESTADAPTATION	29
2.3.3	DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DES VERWENDETEN VERFAHRENS	30
2.4	LYMPHOZYTENDIFFERENZIERUNG	31
2.4.1	MESSPRINZIP	31
2.5	VIRUSLASTBESTIMMUNG	31
2.6	STATISTISCHE AUSWERTUNG	31

3	ERGEBNISSE	33
3.1	BESCHREIBUNG DER ZELLULÄREN IMMUNREKONSTITUTION UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER HELFERZELLFUNKTION IN EINER GRUPPE ANTIRETROVIRAL BEHANDELTER HIV-INFIZIERTER PATIENTEN	33
3.1.1	ALLGEMEINE CHARAKTERISIERUNG DER GRUPPEN	33
3.1.2	DIE PATIENTENGRUPPE	33
3.1.2.1	Erkrankungsstadium und Surrogatmarkeranamnese	33
3.1.2.2	Surrogatmarker aktuell	35
3.1.2.3	ART-Anamnese	36
3.1.3	LYMPHOZYTENPROLIFERATION	37
3.1.3.1	Mitogeninduzierte Lymphozytenaktivierung	37
3.1.3.2	Helferzellaktivität gegen HIV	38
3.1.3.3	Helferzellaktivität gegen Recallantigene	40
3.2	UNTERSUCHUNG DER ZELLULÄREN IMMUNREKONSTITUTION UND HELFERZELLFUNKTION IN ABHÄNGIGKEIT VOM IM RAHMEN EINER HAART VERWENDETEN THYMINANALOGON	46
3.2.1	CHARAKTERISTIKA DER PATIENTENGRUPPEN	46
3.2.1.1	Erkrankungsstadium und Surrogatmarkeranamnese	46
3.2.1.2	Surrogatmarker aktuell	48
3.2.1.3	ART-Anamnese	50
3.2.2	LYMPHOZYTENPROLIFERATION	52
3.2.2.1	Mitogeninduzierte Lymphozytenaktivierung	52
3.2.2.2	Helferzellaktivität gegen HIV	53
3.2.2.3	Helferzellaktivität gegen Recallantigene	54
4	DISKUSSION	56
4.1	VERGLEICH VON 100 HIV-INFIZIERTEN PATIENTEN MIT EINER GESUNDEN KONTROLLGRUPPE	56
4.1.1	PATIENTENCHARAKTERISIERUNG	56
4.1.2	MITOGENINDUZIERTER Lymphozytenproliferation	57
4.1.3	HIV-SPEZIFISCHE HELFERZELLAKTIVITÄT	58
4.1.4	HELPERZELLPROLIFERATION NACH STIMULATION MIT RECALLANTIGENEN	62
4.2	VERGLEICH ZWEIER PATIENTENGRUPPEN MIT UNTERSCHIEDLICHEN IM RAHMEN EINER HAART VERWENDETEN THYMINANALOGA	67
5	ZUSAMMENFASSUNG	71
6	ANHANG	74
6.1	ABKÜRZUNGEN	74
6.2	LITERATUR	75
6.3	LEBENS LAUF	98
6.4	DANKSAGUNG	99
6.5	EIDESSTÄTTLICHE ERKLÄRUNG	100

Untersuchungen zur zellulären Immunrekonstitution unter besonderer Berücksichtigung der Helferzellfunktion sowie deren Abhängigkeit vom verwendeten Thymidinanalogon in einer Gruppe antiretroviral behandelter, chronisch HIV-infizierter Patienten

1 Einleitung

1.1 Die HIV-Infektion

Im Sommer 1981 wurden erstmals ungewöhnliche Häufungen seltener Tumore und opportunistischer Infektionen bei zuvor gesunden, jungen homosexuellen Männern beschrieben [1, 2]. Bei allen Betroffenen wurde eine Verminderung der T-Helferzellen im Blut und somit ein zellulärer Immundefekt festgestellt [3, 4]. In den Jahren 1983/1984 konnte mit dem *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) ein Retrovirus als Ursache der als „Erworbenes Immunschwächesyndrom“ (*Acquired Immunodeficiency Syndrome* – AIDS) bezeichneten Erkrankung nachgewiesen werden [5, 6, 7]. Weltweit haben sich bisher mehr als 60 Millionen Menschen mit HIV infiziert, mehr als ein Drittel dieser ist bereits an den Folgen von AIDS verstorben [8].

Im Laufe der Infektion entwickelt sich ein progredienter Immundefekt, dessen zentrales Merkmal eine fortschreitende Verminderung der T-Helferzellzahl im Blut ist [9]. Der Begriff „AIDS“ beschreibt das Maximalbild der Immundefizienz infolge einer Infektion mit HIV und wird – zumindest im europäischen Raum – rein klinisch durch das Auftreten einer „AIDS-definierenden Erkrankung“ diagnostiziert. Diese „Marker-Erkrankungen“ sind von den US-amerikanischen *Centers for Disease Control* (CDC) in einem zuletzt 1993 revidierten Klassifikationssystem definiert worden [10]. Die fortschreitende Beeinträchtigung der Funktionsfähigkeit des Immunsystems führt zum Auftreten von opportunistischen Infektionen, malignen Tumoren und anderen Folgen gestörter Immunreaktionen [11].

Die Geschwindigkeit der Krankheitsprogression variiert individuell stark. Bekannt sind sowohl Patienten mit überdurchschnittlich schneller Progression – „*rapid progressors*“ – als auch solche mit einem über viele Jahre stabilen, nicht oder kaum progredienten Verlauf – „*long-term nonprogressors*“. Gründe hierfür liegen in viralen, vor allem jedoch in verschiedenen Wirtsfaktoren [9]. Insgesamt erkranken ohne antiretrovirale Therapie (ART) etwa 50 % der HIV-Infizierten innerhalb von 10 Jahren an AIDS [12, 13]. Ohne ART versterben die meisten Patienten innerhalb von 2 bis 4 Jahren nach Auftreten der ersten AIDS-definierenden Erkrankung [13].

1.2 Das HI-Virus

HIV ist ein RNA-Virus und gehört zum Genus *Lentivirus* innerhalb der Familie der Retroviren [14]. Sein Genom besteht aus drei essenziellen Strukturgenen – *env*, *gag* und *pol* – sowie akzessorischen Genen. Diese liegen in unterschiedlichen Leserastern [15].

1.2.1 Virale Gene und deren Produkte

Das *env*-Gen kodiert das Hüllprotein des Virus. Sein Genprodukt ist ein Präkursorprotein (*gp160*), welches durch zelluläre Endopeptidasen in eine extra- (*gp120*) und eine transmembranäre Untereinheit (*gp41*) gespalten wird, die mit Membranbestandteilen der Wirtszelle assoziiert sind [16].

Produkte des *gag*-Gens sind Proteine, die für die Aufrechterhaltung der viralen Integrität, die VerkapSELUNG des Virusgenoms und zur Unterstützung früher Schritte der Virusreplikation von Bedeutung sind [16]. Sie entstehen als Produkte proteolytischer Spaltung eines bei der Translation entstehenden *gag*-Polyproteins (*Pr55^{gag}*) unter dem Einfluss der viruskodierten HIV-Protease. Durch *gag* werden

kodiert: das membranassoziierte Protein MA (*p17*); das Kapsidprotein CA (*p24*), welches das „Core“, das innere Kerngehäuse des Virus bildet; das Nukleokapsidprotein NC (*p7*), welches u. a. an der Verkapselung der viralen RNA beteiligt ist sowie die Proteine *p1* und *p6*.

Drei verschiedene Enzyme werden durch das *pol*-Gen kodiert: die Reverse Transkriptase (*p66/51*), die Protease (*p10*) und die Integrase (*p32*) [15]. Vorläuferprotein dieser Enzyme ist ein *gag/pol*-Polyprotein, welches infolge einer Änderung des Leserasters bei der Translation der sich überlappenden *gag*- und *pol*-Gene entsteht. Auch hierbei ist die viruskodierte Protease für das Spalten des Präkursors verantwortlich [16].

Eine Reihe weiterer regulatorischer (*tat*, *rev*) und „akzessorischer“ Proteine (*nef*, *vif*, *vpr/vpx*, *vpu*) ist im Virusgenom kodiert. Sie haben für verschiedene Prozesse bei der Virusreplikation Bedeutung [16].

1.2.2 Der virale Replikationszyklus

Die Infektion der Wirtszelle wird eingeleitet durch die Bindung der extramembranären Untereinheit (*gp120*) des HIV-Hüllproteins an den primären zellulären Rezeptor, das CD4-Molekül. Nach einer Konformationsänderung von *gp120* erfolgt eine zweite Bindung desselben an einen zellulären Korezeptor. Als solche fungieren verschiedene Chemokinrezeptoren (v. a. CCR5 und CXCR4) auf der Oberfläche potentieller Wirtszellen. In der Folge kommt es zur Freilegung und Aktivierung des fusogenen Bereichs der transmembranären Untereinheit des HIV-Hüllproteins (*gp41*), welcher sich in der Wirtszellmembran verankert und zu einer Verschmelzung von Virus- und Zellmembran führt.

Nach der Befreiung des HIV-Core im Zytoplasma der Zielzelle schreibt die viruseigene Reverse Transkriptase das in Form einer RNA vorliegende Virusgenom in eine cDNA um. Komplexiert mit dem MA-Protein (*p17*) und der viruskodierten Integrase wandert das dadurch entstandene „Provirus“ in den Zellkern, wo es durch die HIV-Integrase in die Zellchromosomen integriert wird. In einer ruhenden Zelle kann HIV in dieser Form über lange Zeit latent bleiben.

In einer aktivierten Zelle erfolgt die Transkription und Translation der proviralen Gene. Die resultierenden Genprodukte formieren sich – parallel zu und nach ihrer Entstehung infolge Spaltung der Präkursorproteine durch die viruseigene Protease (*gag*, *pol*) und zelluläre Endopeptidasen (*env*) – zusammen mit transkribierter viraler RNA zu neuen Virionen. Beim Ausknospen („*budding*“) durch die Wirtszellmembran erhalten die Viren eine Hülle aus derselben. Im Rahmen der folgenden Reifung wird die Spaltung der Präkursoren durch die HIV-Protease abgeschlossen und die *gag*-Proteine organisieren sich innerhalb des Virions neu. Dieser Vorgang ist für die Infektiosität essenziell [15].

1.3 Immunpathogenese der HIV-Infektion

Zum besseren Verständnis der Vorgänge, die an der Zerstörung des Immunsystems sowie an dessen Rekonstitution im Rahmen einer antiretroviralen Therapie beteiligt sind, sollen Untersuchungsergebnisse und Modelle zur Immunpathogenese im Folgenden kurz dargestellt werden:

Die progrediente Verminderung der Anzahl und Funktion CD4-positiver T-Zellen im Blut ist eines der Hauptmerkmale der HIV-Infektion [12, 17]. Jedoch ist bis heute nicht abschließend geklärt, wodurch diese ausgelöst wird [18]. Derzeit existieren zwei Haupthypothesen [17, 19]: Zum einen wird postuliert, dass das Virus auf seine Wirtszellen zytopathisch wirkt und somit deren Untergang herbeiführt. Zum anderen existiert die Annahme, dass HIV Immunreaktionen auslöst, die indirekt zu einer Schädigung – auch nicht produktiv infizierter – Zellen führen. Beide Hypothesen basieren auf einer Vielzahl von Beobachtungen und Erkenntnissen.

1.3.1 Der „zytopathische Effekt“

Grundlage für die Annahme direkt schädigender Effekte des Virus auf seine Wirtszellen waren Beobachtungen bei der Isolation des Erregers *in vitro* [5, 7, 18]. Hierbei fanden sich ausgeprägte zytopathische Effekte in der Zellkultur mit einem exquisiten Tropismus für CD4-positive T-Zellen. Es ist nahe liegend, gleichartige Effekte auch für die vermutete Helferzellzerstörung *in vivo* anzunehmen. Zellschädigende Effekte wurden für verschiedene virale Proteine beschrieben. So wurde gezeigt, dass *gp120/gp41* die Bildung von Synzytien mit nachfolgendem Zelltod induzieren kann [20, 21]. Auch die intrazelluläre Akkumulation nicht chromosomal integrierter HIV-cDNA wirkt zytopathisch [12].

1.3.2 Die indirekte „immunvermittelte“ Schädigung

Studienbasierte Modellrechnungen ergaben, dass mononukleäre Zellen im Blut (PBMCs) nur in einer Frequenz von 1:10.000 provirale DNA enthalten und nur in 1:100.000 produktiv infiziert sind [22]. Es wurde gefolgert, dass selbst unter Berücksichtigung der Tatsache, dass diese Häufigkeiten in lymphatischen Geweben zehnfach höher sind, ein Zelluntergang produktiv infizierter Zellen infolge zytopathischer Effekte nicht ausreichen kann, das Ausmaß des Zelluntergangs im Rahmen der HIV-Infektion zu erklären [22].

Zahlreiche Untersuchungen und Modelle beschreiben, wie es zu einer indirekten – durch die Anwesenheit von HIV ausgelöst – jedoch durch immunpathogenetische Prozesse vermittelten Schädigung CD4-positiver T-Zellen kommen kann. Hierzu zählen die Abtötung infizierter Helferzellen durch HIV-spezifische zytotoxische T-Lymphozyten (CTL) [23] und NK-Zellen [12]. Die zytotoxische Wirkung Letzterer kommt dabei nach Bindung spezifischer Antikörper im Sinne einer *antibody-dependent cellular cytotoxicity* (ADCC) zustande. Ferner beschrieben sind die Auslösung von Autoimmunreaktionen gegen T-Helferzellen, welche durch Sequenzhomologien zwischen HIV-*gp41/gp120* und MHC-Klasse-II-Proteinen ausgelöst werden [12, 24] sowie deren inadäquate Aktivierung mit nachfolgender aktivierungsinduzierter Apoptose [19, 25, 26, 27]. Insbesondere dem letztgenannten Mechanismus wird seitens zahlreicher Autoren besondere Bedeutung beigemessen.

1.3.2.1 Apoptose

Mit dem Begriff „Apoptose“ wird eine Form des Zelltods bezeichnet, die von der „Nekrose“ klar abgrenzbar ist [28]. Sie geht mit einer Kondensation des Zellkerns sowie mit der Fragmentation zellulärer DNA einher [26, 27]. Es handelt sich um einen physiologischen Vorgang, welcher u. a. für die Elimination autoreaktiver Lymphozyten während der T-Zellreifung im Thymus [25] sowie bei der Gegenregulation klonaler Lymphozytenproliferation nach erfolgreicher Elimination von Infektionserregern [29] elementar ist. Dieser „programmierte Zelltod“ stellt auch eine effektive Möglichkeit für den Organismus dar, virusinfizierte Zellen zu beseitigen und damit eine Infektion einzudämmen [30].

Diverse Arten von Stimuli sind in der Lage, durch Aktivierung verschiedener, sich teilweise überlappender Signalkaskaden die Apoptose einer Zelle auszulösen. So wurden Liganden (TNF-alpha, FasL, TRAIL) identifiziert, welche durch die Bindung an Zelloberflächen-Rezeptoren zur Aktivierung dieser Kaskaden führen [31]. Die Anwesenheit virusstämmiger intrazellulärer doppelsträngiger RNA [30], beschädigte zelleigene DNA [31] und Signale zytotoxischer T-Zellen [31] sind einige weitere Auslöser. Zytokine können den Prozess fördernd (z.B. TNF-alpha, IL-10, IFN-gamma) oder hemmend (z.B. IL-2, IL-12) beeinflussen [27].

Im Jahr 1991 publizierten Ameisen und Capron eine Hypothese, nach der eine vermehrte Apoptose reifer T-Lymphozyten infolge inadäquater Stimulation derselben die Ursache der HIV-induzierten T-Zell-Depletion ist [25]. Sowohl die Induktion einer defizienten und deletär wirkenden Signaltransduktion in Lymphozyten, ausgelöst durch virale Proteine wie *gp120*, als auch eine unvoll-

ständige und inadäquate Aktivierung der T-Zellen durch funktionsgestörte antigenpräsentierende Zellen (APCs) hielten die Autoren für mögliche Mechanismen. Später wurde nachgewiesen, dass PBMCs HIV-Infizierter in der Tat signifikant häufiger einem apoptotisch bedingten Zelltod unterliegen als jene gesunder Kontrollpersonen. Die Apoptoserate steigt durch Stimulation dieser Zellen über den T-Zell-Rezeptor (TCR) weiter an. Zudem fand sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem klinischen Stadium der HIV-Infektion und dem Ausmaß der Apoptose, eine inverse Korrelation dieser zur Helferzellkonzentration im Blut sowie eine deutlich geringere Apoptoserate bei „*long-term nonprogressors*“ im Vergleich zu „*rapid progressors*“. Auch CD8-positive T- sowie B-Zellen sind hiervon betroffen. Aktivierte und Gedächtnis- („*memory-*“) Zellen unterliegen diesem Zelltod-Prozess stärker als ruhende und naive. Es wurde gefolgert, dass eine Aktivierung des Immunsystems der maßgebliche Grund für die Induktion und Aufrechterhaltung der gesteigerten Apoptose ist [29]. In den Lymphknoten HIV-Infizierter gehen vor allem nicht produktiv infizierte „*bystander-Lymphozyten*“ infolge Apoptose zu Grunde [26].

Zu den Pathomechanismen, die zur Apoptose reifer T-Zellen im Rahmen der HIV-Infektion führen, existieren verschiedene Befunde und Modelle. Zum einen können verschiedene virale Proteine eine solche auslösen. So ist von HIV-*tat* bekannt, dass es Zellen für die Apoptose sensibilisieren kann [31]. Es kann zudem von infizierten Zellen sezerniert und von benachbarten endozytiert werden, was den programmierten Zelltod nicht infizierter „*bystander-Zellen*“ erklärbar macht [31]. HIV-*gp120* ist im Stande, T-Helferzellen durch Kreuzvernetzung („*crosslinking*“) von CD4-Rezeptoren für eine Apoptose im Anschluss an eine Stimulation des T-Zell-Rezeptors zu „*primen*“ [27, 31]. HIV-*vpr* kann einen Zellzyklus-Arrest in der G2-Phase mit nachfolgender Apoptose induzieren [31]. Schließlich wurden auch für das HIV-*nef*-Protein apoptosefördernde Effekte auf CD4- und CD8-positive T-Zellen nachgewiesen [31].

Antigenpräsentierende Zellen scheinen in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle zu spielen. Das „*CD4-crosslinking*“ führt nur in Anwesenheit von APCs zur Apoptose [27, 32]. HIV-infizierte Monozyten/Makrophagen sind in der Lage, auch in T-Helferzellen HIV-negativer Probanden *in vitro* Apoptose zu induzieren [33]. Dieser Prozess ist spezifisch für CD4-positive T-Lymphozyten und erfordert Zell-Zell-Kontakte. Funktionelle Defekte der APCs wurden als wichtiges pathogenetisches Moment postuliert [27, 31]. Es wird u. a. vermutet, dass HIV-*gp120* als „*Primer*“ wirkt und die Apoptose durch eine nachfolgende inadäquate Stimulation der T-Zellen infolge einer defekten Funktion kostimulatorischer Moleküle auf der Oberfläche HIV-infizierter APCs induziert wird [34].

Besondere Bedeutung wird von mehreren Autoren dem durch Fas (CD95) vermittelten Signalweg zur Apoptoseinduktion zugesprochen. Dieser spielt eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung der normalen T-Zell-Homöostase [27, 30, 35]. Sowohl CD4-, als auch CD8-positive T-Zellen HIV-Infizierter zeigen eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber einer hierdurch induzierten Apoptose [28]. Der Anteil von T-Lymphozyten, welche Fas exprimieren, ist bei HIV-Infizierten erhöht, korreliert direkt mit der Krankheitsprogression und invers mit der Helferzellzahl [28, 35]. Zugleich wurde eine erhöhte Expression von Fas-Ligand (FasL) auf der Oberfläche von PBMCs HIV-Infizierter nachgewiesen [28]. Dies kann die apoptosefördernde Wirkung von APCs (mit-)erklären. HIV-*nef*, HIV-*gp120* und HIV-*tat* können zu einer verstärkten Expression von Fas bzw. Fas-L führen [31].

1.3.2.2 Immunaktivierung

Trotz Immundefizienz ist das Fortschreiten der Erkrankung paradoxerweise durch einen zunehmenden Grad der Immunaktivierung gekennzeichnet [19]. Die gezielte Aktivierung von Immunzellen ist zwar für eine effektive Bekämpfung pathogener Erreger essenziell, schafft jedoch gleichzeitig Bedingungen, die zu einer Verbesserung der HIV-Replikation führen. Sie trägt zur Krankheitsprogression bei und verkürzt das Überleben der Patienten [36]. So korreliert beispielsweise die Überlebenschancen

lichkeit in fortgeschrittenen Stadien der HIV-Infektion besser mit dem Ausmaß der CD38-Expression auf CD8-positiven T-Zellen als mit der Viruslast [36]. Die verstärkte Expression dieses Aktivierungsmarkers ist mit einer Verminderung der Helferzellkonzentration im Blut assoziiert [37]. Im Tiermodell führt SIV bei einer Vielzahl von Affenarten zu einem AIDS-ähnlichen Immundefekt [38]. Einige Affenarten erkranken jedoch nicht, obwohl sie hochvirämisch sind [39]. Bei Letzteren kommt es jedoch nicht zu einer ausgeprägten Immunaktivierung. Des Weiteren fanden sich bei ihnen keinerlei Hinweise auf eine erhöhte Apoptose von *bystander*-Zellen [40].

HIV repliziert – verglichen mit den unreiferen und immunologisch ruhenderen naiven T-Zellen (CD45RA+CD62L+) – vorzugsweise in durch Aktivierung ausgereifteren *memory*-T-Zellen (CD45RO+) [41]. Der virale Replikationszyklus ist auf das Engste mit dem Aktivierungsgrad der Wirtszelle verbunden. Das Eindringen in die Zielzellen ist abhängig von der Expression verschiedener Rezeptoren. So ist beispielsweise die Expression von Chemokinrezeptoren – elementaren Korezeptoren für den Viruseintritt – streng an die Zellaktivierung gebunden [36]. In ruhenden Zellen ist die komplette reverse Transkription des HIV-Genoms nicht möglich. Dies gelingt erst nach Induktion zellulärer Faktoren wie NF-AT infolge einer Zellaktivierung [36]. Die Transkription proviraler DNA ist von der Aktivität zellulärer Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B abhängig. Diese werden beispielsweise durch proinflammatorisch wirksame Zytokine wie TNF-alpha etc. induziert [36].

Wenn HIV in einer aktivierten T-Zelle unter optimalen Bedingungen replizieren kann, so wirkt es letztlich auf die Wirtszelle und Nachbarzellen – direkt oder indirekt – deletär [17]. Ganz anders ist die Situation in ruhenden CD4-positiven T-Zellen. In diesen findet keine oder wenig Virusreplikation statt [42]. Sie können – trotz Anwesenheit proviraler DNA – sehr langlebig sein, was ein Hauptproblem für die Viruseradikation darstellt [43]. Nach ihrer Aktivierung kann HIV in ihnen aktiv replizieren [17].

Auch nicht produktiv infizierte, jedoch aktivierte und infolgedessen proliferierende T-Zellen sterben physiologischerweise nach einigen Runden der Mitose durch Apoptose [44]. Die kontinuierliche Aktivierung naiver T-Zellen führt zu deren verstärktem „Verbrauch“ infolge aktivierungsinduzierter Apoptose oder zunehmender Differenzierung zu *memory*-Zellen [44]. So ist mit Fortschreiten der Erkrankung eine Abnahme des Anteils ruhender naiver (CD45RA+CD62L+) und eine Zunahme aktivierter *memory/effector*-T-Zellen (CD45RO+) festzustellen [18]. Es konnte zudem nachgewiesen werden, dass *memory*-T-Helferzellen deutlich stärker als naive Zellen durch Apoptose zu Grunde gehen [45]. Es kommt es zu einer zunehmenden Störung und Verminderung des TCR-Repertoires [46]. Viele der persistierenden Zellen sind funktionsgestört [47].

Die Mechanismen, welche zu dieser allgemeinen Immunaktivierung führen, sind nur zum Teil bekannt [19]. Postuliert wurden Superantigen-Eigenschaften einzelner HIV-Peptide [48] und direkt T-Zell-aktivierende Wirkungen von HIV-Proteinen wie *gp120*, *nef* und *tat* sowie von *gp120*-Anti-*gp120*-Immunkomplexen [19]. Auch der Ausschüttung proinflammatorisch wirksamer Zytokine – als Reaktion auf eine Auseinandersetzung mit HIV, anderen Erregern oder z.B. infolge von Immunisierungen – kommt diesbezüglich eine bedeutende Rolle zu [36].

1.3.2.3 Zytokine

Zytokine sind an der Immundysregulation beteiligt. Beispielsweise produzieren PBMCs HIV-Infizierter – verglichen mit denen Immungesunder – vermindert IL-2, IFN-gamma und IL-12, jedoch vermehrt IL-4 und IL-10 [19], TNF-alpha, IL-6 und IL-1 [12]. Proinflammatorisch wirksame Zytokine (TNF-alpha, IL-1, IL-2 und IL-6 etc.) fördern die Replikation von HIV [36]. Anhand des Musters sezernierter Zytokine lassen sich unterschiedliche Subtypen von T-Helferzellen – TH₁ und TH₂-Zellen – unterscheiden [47].

Es wurde postuliert, dass es im Rahmen des Fortschreitens der Erkrankung zu einem *Shift* von TH₁- zu TH₂-typischen Zytokinen (und Zellen?) kommt, welcher mit einem Progress der Immundysfunktion einhergeht [47]. Mehrere Studien fanden zuvor erhöhte Spiegel von „TH₂-Zytokinen“ bei Patienten, die eine Progression zu AIDS haben [47]. Ein TH₁-Zytokinprofil wirke dagegen protektiv gegen eine Progression [47]. In anderen Untersuchungen war ein fortschreitender Verlust von „TH₁-Zytokinen“ prädiktiv für einen Abfall der Helferzellzahlen [49] und korrelierte mit der Zeit bis zum Auftreten AIDS-definierender Erkrankungen sowie mit der Zeit bis zum Tod der Patienten [50]. Es gibt Hinweise darauf, dass TH₁-Zellen empfindlicher für Apoptose sind als TH₂-Zellen [51, 52]. Demgegenüber sollen TH₂-Zellen empfänglicher für eine produktive Infektion durch HIV sein [53]. Diese Beobachtungen lassen es denkbar erscheinen, dass die beiden Subtypen unterschiedlich empfindlich für direkte bzw. indirekte Mechanismen der HIV-Pathogenese sind [19].

Der Tatsache Rechnung tragend, dass auch Nicht-T-Zellen eine bedeutende Quelle von Zytokinen sind, veränderten die Autoren der „Zytokinshift-Hypothese“ später ihre Terminologie und sprachen von „Typ-1-Antworten“, welche mit normalen oder erhöhten Spiegeln von IL-2, IL-12 und IFN-gamma einhergehen und „Typ-2-Antworten“, die zu erhöhten Spiegeln von IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 und IL-13 führen [50]. Somit lässt sich vermuten, dass der beobachtete *Shift* im Zytokinmuster [47] u. a. abhängig ist von der Art aktuell vorherrschender Mechanismen der HIV-Pathogenese [19].

Zudem konnte gezeigt werden, dass „Typ-1-Zytokine“ die aktivierungsinduzierte Apoptose in T-Zellen hemmen, währenddessen diese durch „Typ-2-Zytokine“ gefördert wird [54]. So führt beispielsweise das „Typ-1-Zytokin“ IL-2 zur Induktion antiapoptotisch wirksamer zellulärer Regulatorproteine wie *bcl-2* [27], wohingegen das proinflammatorisch wirksame „Typ-2-Zytokin“ TNF-alpha direkt apoptosefördernd wirkt. Im Rahmen der HIV-Infektion vermehrt gebildete, proinflammatorisch wirksame Zytokine wie IL-1 und TNF-alpha scheinen zudem wesentlich an der letztlich deletär wirkenden Immunaktivierung beteiligt zu sein [36].

1.3.3 T-Zell-Dynamik

Im Verlauf der Infektion kommt es zu charakteristischen Veränderungen der Zusammensetzung des T-Zell-Kompartiments im Blut [55]: Die Konzentration CD4-positiver Zellen sinkt progredient ab, die CD8-positiver nimmt bis kurz vor dem Ausbruch von AIDS zu. Im Terminalstadium der Infektion sinken dann auch diese ab [56]. Insgesamt bleibt bis zu einem Zeitraum von etwa 18 Monaten vor dem Auftreten von AIDS die Gesamtzahl von T-Zellen (CD3+) im Blut relativ konstant, bevor diese mit weiterer Krankheitsprogression dann auch zunehmend absinkt [56].

Die Anzahl CD4-positiver *memory*-T-Zellen nimmt initial aufgrund peripherer Expansion zu, sinkt dann aber schnell und zunehmend ab. In beiden T-Zell-Kompartimenten – CD4- und CD8-positiven – beginnt kurz nach der Infektion eine Abnahme des Anteils naiver Zellen [57]. Zusammenfassend kommt es also zu einer progredienten Depletion naiver CD4- und CD8-positiver T-Zellen sowie von *memory*-T-Helferzellen, während die Konzentration CD8-positiver T-Zellen mit einem *memory*-Phänotyp lange Zeit zunimmt [57], bis auch diese Zellen im Terminalstadium absinken.

Es wird davon ausgegangen, dass naive Zellen nur sehr wenig ohne Veränderung ihres CD45-Phänotyps proliferieren [55, 58]. Somit sind Vergrößerungen des Pools naiver T-Zellen – mit Ausnahme dieser geringen Proliferation und potentiell möglicher, in ihrem Ausmaß jedoch bisher ungeklärter Reversion der CD45R0- in die CD45RA-Isoform [59] – vorwiegend durch Neubildung neuer Zellen aus Progenitoren bedingt [55]. Eine Zunahme des Pools an *memory*-Zellen kann entweder aus einer Proliferation existenter *memory*-Zellen oder durch Aktivierung naiver Zellen mit konsekutiver Änderung des CD45-Phänotyps resultieren [55].

Prinzipiell ließe sich der im Blut nachweisbare Mangel an CD4-positiven T-Zellen auf drei Arten erklären: Durch die Zerstörung existenter Zellen, durch eine gestörte Produktion neuer Zellen oder durch eine Umverteilung aus dem Blut in lymphatische Organe [18]. Für jeden dieser Faktoren gibt es Hinweise und Forschungsergebnisse:

1.3.3.1 Zerstörung reifer T-Zellen

Wesentliche Unterstützung der These vom verstärkten Untergang reifer T-Helferzellen als vorherrschendem Mechanismus kam von zwei Studien aus dem Jahr 1995 [60, 61]. Auf der Grundlage von Messungen und mathematischen Modellen wurde postuliert, dass im Rahmen der unbehandelten HIV-Infektion jeden Tag etwa 2×10^9 T-Helferzellen als Folge der HIV-Replikation zerstört werden. Aus den beobachteten Unterschieden in der Lebenszeit virusproduzierender und latent infizierter Zellen folgerten die Autoren, dass der Zelluntergang direkt durch die Virusexpression in Wirtszellen – und somit durch zytopathische Effekte – ausgelöst wird. Dies spricht gegen die „*innocent bystander*-Theorie“, der zufolge nicht infizierte, den infizierten Zellen benachbarte Lymphozyten infolge immunvermittelter, indirekter Mechanismen zu Grunde gehen [61]. Entscheidend für die Lymphozyten-depletion ist nach Ansicht der Forscher eine gesteigerte Zerstörung von Helferzellen – nicht eine gestörte Produktion derselben. Sie etablierten die Theorie eines „*high turnover*“, die von einer stark gesteigerten, HIV-induzierten Zerstörung reifer T-Helferlymphozyten ausgeht. Zunächst komme es jedoch – zum Erhalt der Homöostase – zu einer stark gesteigerten Proliferation reifer sowie zur maximalen Neubildung naiver Zellen aus Progenitoren. Der Nettoverlust an CD4-positiven T-Zellen sei dann jedoch schließlich die Folge einer Erschöpfung dieser regenerativen Mechanismen.

Dem entgegen stehen Untersuchungsergebnisse zur Telomerlänge bei CD4- und CD8-positiven T-Zellen HIV-Infizierter [62]. In diesen konnten keine signifikanten Unterschiede in der Telomerlänge von T-Helferzellen HIV-infizierter und immungesunder Personen nachgewiesen werden. Da die Länge der Telomere mit zunehmenden Mitosezyklen der Zelle abnimmt, spricht dieser Befund gegen die oben postulierte maximal erhöhte Proliferation reifer Zellen [44]. Wenngleich eine exzessive, maximal gesteigerte Proliferation reifer T-Helferzellen damit weitgehend widerlegt wurde, konnten im Rahmen der HIV-Infektion dennoch sowohl eine Abnahme der Überlebenszeiten reifer CD4- und CD8-positiver T-Zellen [63], als auch eine moderate Erhöhung der Zellteilungsrate reifer T-Helferzellen, die proportional zur HIV-Viruslast ansteigt, nachgewiesen werden [44, 64, 65]. *Memory*-T-Zellen proliferieren stärker als naive [55, 64].

Zudem ist die Mitoseaktivität interessanterweise weitaus stärker bei CD8-positiven T-Zellen gesteigert [65]. Diese weisen auch – im Gegensatz zu den T-Helferzellen – eine deutliche Verminderung der Telomerlänge auf [44, 62]. Hieraus erklärt sich die starke Zunahme CD8-positiver *memory*-T-Zellen (CD45R0+) im Laufe der Erkrankung [55, 57]. Nach Beginn einer HAART kommt es – wiederum entgegen der Erwartungen der „*high turnover*-Theorie“, die von einer maximal gesteigerten Proliferation ausgeht – zunächst, bis zum Erreichen einer normalen Helferzellkonzentration, zu einer moderaten Zunahme proliferierender CD4-positiver T-Zellen. Danach nimmt die Proliferationsrate wieder ab [65]. Im Gegensatz hierzu sinkt die Teilungsrate und die Gesamtzahl CD8-positiver T-Zellen unter HAART ab [65]. Zusammenfassend legen diese Befunde nahe, dass es nicht zu einer „Erschöpfung“ der maximal gesteigerten Reproduktionskapazität für T-Helferzellen in der Gesamtheit, sondern eher zu einer gestörten Nachbildung speziell naiver T-Helferzellen kommt [44, 55, 65].

1.3.3.2 Gestörte Nachbildung von T-Zellen

Zur T-Zell-Erneuerung – und somit zur Aufrechterhaltung der T-Zell-Homöostase – existieren *per se* zwei Mechanismen: Zum einen können reife T-Zellen proliferieren. Zum anderen können neue

(„naive“) T-Zellen aus knochenmarkstämmigen Progenitorzellen unter Mitwirkung des Thymus nachgebildet werden [55, 66]. Der Anteil beider Mechanismen ist abhängig vom Alter der Individuen und vom Profil des verbleibenden T-Zell-Pools.

Die vorherrschende Sichtweise geht davon aus, dass die Helferzellentwicklung in den frühen Lebensjahren stark durch die Nachbildung naiver Lymphozyten aus Vorläuferzellen geprägt ist. Mit zunehmendem Alter gewinnt dann vornehmlich die Expansion reifer Zellen an Bedeutung, während die Thymusaktivität nachlässt [55, 67]. Dies zeigt sich beispielsweise an einer deutlichen Altersabhängigkeit in der Regeneration naiver T-Helferzellen (CD4+CD45RA+) nach myeloablativer Chemotherapie: Bei Jüngeren findet diese schnell und ausgeprägt statt, wohingegen sie bei Älteren stark verzögert abläuft und unvollständig bleibt [68]. Das Ausmaß der Nachbildung naiver Zellen korreliert dabei direkt mit der Thymusfunktion [55].

1.3.3.2.1 Knochenmark

HIV hat nicht nur auf reife T-Zellen, sondern auch auf deren Vorläuferzellen im Knochenmark – direkte oder indirekte – pathogene Effekte. Knochenmarkstammzellen sind durch HIV infizierbar [12]. Untersuchungen bei Patienten haben sowohl gestörte Ausreifungen einzelner Blutzelllinien als auch Verminderungen hämopoetischer Stammzellen (CD34+) infolge direkter Infektion und/oder Apoptose nachgewiesen [12, 18, 44]. Auch Veränderungen der Stromazellen – und damit Änderungen der Mikroumgebung des Knochenmarks – wurden beschrieben [12, 55]. Es gibt also mehrere Hinweise auf eine HIV-induzierte Verminderung der Knochenmarkfunktion, die zu einer mangelnden Bereitstellung von Progenitorzellen für die Reifung naiver T-Zellen führen könnte [69, 70].

1.3.3.2.2 Thymus

Verglichen mit HIV-negativen Kontrollpersonen gleichen Alters ist die Thymusfunktion HIV-Infizierter gestört und der „output“ naiver CD4- und CD8-positiver T-Zellen vermindert [71]. Das Virus schädigt sowohl die Thymusstruktur als auch verschiedene intrathymische T-Vorläuferzellen [72, 73, 74, 75]. Wie oben erwähnt, nimmt die Frequenz zirkulierender naiver (CD45RA+CD62L+) CD4- und CD8-positiver T-Zellen mit Fortschreiten der Infektion ab [18, 55, 57]. Parallel dazu sinkt im Blut die Frequenz von Zellen, die so genannte „TREC“ als Marker für eine kurz zuvor stattgefundenem Emigration aus dem Thymus enthalten [71, 76]. TRECs (*T cell receptor excision circles*) entstehen beim „rearrangement“ von Genen für den TCR während der T-Zell-Reifung im Thymus. Es besteht eine signifikante Korrelation zwischen der Menge nachweisbaren Thymusgewebes und der Konzentration zirkulierender naiver T-Zellen [77].

In frühen Stadien der Infektion konnte jedoch auch eine – verglichen mit HIV-negativen Kontrollpersonen – Zunahme des Thymusgewebes nachgewiesen werden [77]. Dieses scheint funktionsfähig und an der kompensatorischen Nachbildung von T-Zellen beteiligt zu sein [18, 77]. Einige Autoren gehen jedoch davon aus, dass der Thymus nur sehr eingeschränkt in der Lage ist, sich im Rahmen homöostatischer Mechanismen an höhere Anforderungen zu adaptieren [44].

Der *output* im Thymus gebildeter T-Zellen nimmt mit zunehmendem Alter ab [67]. Es wurde postuliert, dass während der Embryonalentwicklung und in frühen Lebensjahren der bedeutendste Teil der naiven T-Zellen angelegt werden, die aufgrund ihrer Langlebigkeit dann im Laufe des Lebens „bedarfsgerecht“ zu Effektorzellen ausreifen können [44]. Ein Zustand chronischer Immunaktivierung – wie er der HIV-Infektion immanent ist – führe dann zu einem verstärkten „Aufbrauchen“ dieses Pools naiver T-Zellen und zu deren Umwandlung in Effektor- und *memory*-Zellen.

Da aktivierte und *memory*-Zellen im Rahmen der HIV-Infektion bevorzugt untergehen, ließe sich so nicht nur eine Depletion des gesamten Helferzellpools, sondern teilweise auch eine fortschreitende

Schädigung des TCR-Repertoires erklären. Letztere wäre beispielsweise durch eine verschieden stark ausgeprägte Aktivierung unterschiedlicher Zellklone infolge unterschiedlich starker Präsenz verschiedener Antigene bedingt [44, 55].

1.3.3.3 Umverteilung in lymphatische Gewebe

Ein Großteil der ruhenden T-Helferzellen ist nach Ansicht von Cloyd et al. [78] nicht produktiv, jedoch abortiv infiziert. Das bedeutet, dass HIV in diese Zellen zwar eindringen, sich aber nicht als Provirus integrieren kann. Dies führe jedoch zu einer verstärkten Expression von „*homing*-Rezeptoren“ (CD62L u. a.) auf der Oberfläche infizierter Lymphozyten. Die Autoren postulieren, dass es konsekutiv zu einer vermehrten Migration dieser Zellen aus dem Blut in die lymphatischen Gewebe kommt. Viele Zellen seien infolge o. g. Vorgänge verstärkt anfällig für Apoptose. Beim Durchtritt durch die „*high endothelial venules*“ erhält ein Großteil dieser dann zusätzliche Signale, die letztlich die Apoptose einleiten und zum Zelluntergang beitragen.

Es wurde gezeigt, dass sich aktivierte CD4-positive T-Zellen nach antigeninduzierter Stimulation infolge verstärkter Expression von *homing*-Rezeptoren in lymphatischen Organen ansammeln, während aktivierte CD8-positive T-Zellen in die Zirkulation auswandern [18]. Mögliche Folge ist eine Inversion der CD4/CD8-Ratio im Blut [18]. Denkbar wäre zudem, dass eine chronische Stimulation durch in den Lymphknoten retiniertes HIV zu einer dauerhaften Veränderung der Zusammensetzung zirkulierender Lymphozyten im Blut führen kann, ohne dass es zu einer Verminderung des Pools CD4-positiver T-Zellen im gesamten Körper kommt [18]. Tatsächlich ist das Ausmaß der Helferzellverminderung im lymphatischen Gewebe weniger stark ausgeprägt als im Blut [55]. Auch sind in frühen, asymptomatischen Phasen der Infektion die Anzahl CD4-positiver T-Zellen und das TCR-Repertoire in lymphatischen Geweben oft weitgehend erhalten, obwohl diese im peripheren Blut bereits eingeschränkt sind [59].

Reziproke Effekte treten nach Beginn einer antiretroviralen Therapie auf. Das verminderte Antigenangebot – infolge sinkender Viruslast – führt zu einer nachweisbaren Verminderung der Immunaktivierung und zu einer geringeren Expression von Adhäsionsmolekülen (ICAM-1, VCAM-1 u. a.), welche an der Sequestration von Lymphozyten beteiligt sind, in den lymphatischen Geweben [43, 79]. Nettoeffekt ist eine teilweise Umverteilung der ehemals sequestrierten T-Helferzellen in die Zirkulation. Tatsächlich sind sowohl Verminderungen der Größe als auch des Zellgehalts von Lymphknoten unter HAART beschrieben [18, 79].

1.3.4 Lymphknotenpathologie

Charakteristische Veränderungen der Lymphknotenstruktur treten parallel zum Fortschreiten der Erkrankung auf [18]. So kommt es zu einer Involution der Keimzentren, einer zunehmenden Destruktion des Netzwerks folliculär dendritischer Zellen (FDC) und zum Ersatz lymphatischen Gewebes durch Fett- und Bindegewebe [12]. Nicht zuletzt hierauf sind Störungen der antigeninduzierten Zellexpansion und somit der Helferzellfunktion zurückzuführen, da die fein abgestimmte räumliche Anordnung von Stromazellen, APCs und Lymphozyten, die für ein optimales Zusammenspiel der beteiligten Zellgruppen essenziell ist, nicht mehr gewährleistet ist [12, 18].

1.3.5 Funktionelle Defekte von Immunzellen

Zahlreiche Funktionsstörungen verschiedener Zellen des Immunsystems wurden bei HIV-Infizierten beschrieben. Hierzu zählen u. a. eine verminderte zytolytische Aktivität von NK-Zellen [80, 81], eine gestörte Funktion von zytotoxischen T-Zellen (CTL) [82, 83, 84, 85] sowie Funktionsdefekte von B-Zellen [86, 87], APCs und T-Helferzellen. Im Folgenden sollen funktionelle Defekte der beiden

letzten genannten Zellarten gesondert besprochen werden. Zuvor folgt jedoch eine Übersicht der Vorgänge, die zur Aktivierung von T-Zellen führen:

1.3.5.1 Antigen-spezifische Aktivierung von T-Lymphozyten

Körperfremde Proteine und Mikroorganismen werden nach Eindringen in den Organismus durch antigen-präsentierende Zellen (APCs) phagozytiert. Die internalisierten Antigene werden daraufhin in Endosomen/Lysosomen prozessiert. Hierbei werden Proteinantigene durch zelluläre Proteasen in Peptide von 10 bis 30 Aminosäuren Länge gespalten. Diese assoziieren sich in der Folge intrazellulär vorwiegend mit Klasse-II-MHC-Molekülen. Das antigene Peptid ist jetzt in der „Peptid-Bindungsgrube“ des Klasse-II-MHC-Moleküls gebunden. Die Komplexe aus MHC-Molekülen und prozessierten Peptidantigenen werden schließlich auf der Zelloberfläche exprimiert. Extrazelluläre Antigene werden somit auf diesem Weg vorwiegend – wenn auch nicht ausschließlich – auf Klasse-II-MHC präsentiert.

Demgegenüber steht die Präsentation intrazellulär gebildeter Proteinantigene, etwa Tumor- oder Virusantigenen. Diese werden ebenfalls intrazellulär prozessiert, dann aber überwiegend mit Klasse-I-MHC-Molekülen assoziiert. Sie münden also meist in einen anderen – von der Prozession und Präsentation extrazellulärer Proteine weitgehend getrennten – intrazellulären Stoffwechselweg ein und werden als 9-11 Aminosäuren lange Peptide auf der Oberfläche von Klasse-I-MHC-Molekülen auf der Zellmembran präsentiert. Zusammenfassend werden also exogen synthetisierte bzw. extrazellulär vorliegende Proteinantigene vorwiegend auf Klasse-II-MHC-Molekülen präsentiert, endogen/intrazellulär synthetisierte Proteinantigene hingegen hauptsächlich auf Klasse-I-MHC-Molekülen [88].

T-Helferzellen (CD4+) erkennen prozessierte und präsentierte Proteinantigene durch Bindung ihres T-Zell-Rezeptors (TCR) an Klasse-II-MHC-Peptid-Komplexe auf der Oberfläche antigen-präsentierender Zellen. Die Restriktion dieser Antigenerkennung auf MHC-Klasse-II ist wesentlich durch die physiologische Funktion des CD4-Moleküls – die Bindung an diese Art der MHC-Moleküle – bedingt. Hingegen bindet das CD8-Molekül an MHC-Moleküle der Klasse I und bedingt eine Restriktion der Antigenerkennung CD8-positiver T-Zellen auf mit Klasse-I-MHC-Molekülen assoziiertes prozessiertes Antigen. T-Helferzellen „erkennen“ also vorwiegend extrazelluläre, exogen synthetisierte Proteinantigene nach Prozession und Präsentation durch APCs in Assoziation mit Klasse-II-MHC-Molekülen. Hingegen werden CD8-positiv T-Zellen ganz überwiegend durch endogen bzw. intrazellulär synthetisierte Proteinantigene aktiviert, die nach ihrer Prozession in Verbindung mit Klasse-I-MHC-Molekülen auf der Oberfläche nahezu aller kernhaltigen Körperzellen präsentiert werden [89].

Für die suffiziente Aktivierung von T-Zellen sind jedoch zusätzlich Interaktionen „kostimulatorischer Moleküle“ auf der T-Zell-Oberfläche mit deren spezifischen Liganden auf der Oberfläche antigen-präsentierender Zellen erforderlich. Beispielsweise bindet CD28 auf T-Zellen an das kostimulatorische Molekül B7 (CD80/86) auf APCs; LFA-1 an ICAM-1 und CD2 an LFA-3. Diese kostimulatorischen Moleküle verstärken zum einen die Interaktion zwischen T-Zelle und APC, zum anderen sind sie an der Signaltransduktion beteiligt, die für die T-Zell-Aktivierung erforderlich ist [89].

Die Aktivierung der T-Zelle durch spezifische Bindung ihres T-Zell-Rezeptors an einen „passenden“ MHC-Peptid-Komplex führt zu einer Reihe intrazellulärer Vorgänge. Diese haben mehrere Folgen: Zum einen wird eine Reihe von Effektorfunktionen der T-Zellen aktiviert. Im Fall von T-Helferzellen sind dies vorwiegend die Produktion von Zytokinen sowie die Expression von *gp39*, welches an der zellkontakt-abhängigen Helferfunktion für B-Lymphozyten beteiligt ist. Zum anderen wird der autokrine Wachstumsweg aktiviert, der zur Sekretion wachstumsfördernder Zytokine (IL-2) und zur verstärkten Expression von Zelloberflächenrezeptoren für dieselben führt. Resultat dessen ist eine klonale Expansion durch Proliferation antigen-spezifischer T-Zellen [89].

1.3.5.2 Defekte antigenpräsentierender Zellen (APCs)

Antigenpräsentierende Zellen haben große Bedeutung als Virusreservoir und spielen eine wichtige Rolle im Rahmen der T-Zell-Depletion. HIV wird zum Beispiel auf der Oberfläche dendritischer Zellen sequestriert. CD4-positive T-Zellen können infolgedessen in hocheffizienter Weise durch Zell-Zell-Kontakte infiziert werden, während sie Antigen präsentiert bekommen [18, 90]. Da vorzugsweise solche Antigene präsentiert werden, die täglich in den Körper aufgenommen oder in ihm produziert werden, lässt sich ein selektiver Verlust von T-Helferzellklonen mit „passenden“ TCR-Spezifitäten auch hierdurch teilweise erklären [18, 36].

Monozyten und Makrophagen exprimieren sowohl CD4- als auch Chemokinrezeptoren. Sie sind somit durch HIV infizierbar [12]. Im Gegensatz zu Lymphozyten unterliegen sie im Rahmen der HIV-Infektion jedoch nicht einer gesteigerten Apoptose [32]. Zudem sind sie weniger empfindlich für zytotoxische Effekte des Virus [17]. Verschiedene funktionelle Defekte wurden bei infizierten monozytären Zellen nachgewiesen: So kommt es zu einer Beeinträchtigung „akzessorischer“ Funktionen für die adäquate Aktivierung von T-Zellen [86, 91, 92, 93, 94, 95] zu einer verminderten Expression von MHC-Klasse-II-Proteinen [19, 96] und kostimulatorischen Molekülen wie B7 (CD80/86) [19, 59, 97], zu einer verminderten Sekretion von IL-12 und einer verstärkten Produktion von IL-10 [91], zu einer verminderten Aufnahme und Prozession von Antigenen sowie zu einer verminderten Präsentation von MHC-Klasse-II-Antigen-Komplexen [96]. Außerdem wurde eine verstärkte Expression von Fas (CD95) und eine *de novo* Expression von FasL auf HIV-infizierten Monozyten [98] sowie eine verstärkte Expression von FasL auf infizierten Makrophagen nachgewiesen [98, 99]. Somit führt ihre Infektion nicht nur zu einer Störung der antigeninduzierten T-Zell-Aktivierung, sondern auch zu einer Erhöhung der über den Fas/FasL-Signalweg vermittelten Apoptose von kontaktierten T-Zellen [19].

Es wurde postuliert [100], dass Funktionsdefekte der APCs zur Anergie von T-Zellen führen und diese für einen aktivierungsinduzierten programmierten Zelltod (Apoptose) sensibilisieren. Anergische T-Zellen entstehen gemäß dieser Theorie immer dann, wenn sie mit einem korrekten Signal von Peptid-MHC-Komplexen in Abwesenheit adäquater kostimulatorischer Signale stimuliert werden. In der Folge kommt es zum Auftreten von T-Zellen, die trotz Antigenstimulation nicht proliferieren, vermindert IL-2 sezernieren und verstärkter Apoptose unterliegen. Insbesondere die verminderte Expression des Moleküls B7 (CD80/86) trägt in diesem Zusammenhang zur gestörten kostimulatorischen Funktion HIV-infizierter Makrophagen bei.

1.3.5.3 Funktionelle Defekte der T-Helferzellen

Neben der progredienten Abnahme der Helferzellkonzentration im Blut treten qualitative, also funktionelle Defekte dieser schon früh im Verlauf der Infektion auf. So untersuchten Lane et al. [101] bereits Anfang der 80er Jahre, ob und in welchem Ausmaß unfraktionierte PBMCs sowie gereinigte CD4- und CD8-positive T-Zellen HIV-Infizierter im Vergleich zu denen gesunder Kontrollpersonen nach einer Stimulation mit *Pokeweed* Mitogen (PWM), Alloantigenen und Recallantigenen (Tetanus-Toxoid) proliferieren. Sie fanden eine deutlich verminderte lymphoproliferative Reaktion (LPR) auf lösliche Recallantigene. Die Stimulierbarkeit durch Alloantigen war dagegen nur mäßig, die durch Mitogen gering eingeschränkt. Da die Proliferation nach Stimulation mit einem löslichen Proteinantigen eine nahezu exquisite Funktion CD4-positiver T-Zellen ist, konstatierten die Autoren einen selektiven funktionellen Defekt der T-Helferzellen. Clerici et al. [102] fanden bei HIV-Patienten einen sequentiellen Verlust der T-Zell-Reaktivität für verschiedene Arten von Antigenen. In zeitlicher Reihenfolge treten auf: ein Verlust der Stimulierbarkeit durch Recallantigene (Tetanus und Influenza), gefolgt von Alloantigenen und zuletzt eine fehlende LPR auf Mitogen (PHA). Die unterschiedlichen

Reaktionstypen zeigten interessanterweise keine Korrelation zur CD4-Zellzahl. Auch waren alle Reaktionsmuster prinzipiell in allen Stadien der Infektion möglich, wenngleich sich ausgeprägtere Funktionsdefekte bei Patienten mit fortgeschrittenen Stadien zeigten. Giorgi et al. [103] fanden hingegen eine Korrelation der verminderten Stimulierbarkeit durch Recallantigene (Tetanus und Candida) mit der CD4-Zellzahl und dem klinischen Stadium. In dieser Untersuchung entwickelte sich interessanterweise bei drei von vier Studienteilnehmern, deren Helferzellen auf keines der beiden Recallantigene reagierten, innerhalb einer viermonatigen Nachbeobachtungsphase AIDS. CD4-positive T-Zellen HIV-Infizierter proliferierten – im Vergleich zu denen Immungesunder – in einer Studie von Schnittman et al [104] signifikant schlechter nach TCR-Stimulation mit monoklonalen Antikörpern gegen CD3 (Anti-CD3 mAb) und Recallantigenen. Hingegen war die Stimulierbarkeit durch Mitogene weitgehend unverändert. Diverse weitere Untersuchungen bestätigten die Existenz von Funktionsstörungen CD4-positiver Helferzellen im Rahmen der HIV-Infektion [84, 105, 106, 107, 108, 109]. In mehreren Untersuchungen wurden zudem parallel zum Fortschreiten der Erkrankung, zur Abnahme der Helferzellkonzentration und zum Anstieg der Viruslast im Blut zunehmende Störungen im Repertoire der T-Zell-Rezeptoren (TCR) nachgewiesen [46, 110].

Präzisierend sei erwähnt, dass nur die spezifische Antwort auf lösliche Proteinantigene eine nahezu exklusive Funktion von T-Helferzellen ist, wohingegen im Rahmen der Antwort auf Alloantigene auch CD8-positive T-Zellen und bei Mitogenen wie PWM neben CD4- und CD8-positiven T-Zellen auch B-Zellen beteiligt sind [101, 102, 103, 105]. *Memory*-T-Helferzellen (CD4+CD45R0+CD29+) werden durch HIV stärker infiziert als naive (CD4+CD45RA+) [104, 111]. Untersuchungen zeigen, dass naive CD4-positive T-Zellen stärker als *memory*-T-Helferzellen nach Stimulation mit Mitogenen proliferieren, wohingegen letztere stärker auf Anti-CD3 mAb und Recallantigene reagieren [104, 112]. Die Proliferation von PBMCs nach Stimulation mit Recallantigenen ist somit vorwiegend eine Funktion von *memory*-T-Helferzellen.

Die Ursachen der gestörten Helferzellfunktion sind wahrscheinlich multifaktoriell und derzeit nicht abschließend geklärt. Zum einen liegt wahrscheinlich in der bevorzugten Infizierbarkeit und Depletion von *memory*-T-Helferzellen ein Grund dafür, dass die lymphoproliferative Aktivität nach Stimulation mit Recallantigenen früher als die nach Stimulation mit Alloantigenen und Mitogenen, an denen auch naive T-Helferzellen sowie CD8-positive T-Zellen beteiligt sind, beeinträchtigt wird [111].

Die bei HIV-Patienten verminderte Proliferation von PBMCs nach Stimulation über den TCR lässt sich durch Stimulation mit Anti-CD28 mAb verstärken und ist nicht auf eine Störung der ersten Schritte der intrazellulären Signalkaskade zurückzuführen [112]. Wenngleich die Stimulierbarkeit durch Anti-CD28 mAb nicht zu einer völligen Normalisierung der Proliferationsfähigkeit führt [112], legt diese Beobachtung jedoch die Vermutung nahe, dass eine verminderte Wirkung des kostimulatorischen Moleküls B7 – zum Beispiel durch funktionsgestörte APCs – an diesem Funktionsdefekt von T-Zellen beteiligt ist [113]. Das Molekül B7 (CD80/86) auf APCs ist der Ligand von CD28 und wird von HIV-infizierten APCs vermindert exprimiert.

Parallel mit der Progression der Erkrankung kommt es zu einem Absinken der Serumspiegel von IL-12 [114] sowie zu einem Anstieg derer von IL-10 [115]. Die Zugabe von IL-2 und IL-12 sowie von neutralisierenden, gegen IL-10 gerichteten Antikörpern führt zu einer Verbesserung der antigenstimulierten Proliferation von PBMCs HIV-Infizierter [115, 116, 117]. Dies legt eine Bedeutung der Dysregulation dieser Zytokine bei der Entstehung funktioneller Helferzelldefekte nahe [113]. Auch eine verminderte Expression von IL-2-Rezeptoren (CD25) auf der Oberfläche von Lymphozyten wurde im Rahmen der HIV-Infektion nachgewiesen [118]. Es ließ sich eine inverse Korrelation der Lymphozytenproliferation nach Mitogenstimulation mit der Expression von CD25 auf Lymphozyten zeigen [119].

Neben weiteren potentiellen Mechanismen wie der Verminderung des Pools naiver Zellen, die sich zu *memory*-Zellen umwandeln können, der verstärkten Apoptoseneigung von *memory*-Zellen nach Antigenstimulation, was zu Schäden des TCR-Repertoires führen kann, der gestörten Helferzellaktivierung durch funktionsgestörte APCs, der gestörten Zell-Zell-Interaktionen infolge einer zerstörten Lymphknotenarchitektur, dem Mangel proliferationsfördernder Zytokine (IL-2, IL-12 etc.), der verminderten Expression von IL-2-Rezeptoren, sind direkt immunsuppressive Effekte viraler Proteine beschrieben worden.

So inhibiert HIV-*gp120* die T-Zell-Aktivierung [112, 120]. Durch Zugabe rekombinanten HIV-*gp120*-Proteins konnte eine dosisabhängige Verminderung der Proliferation gereinigter CD4-positiver T-Zellen nach Stimulation mit Recallantigen nachgewiesen werden [109]. Dies trifft interessanterweise auch auf T-Helferzellen Immungesunder zu. Da *gp120* eine hohe Affinität zum CD4-Molekül hat, wurde seitens der Autoren der letztgenannten Studie eine durch *gp120* bedingte Behinderung der Interaktion von CD4 mit MHC-Klasse-II-Molekülen als mögliche Ursache der Funktionsstörung postuliert. HIV-*nef* verursacht Störungen in der Signaltransduktion und IL-2-Produktion von T-Zellen [121] und HIV-*tat* inhibiert die Helferzellproliferation nach Stimulation mit Recallantigenen [122]. Im Rahmen der direkten Infektion CD4-positiver T-Zellen wurde eine verminderte Expression von CD4-Molekülen als Resultat einer intrazellulären Komplexierung mit *gp120* oder einer direkten Inhibition der CD4-Biosynthese festgestellt [12]. Hierdurch kann es zusätzlich zu einer verminderten antigenspezifischen Aktivierung von Helferzellen infolge verminderter Interaktion von CD4 mit MHC-Klasse-II auf APCs kommen, die für die antigenspezifische Aktivierung essenziell ist.

1.4 Antiretrovirale Therapie

Durch die antiretrovirale Therapie (ART) wird die Vermehrung des HI-Virus und damit der Auslöser der beschriebenen immunpathogenetischen Veränderungen unterdrückt. Ziele der Therapie sind die Vermeidung HIV-assoziiertes Morbidität und Mortalität, die Verhinderung opportunistischer Infektionen und die Verbesserung der Lebensqualität der Patienten.

Nach unbefriedigenden Behandlungsergebnissen unter Mono- [123] und ersten Erfolgen unter Zweifach-Kombinationstherapien [124] wurde spätestens seit der Vorstellung sehr erfolgreicher Studien zur Dreifach-Kombinationstherapie auf der Welt-AIDS-Konferenz 1996 ein neuer „Goldstandard“ in der HIV-Therapie geprägt. Der Begriff der „Hochaktiven antiretroviralen Therapie“ (HAART), einer Kombinationsbehandlung aus mindestens drei verschiedenen, gegen HIV wirksamen Medikamenten, wurde geboren.

Hierfür stehen heute – im Herbst 2003 – insgesamt 19 zugelassene Substanzen aus fünf verschiedenen Wirkstoffgruppen zur Verfügung. Allen gemeinsam ist ihre Potenz, die Virusvermehrung durch Blockade verschiedener Schritte des viralen Replikationszyklus zu unterbrechen. Im Rahmen einer optimalen HAART wird heute die Senkung der Viruslast im Blut unter die Nachweisgrenze sensitiver Nukleinsäuretests (i. d. R. 50 c/ml) gefordert [125]. Dafür wurden Substanzen entwickelt, die eine hohe Selektivität ihrer inhibitorischen Wirkung auf viruseigene Enzyme oder maßgeblich an der Virusreplikation beteiligte virale Eiweiße aufweisen. In der klinischen Praxis werden derzeit Inhibitoren des Viruseintritts in die Zielzelle (Enfuvirtide/T20/Fuzeon®) und Hemmer der viralen Reversen Transkriptase (RT) sowie der HIV-Protease eingesetzt.

Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (RTI) lassen sich bezüglich ihres Wirkmechanismus in zwei große Gruppen sowie Untergruppen aufteilen: nukleosidische/nukleotidische (NRTI/NtRTI) und nicht-nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NNRTI).

Nukleosidische/nukleotidische RT-Inhibitoren sind Analoga der natürlicherweise in der Zelle vorkommenden DNA-Bausteine. Sie sind am Ribosering modifiziert, sodass eine Verlängerung der wach-

senden cDNA-Kette durch Phosphodiesterbrücken nicht mehr möglich ist. Sie fungieren somit als „falsche Bausteine“ und bewirken einen Kettenabbruch in der bei der Umschreibung der viralen RNA entstehenden cDNA [126]. Fast alle derzeit verfügbaren Substanzen dieser Wirkklasse sind Nukleosidanaloga, die erst nach dreifacher Phosphorylierung durch zelluläre Enzyme in ihrer Wirkform vorliegen. Sie sind den natürlich vorkommenden DNA-Bausteinen chemisch verwandt. So sind die Substanzen Zidovudin (AZT/Retrovir[®]) und Stavudin (d4T/Zerit[®]) Thymidinanaloga; Zalcitabin (ddC/Hivid[®]), Lamivudin (3TC/Epivir[®]) und Emtricitabine (FTC/Emtriva[®]) Cytidinanaloga; Abacavir (ABC/Ziagen[®]) ist ein Guanosinanalogen und Didanosin (ddI/Videx[®]) ein Inosinanalogen, welches nach seiner Metabolisierung mit Adenosin konkurriert [126]. Tenofovir (Viread[®]) ist das derzeit einzige verfügbare Nukleotidanalogen. Im Gegensatz zu den Nukleosidanaloga muss diese Substanz nur zweimal phosphoryliert werden, um in der wirksamen Form als Adenosinanalogen vorzuliegen, da sie bereits einen Phosphatrest enthält [126].

Nichtnukleosidische RT-Inhibitoren (NNRTI) hemmen die Reverse Transkriptase nicht-kompetitiv durch Bindung in einem Bereich nahe des „katalytischen Zentrums“ des Enzyms. Nach Bindung der NNRTIs kommt es zu einer Konformationsänderung der RT, wodurch diese inaktiviert wird [127]. Vertreter dieser Wirkstoffgruppe sind: Efavirenz (EFV/Sustiva[®]), Delavirdin (DLV/Rescriptor[®]) und Nevirapin (NVP/Viramune[®]).

HIV-Proteaseinhibitoren (PI) hemmen die Spaltung des *gag*- und des *gag-pol*-Präkursorproteins durch die viruseigene Protease. Hierdurch wird die Virusreifung beeinträchtigt und die Infektiosität der neu entstandenen Viren blockiert [128]. Derzeit befinden sich sieben Proteasehemmer auf dem Markt: Amprenavir (APV/Agenerase[®]), Atazanavir (AZV/Reyataz[®]), Indinavir (IDV/Crixivan[®]), Lopinavir (in fester Kombination mit Ritonavir: LPVr/Kaletra[®]), Nelfinavir (NFV/Viracept[®]), Ritonavir (RTV/Norvir[®]) und Saquinavir (SQV/Invirase[®], Fortovase[®]). Da Ritonavir einerseits sehr nebenwirkungsreich und andererseits ein starker Inhibitor des Typs 3A4 des Cytochrom-P450-Systems in der Leber ist, welches für die Metabolisierung fast aller Proteasehemmer verantwortlich ist, wird diese Substanz heute fast ausschließlich in einer Minimaldosierung („*baby dose*“) als „*booster*“ bzw. pharmakologischer „*enhancer*“ in Kombination mit anderen PIs eingesetzt. Das bedeutet, dass man durch Zugabe einer – im Vergleich zur optimalen antiviralen Dosis – niedrigen Menge Ritonavir den Abbau anderer Proteasehemmer hemmen und somit einerseits deren Plasmaspiegel steigern, andererseits ihre Halbwertszeit verlängern kann.

Da die HAART zum einen mit medikamentenbedingter Toxizität, der Gefahr einer Resistenzentwicklung sowie hohen Kosten verbunden ist, eine zu starke Schädigung des Immunsystems jedoch zum anderen vermutlich nur bedingt und verzögert reversibel ist, bleibt der optimale Zeitpunkt für einen Therapiebeginn umstritten. Als unstrittige Indikationen gelten heute: HIV-bedingte klinische Symptome und Erkrankungen sowie das Absinken der Helferzellkonzentration im Blut auf Werte unter 200 Zellen/ μ l. Relative Indikationen sind darüber hinaus gegeben bei einem Absinken der Helferzellen im Blut auf unter 350/ μ l sowie einer HIV-Viruslast über 50.000-100.000 c/ml [125].

1.5 Störung der T-Zell-Funktion durch Nukleosidanaloga

Neben der inhibitorischen Wirkung auf die Reverse Transkriptase wurden wiederholt Störwirkungen der Nukleosidanaloga auf verschiedene zelluläre Enzyme beschrieben. So wird die Hemmung der mitochondrialen DNA-Polymerase für eine Reihe von Nebenwirkungen der Nukleosidanaloga verantwortlich gemacht [129].

Mehrere Untersuchungen haben inhibitorische Effekte von Zidovudin (AZT) auf verschiedene Zellen des hämopoetischen und lymphatischen Systems nachgewiesen. Es inhibiert konzentrationsabhängig die mitogeninduzierte Proliferation von PBMCs nach einer Stimulation mit PWM [130], Phytohäm-

agglutinin (PHA) [131] sowie Concanavalin A (Con A) und Anti-CD3-mAb [132]. Auch proliferieren PBMCs immungesunder Mäuse, die mit HIV-*gp120*-Antigen immunisiert wurden, vermindert nach Stimulation mit diesem Antigen, wenn sie zusätzlich mit AZT gefüttert wurden [132]. In PBMC-Kulturen verursacht die Substanz Störungen im Proliferationszyklus, eine Verminderung der mitogen-induzierten Blasttransformation sowie der RNA- und Proteinsynthese [130]. Im Gegensatz dazu finden sich die zuletzt beschriebenen Störwirkungen bei Didanosin (ddI) sehr viel geringer oder gar nicht, was auf deutliche Unterschiede in der diesbezüglichen Toxizität schließen lässt [130]. Die Proliferation CD8-positiver T-Zellen nach Stimulation mit IL-2 wird durch AZT konzentrationsabhängig vermindert, wohingegen wiederum Didanosin (ddI) und Lamivudin (3TC) keinen Effekt haben [133]. Auch die zytolytische Aktivität von Lymphozyten wird durch AZT dosisabhängig vermindert [134]. Im Tiermodell zeigt sich eine inhibitorische Wirkung von AZT auf die Differenzierung von Thymozyten [132]. Zudem führte die Gabe von AZT zu einer verminderten Zellularität des Thymus der Versuchstiere. Eine der wichtigsten Nebenwirkungen von Zidovudin ist seine myelosuppressive Wirkung [135]. In mehreren Studien wurden konzentrationsabhängige toxische Effekte der Substanz auf hämopoetische Progenitorzellen nachgewiesen. So wirkt AZT inhibitorisch auf die Proliferation von hämopoetischen Stammzellen [136] und hemmt die Bildung von Granulozyten/Makrophagen sowie die Erythropoese [137, 138].

Auch andere Nukleosidanaloga haben inhibitorische Wirkungen auf die Proliferation von B- und T-Zellen. Im Vergleich zu AZT sind jedoch z.B. die diesbezüglichen Störwirkungen von Lamivudin (3TC) deutlich geringer ausgeprägt [139].

1.6 Immunrekonstitution

Unter einer suffizienten HAART wird die Virusvermehrung in den meisten Körperkompartimenten unterdrückt. Konsekutiv kommt es zu einem Anstieg der Helferzell- sowie zu einem Abfall der Viruskonzentrationen im Blut [140, 141]. Klinisches Resultat ist eine Verbesserung der Immunfunktion, verbunden mit einer Abnahme HIV-assoziiertes Morbidität und Mortalität [142, 143].

Nach Beginn einer HAART lässt sich – hinsichtlich der Dynamik von Konzentrationsveränderungen verschiedener T-Zell-Populationen und -Subpopulationen im Blut – ein zweiphasiger zeitlicher Ablauf erkennen [144].

Während der ersten zwei bis drei Monate ist die Geschwindigkeit des Konzentrationsanstiegs CD4-positiver T-Zellen im Blut maximal [58, 145]. Danach setzt sich dieser Anstieg stetig, aber deutlich langsamer, fort [58, 144, 145, 146, 147]. Der frühe, sehr schnelle Helferzellzuwachs ist durch eine überproportionale Zunahme von Zellen mit einem *memory*-Phänotyp (CD45RO+) geprägt [111, 144, 145, 146, 148, 149]. Während der mit geringerer Dynamik ablaufenden zweiten Phase nimmt der Anteil naiver Zellen (CD45RA+CD62L+) am wachsenden Gesamtpool CD4-positiver T-Zellen im peripheren Blut zu [144, 146, 148]. Während eines Beobachtungszeitraums von zwölf Monaten wurde eine konstante Produktionsrate für naive T-Helferzellen nachgewiesen, während diese für Zellen mit einem *memory*-Phänotyp zwischen der schnellen ersten und der langsamen zweiten Phase massiv abnimmt [144]. Dies erklärt den unterschiedlichen Anteil beider Subpopulationen im Zeitverlauf.

Auch die Konzentration CD8-positiver T-Zellen im Blut nimmt i. d. R. während der ersten Therapie-wochen parallel zum Helferzellenanstieg – jedoch in geringerem Ausmaß – zu [144, 150]. Auch bei dieser Zellgruppe ist der frühe Anstieg überwiegend auf eine Zunahme von *memory*-Zellen zurückzuführen [144]. Während der folgenden Behandlungsphase nimmt bei den meisten Infizierten die Gesamtkonzentration CD8-positiver T-Zellen im Blut wieder ab [144, 146, 147]. Dies gilt insbesondere für Patienten, die in frühen Stadien der HIV-Infektion behandelt werden [151, 152]. Hierbei sinkt insbesondere der Anteil von *memory*-Zellen, während naive Zellen – wie bei den CD4-positiven

T-Zellen – konstant und kontinuierlich zunehmen [144, 145, 152, 153]. Bei Patienten mit vor Beginn der HAART sehr niedriger Helferzellzahl (<50/ μ l) wurden jedoch auch kontinuierliche Konzentrationsanstiege des Gesamtpools CD8-positiver T-Zellen über 24 Wochen beschrieben [150].

Insgesamt ist der Konzentrationsanstieg CD4-positiver T-Zellen unter HAART sehr viel ausgeprägter als der CD8-positiver T-Zellen, was sich in einem Anstieg der CD4/CD8-Ratio ausdrückt [150]. Das Ausmaß des Helferzellanstiegs während der initialen Phase korreliert mit dem Ausmaß der T-Helferzelldepletion vor Beginn der HAART, hingegen nicht mit dem Ausmaß der kurzfristigen Viruslastsenkung und dem Alter der Patienten [154]. Demgegenüber ist das Ausmaß des Helferzellanstiegs während der zweiten, langsameren Phase abhängig vom Ausmaß und der Dauerhaftigkeit der Viruslastabsenkung [149, 154], jedoch nicht vom Helferzell-Nadir [154].

Parallel zu diesen Veränderungen kommt es zu einer progredienten Reduktion der Immunaktivierung, welche sich u. a. durch die Abnahme von Aktivierungsmarkern auf T-Zellen ausdrückt [145, 146, 155]. Gleichzeitig normalisiert sich der Anteil CD4- und CD8-positiver T-Zellen, die CD28 als wichtiges kostimulatorisches Molekül exprimieren [146, 150, 151, 152, 156]. CD28 spielt, wie oben dargelegt, eine wichtige Rolle für die antigeninduzierte Aktivierung von T-Zellen. Es wurde eine positive Korrelation zwischen der Expression von CD28 auf T-Helferzellen und dem Impferfolg mit Recall- und Neoantigenen nachgewiesen [152, 157]. Zudem kommt es zu sinkenden Spiegeln proinflammatorischer Zytokine wie TNF-alpha und IL-6 [145, 158], zu einem Anstieg der IL-2-Produktion durch T-Zellen [113], zu einer verstärkten IL-12-Produktion durch Monozyten [113] sowie zur verminderten Expression von Adhäsionsmolekülen im Bereich der lymphatischen Gewebe [36].

Heute herrscht die Ansicht vor, dass der in den ersten Wochen einer HAART stattfindende massive Zuwachs CD4- und CD8-positiver T-Zellen im Blut ganz maßgeblich durch die Umverteilung zuvor sequestrierter Zellen aus den lymphatischen Geweben hervorgerufen wird [44, 55, 79, 144, 153]. Hierfür spricht beispielsweise, dass die Diversität des TCR-Repertoires auf T-Helferzellen im Blut parallel mit dem initial schnellen Anstieg von *memory*-Zellen zunächst sinkt, bevor sie in der zweiten Phase eines langsameren, durch einen höheren Anteil naiver Zellen geprägten Zellzuwachses wieder zunimmt. Dies wird als Ausdruck initialer Umverteilung zuvor aktivierter, jedoch infolge ihrer antigeninduzierten Aktivierung in Lymphknoten sequestrierter *memory*-Zellen gewertet [159]. Zudem kommt es – parallel zum initial starken Zuwachs CD4-positiver *memory*-Zellen im Blut – zu einer Abnahme der Ki67-Expression – einem Proliferationsmarker – auf T-Helferzellen [65, 160, 161]. Dies unterstützt die Hypothese, dass nicht die Expansion von *memory*-T-Helferzellen, sondern deren Umverteilung für ihren massiven initialen Konzentrationsanstieg im Blut verantwortlich ist [58]. Die *de novo*-Zellproduktion hat an diesem initialen „burst“ einen geringeren, wenngleich existenten Anteil.

In der folgenden Phase des langsameren Helferzellanstiegs sind wahrscheinlich mehrere Vorgänge für deren Konzentrationszunahme im Blut von Bedeutung. Der T-Zell-Pool im Körper kann grundsätzlich auf zwei Arten vergrößert werden: durch Steigerung der Zellproduktion sowie durch Verlängerung der Zellüberlebenszeit. Wie oben erwähnt kann die Produktion von T-Zellen wiederum grundsätzlich auf zwei Arten erfolgen: durch Nachbildung naiver Zellen im Thymus und durch Expansion reifer T-Zellen [66, 67]. Die *de novo*-Reifung naiver T-Zellen aus Progenitorzellen im Thymus führt zu einer polyklonalen Ausreifung verschiedenster Spezifitäten des T-Zell-Rezeptors. Nur hierdurch ist die Wiederherstellung eines uneingeschränkten TCR-Repertoires prinzipiell möglich. Im Gegensatz dazu ist eine Zellrekonstitution durch Expansion existierender peripherer T-Zell-Klone mit dem Beibehalten des im Rahmen der HIV-Infektion eingeschränkten TCR-Repertoires behaftet [55, 67].

Eine wachsende Zahl von Arbeiten unterstreicht die Bedeutung des Thymus für die Immunrekonstitution [71, 76, 153]. Die T-Zell-Rekonstitution durch Thymopoese ist durch das Auftreten naiver T-Zellen (CD45RA+CD62L+) mit nachweisbaren TRECs als Zeichen eines Rearrangements von TCR-Genen im Thymus gekennzeichnet. Demgegenüber haben Zellen, die durch Expansion peripherer reifer Zellen entstehen, einen *memory*-Phänotyp (CD45RO+) und in ihnen sind selten TRECs nachweisbar [67]. Tatsächlich steigen – wie oben beschrieben – die Konzentrationen naiver T-Zellen unter einer HAART an. Auch ließen sich nach Beginn einer Therapie bei einem Großteil von Patienten steigende Konzentrationen von „*recent thymic emigrants*“ – naiven T-Zellen, die kurz zuvor im Thymus gebildet wurden – nachweisen [71, 76]. Bei vielen unbehandelten Patienten lässt sich eine Verminderung des TCR-Repertoires auf T-Helferzellen nachweisen [46, 110]. Unter sinkender Viruslast und steigender Helferzellkonzentration im Blut konnte eine deutliche Zunahme des zuvor gestörten TCR-Repertoires nachgewiesen werden [46]. Dies lässt sich am wahrscheinlichsten durch die Neubildung naiver T-Zellen im Thymus erklären [67]. Die Zunahme naiver Zellen macht den Hauptteil des Helferzellanstiegs nach langdauernder erfolgreicher HAART aus [149, 156]. Es konnte eine inverse Korrelation zwischen dem Alter von Patienten vor Beginn einer HAART und dem Ausmaß sowohl des absoluten Anstiegs CD4-positiver T-Zellen als auch des Anstiegs naiver Helferzellen unter der Therapie nachgewiesen werden [152]. Dies ist am ehesten Ausdruck der verminderten Thymopoese mit zunehmendem Alter. Ferner fanden sich positive Korrelationen zwischen der Thymusgröße und dem Ausmaß des Anstiegs naiver T-Helferzellen unter HAART [162] sowie zwischen einem ungenügenden Helferzellanstieg und dem Nachweis geringer Thymusmengen im CT [163]. Insofern kommt dem Thymus sowohl bei der quantitativen T-Zell-Rekonstitution, besonders jedoch in der Rekonstitution des TCR-Repertoires eine entscheidende Rolle zu [70]. Der Anteil beider Produktionsprozesse – Neubildung im Thymus und Expansion peripherer Zellen – ist individuell verschieden und, wie erwähnt, u. a. vom Alter abhängig [67].

Neben der verstärkten Zellproduktion kommt es zu einem verminderten Zelluntergang, der zweiten Determinante des T-Zell-Pools. Da die Immunaktivierung eine wesentliche Ursache der erhöhten Apoptoserate von T-Zellen darstellt und diese deren Überlebenszeit verkürzt, ist es nachvollziehbar, dass unter sinkender Immunaktivierung infolge HAART die Apoptose CD4- und CD8-positiver T-Zellen deutlich absinkt und dies wahrscheinlich zum T-Zell-Anstieg beiträgt [151, 155, 164].

In mehreren Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass eine HAART neben der quantitativen auch eine qualitative Rekonstitution der T-Helferzellen bewirkt. Die Proliferation von CD4-positiven T-Zellen nach Stimulation mit Recallantigenen und Mitogenen steigt bereits in den ersten drei Monaten einer HAART signifikant an [146] und erreicht bei einem Teil der Patienten Werte wie bei Immungesunden. Nachgewiesen wurden Verbesserungen der mitogeninduzierten Proliferation von PBMCs nach Stimulation mit PWM [156], von T-Zellen nach Stimulation mit Anti-CD3 mAb [146, 150, 165] und PHA [111, 150, 165], der Alloantigen-induzierten Proliferation von T-Zellen [145], sowie der antigeninduzierten T-Helferzellproliferation für CMV [146, 148, 156], HSV [166], *Mycobacterium tuberculosis* [146, 148, 165, 167], *Mycobacterium avium complex* [156, 168], Streptokinase/Streptodornase [111, 156], Tetanus-Toxoid [108, 111, 165], *Candida* [108, 145, 156, 165], Influenza [84] und *Toxoplasma gondii* [169, 170].

Im Gegensatz zur Zunahme der Helferzellfunktion gegen verschiedene Recallantigene konnte in vielen Studien eine solche gegenüber HIV-Antigenen wie *p24* oder *p17* kaum oder nur in geringem Ausmaß nachgewiesen werden [84, 108, 111, 146, 149, 165]. In anderen Untersuchungen hingegen wurden durchaus bei einem größeren Anteil erfolgreich und langdauernd antiviral behandelter Patienten Helferzellreaktionen gegen HIV-Antigene nachgewiesen [156, 171].

Insgesamt ist das Ausmaß der Verbesserung der T-Helferzellfunktion unter HAART – zumindest in Bezug auf Recallantigene – abhängig vom Ausmaß des Immundefekts vor Beginn der Therapie [156], vom Ausmaß und der Dauerhaftigkeit der Viruslastsenkung [148], vom Ausmaß des Helferzellanstiegs [148, 149] und insbesondere vom Ausmaß des Anstiegs von Helferzellen mit einem *memory*-Phänotyp [169].

Der unmittelbar nach Einleitung einer HAART im Blut messbare Anstieg lymphoproliferativer Reaktivität von Helferzellen gegenüber Recallantigenen ist sicher – zumindest teilweise – durch Umverteilung zuvor im lymphatischen Gewebe sequestrierter *memory*-T-Helferzellen bedingt [108].

Im weiteren Verlauf sind jedoch wahrscheinlich mehrere Mechanismen an der funktionellen Immunrekonstitution mit Verbesserung der antigeninduzierten Proliferation CD4-positiver T-Zellen beteiligt: So kommt es infolge verminderter Immunaktivierung, unter anderem infolge einer geringeren Expression des apoptoseinduzierenden Fas-Moleküls (CD95), zu einer sinkenden Empfindlichkeit der T-Zellen gegenüber Apoptose [108, 151]. Nachweisbar sind weiterhin eine vermehrte Produktion von IL-12 durch Monozyten [151, 171] und von IL-2 durch T-Helferzellen [172], eine verstärkte Expression von kostimulatorisch wirksamem CD28 auf T-Zellen [146, 150, 151, 152, 156] sowie die Nachbildung naiver Zellen im Thymus [67, 71], was die Rekonstitution eines ungestörten TCR-Repertoires begünstigt.

1.7 Klinisch bedeutsame Surrogatmarker der HIV-Infektion

Eine Vielzahl von Labormarkern wurde bezüglich ihrer prognostischen Aussagekraft im Rahmen der HIV-Infektion evaluiert. Eine Reihe dieser (z. B. Serumkonzentration von Neopterin, β 2-Mikroglobulin, löslichem IL-2-Rezeptor) wurde lange Zeit im klinischen Alltag genutzt, bis sie durch modernere abgelöst wurden. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt haben sich im Wesentlichen zwei Marker – die Helferzell- und die Viruskonzentration im Blut – in der Praxis durchgesetzt.

1.7.1 T-Helferzellkonzentration

Wie oben dargelegt, sind die CD4-positiven T-Helferzellen die wichtigsten Zielzellen des Virus. Ihre Depletion im Rahmen der HIV-Infektion ist eines der bedeutendsten Merkmale der Erkrankung. Die quantitative und prozentuale Bestimmung ihrer Konzentration im Blut wurde frühzeitig als labormedizinischer Verlaufsmarker in der Betreuung HIV-positiver Patienten verwendet [173]. Die Anzahl CD4-positiver T-Zellen im Blut korreliert mit dem Risiko, innerhalb eines bestimmten Zeitraums an AIDS zu erkranken und zu versterben [174, 175, 176, 177, 178] sowie mit dem Risiko des Auftretens opportunistischer Infektionen [179, 180]. Bezüglich der Prognose von Patienten unter HAART, erwies sich die Helferzellkonzentration vor Beginn der Therapie als wichtigster prognostischer Faktor bezüglich des Auftretens AIDS-definierender Erkrankungen und des Überlebens der Patienten [181].

1.7.2 HIV-Viruslast

Seit Ihrer breiten Verfügbarkeit, Mitte der 90er Jahre, hat die quantitative Messung der HIV-RNA rapide Einzug in die klinische Routine und in das „*Monitoring*“ der HIV-Infektion gefunden. Die Höhe der HIV-Viruslast ist einerseits von der Anzahl produktiv infizierter Zellen und dem Ausmaß der HIV-Replikation in diesen sowie andererseits von der Hemmung der Virusvermehrung durch das Immunsystem oder antivirale Medikamente abhängig. Es wurde nachgewiesen, dass die Quantifizierung der HIV-RNA im Blut in ihrer prognostischen Aussagekraft der Bestimmung von Neopterin und β 2-Mikroglobulin überlegen ist [174, 182]. Die Höhe der Viruslast am so genannten „*setpoint*“ nach der Serokonversion korreliert mit der Geschwindigkeit der T-Helferzell-Depletion im Blut und invers mit der Zeit bis zum Auftreten von AIDS sowie der Zeit bis zum Tod der Patienten [174, 182, 183, 184,

185, 186]. Hierbei erwies sich die prognostische Aussagekraft der Viruslast als unabhängig von der T-Helferzellkonzentration [183]. Sie ist weiterhin ein unabhängiges Maß für das Risiko opportunistischer Infektionen [187, 188].

Nach Initiierung einer suffizienten HAART sinkt die Viruslast im Blut schnell ab und erreicht oft Werte unterhalb der Nachweisgrenze sensitiver Testverfahren [60, 61]. Das Ausmaß der Viruslast-Reduktion korreliert signifikant mit dem des Helferzellanstiegs unter HAART [189]. Zudem ist die Dauer einer erfolgreichen Virussuppression unter HAART abhängig vom Nadir der gemessenen Viruslast unter der Therapie [190, 191].

1.7.3 Einfluss unterschiedlicher Nukleosidanaloga auf die Immunrekonstitution

Zahlreiche Studien haben die Effekte unterschiedlicher Kombinationen antiretroviraler Medikamente auf Surrogatmarker der HIV-Infektion untersucht. In einer Reihe dieser Untersuchungen wurden die beiden Thymidinanaloga – Stavudin (d4T/Zerit[®]) und Zidovudin (AZT/Retrovir[®]) – in ihren Wirkungen bei zuvor nicht antiretroviral behandelten Patienten verglichen.

In der ALBI-Studie [192] wurden u. a. die Zweifachkombinationen Stavudin (d4T) + Didanosin (ddI) vs. Zidovudin (AZT) + Lamivudin (3TC) über 24 Wochen miteinander verglichen. Hierbei zeigte sich am Ende der Beobachtungszeit ein signifikant stärkerer Helferzellanstieg unter Stavudin/Didanosin als unter Zidovudin/Lamivudin. Jedoch hatten auch signifikant mehr Patienten in der d4T/ddI-Gruppe am Ende der Beobachtungsphase eine Viruslast unter der Nachweisgrenze von 500 c/ml, was die Unterschiede der Helferzellentwicklung (mit-)erklären könnte.

Die ACTG-306-Studie [193] diente dem Vergleich der Zweifachkombinationen Stavudin/Lamivudin vs. Zidovudin/Lamivudin vs. Didanosin/Lamivudin über 48 Wochen. Hierbei kam es erneut in der Stavudin-Gruppe zu einem stärkeren Helferzellzuwachs als in der Zidovudin-Gruppe (118 vs. 77 Zellen).

In der START I-Studie [194] wurden die Dreifachregime Zidovudin/Lamivudin + Indinavir (IDV) und Stavudin/Lamivudin + Indinavir (IDV) über 48 Wochen miteinander verglichen. Auch in dieser Studie war der Helferzellanstieg in der Gruppe mit Stavudin behandelter Patienten signifikant stärkerer.

Schließlich fand in der START II-Studie [195] ein Vergleich zwischen Stavudin/Didanosin/Indinavir und Zidovudin/Lamivudin/Indinavir über 48 Wochen statt. Bei vergleichbarem Effekt beider Kombinationen auf die Reduktion der Viruslast fand sich erneut eine signifikant stärkere Zunahme der Helferzellen in der mit Stavudin behandelten Patientengruppe.

Zusammenfassend gibt es also mehrere Hinweise darauf, dass sich die beiden Thymidinanaloga in ihrem Effekt auf die Immunrekonstitution – gemessen am Zuwachs der T-Helferzellen – zugunsten von Stavudin unterscheiden.

1.8 Die Untersuchung – Fragestellung und Ziele

Für ein optimales Management der HIV-Infektion ist eine möglichst detaillierte Erfassung des durch sie verursachten Immundefekts erforderlich. In der Praxis haben sich als „Werkzeuge“ hierfür – neben der klinischen Beurteilung der Patienten – vor allem die quantitative Bestimmung der T-Helferzellen und der Viruslast durchgesetzt. Wenngleich hierdurch – bezüglich einer Risikostratifizierung klinischer Endpunkte – vielfach bewährte und sehr hilfreiche Informationen zur Verfügung stehen, lässt sich eine Vielzahl von auf Immunfehlfunktionen basierenden Ereignissen allein durch diese Labormarker weder im Voraus ausreichend sicher abschätzen noch hinreichend erklären.

So treten in der Praxis immer wieder Fälle opportunistischer Infektionen bei ungewöhnlich hohen Helferzellkonzentrationen auf. Beispielsweise wurden Fälle von CMV-Retinitis trotz eines Helferzellanstiegs unter suffizienter HAART auf Werte über 300 Zellen/ μ l [196, 197, 198], Fälle von Pneumocystis-carinii-Pneumonie trotz Helferzellanstieg auf über 400/ μ l [199], Fälle von cerebraler Toxoplasmose trotz Helferzellkonzentrationen von 350/ μ l [200] sowie Fälle von Candidosen und Herpes zoster trotz hoher Helferzellzahlen beschrieben. Ein Großteil dieser Diskrepanzen erklärt sich daraus, dass es im Rahmen der HIV-Infektion nicht nur zu einem quantitativen, sondern – wie oben dargelegt – auch zu einem qualitativen T-Helferzelldefekt kommt [196, 197, 198, 199]. Trotz dieser Widersprüchlichkeiten wurde bisher kein Testverfahren zur Erfassung der Helferzellfunktion in die klinische Praxis eingeführt. In der hier beschriebenen Analyse wurde ein speziell auf die Untersuchung von HIV-infizierten Patienten adaptierter und standardisierter Lymphozytenproliferationstest zur Erfassung der antigenspezifischen Helferzellfunktion eingesetzt.

Die vorliegende Untersuchung verfolgt zwei Ziele:

1. Im ersten Teil geht es darum, die zelluläre Immunrestitution unter besonderer Berücksichtigung der Helferzellfunktion in einer Gruppe antiretroviral behandelter Patienten mit vermeintlich optimalem Therapieerfolg zu beschreiben. Es soll geklärt werden, inwieweit sich die funktionelle Kapazität der Helferzellen dieser Patientengruppe von der CD4-positiver T-Zellen einer HIV-negativen, immungesunden Vergleichsgruppe unterscheidet.
2. In mehreren Studien haben sich Unterschiede in der quantitativen Helferzellentwicklung in Abhängigkeit vom im Rahmen einer HAART verwendeten Thymidinanalogon gezeigt. Im zweiten Teil dieser Untersuchung soll jetzt analysiert werden, ob das im Rahmen einer HAART verwendete Thymidinanalogon Einfluss auf die zelluläre Immunrestitution, insbesondere auf die Helferzellfunktion hat.

2 Material und Methoden

2.1 Patienten

Die Patienten wurden aufgrund ihrer HIV-Infektion entweder in der Tagesklinik der Infektionsabteilung des Vivantes-Klinikums Berlin-Prenzlauer Berg (Chefärztin Frau Prof. Dr. med. R. Baumgarten) oder in einer Berliner HIV-Schwerpunktpraxis (Dr. med. Ch. Mayr/Dr. med. F. Strohbach) behandelt. Im Rahmen routinemäßiger Laboruntersuchungen wurde ihnen – zusätzlich zu den Proben für die turnusmäßigen Bestimmungen der Surrogatmarker – Blut zur Durchführung des im nächsten Abschnitt beschriebenen Lymphozytentransformationstests (LTT) abgenommen.

Hierzu wurden die Patienten im Vorfeld über den Sinn und das Prinzip des Testverfahrens sowie über die geplante anonymisierte Analyse dabei erhobener sowie in den Krankenakten vermerkter Daten, u. a. im Rahmen einer Dissertation, aufgeklärt. Die Zustimmung der Patienten zur erweiterten Blutentnahme für diese Untersuchung sowie zur Datenanalyse erfolgte auf freiwilliger Basis nach Aufklärung durch die behandelnden Ärzte. Für Patienten, die dieser Untersuchung nicht zustimmten, entstanden keine Nachteile. Die Blutproben für den LTT wurden im Rahmen routinemäßiger Untersuchungen zusätzlich gewonnen. Es erfolgten keine gesonderten Blutentnahmen nur für die Gewinnung dieser Proben.

Innerhalb eines Zeitraums von ca. einem Jahr sind mit diesem Verfahren von einem Großteil der Patienten der genannten Einrichtungen Untersuchungen der Helferzellfunktion durchgeführt worden. Die vorliegende Auswertung wurde retrospektiv aus den vorliegenden Daten unter Beachtung der Ein- und Ausschlusskriterien bei der Aufnahme der Daten in die Analyse durchgeführt.

Aus dem Gesamtpool der Befunde zur Helferzellfunktion wurden Daten für die vorliegende Untersuchung nach folgenden Kriterien ausgewählt und durch gezielte Erfassung zusätzlicher Parameter aus den Patientenakten ergänzt:

1. Die Patienten mussten zum Zeitpunkt der Blutentnahme für den LTT seit mindestens zwölf Wochen mit ein und derselben Kombination antiretroviraler Medikamente unter Einschluss von Zidovudin oder Stavudin behandelt worden sein.
2. Die ART musste einem der folgenden Kombinationsschemata entsprechen: Kombination aus drei Nukleosidanaloga (3NRTI) oder Kombination aus zwei NRTI und einem Nichtnukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitor (2NRTI+1NNRTI) oder Kombination aus zwei NRTI und einem Proteaseinhibitor (2NRTI+1PI) oder Kombination aus zwei NRTI und einem PI sowie einer 200 Milligramm nicht überschreitenden Einzeldosis Ritonavir als pharmakologischer „Booster“ des Proteasehemmers (2NRTI+PI/r).
3. Die Patienten mussten zum Zeitpunkt der Blutentnahme für den LTT seit mindestens zehn Wochen eine Viruslast im Blut von weniger als 1000 Kopien/ml ($3 \log_{10}/\text{ml}$) haben.
4. Die Patienten mussten zum Zeitpunkt der Blutentnahme für den LTT mindestens eine Konzentration von 200 T-Helferzellen je Mikroliter Blut haben.

Der geforderte Mindestzeitraum von zwölf Wochen der Behandlung mit dem aktuellen antiretroviralen Therapieregime sollte sicherstellen, dass die Messung der Helferzellfunktion zum einen an einem relativ stabilen Zeitpunkt der Immunrekonstitution – nach Abschluss des Maximums der rasanten initialen Redistributionsvorgänge – stattfindet und sich zum zweiten ein stabiler pharmakokinetischer Zustand der aktuellen Medikamente – nach Abschluss initialer Enzyminduktionsvorgänge etc. – etab-

liert hat. Der Mindestzeitraum von zehn Wochen für eine HIV-Viruslast von maximal 1000 Kopien/ml sollte sichern, dass die aktuelle ART innerhalb dieser Zeit gut virussuppressiv wirksam war und sich ein relativ stabiler Zustand der Immunrestitution einstellen konnte. Der Mindestwert von 200 T-Helferzellen/ μ l sollte sicherstellen, dass sich die Patienten aktuell in einem moderaten Stadium ihres Immundefektes befinden und die Ergebnisse beispielsweise nicht durch zu ausgeprägte Begleitmedikation wie Antibiotikaprophylaxen oder floride opportunistische Infektionen verfälscht werden.

Zudem wurden vier Ausschlusskriterien im Vorfeld definiert:

1. Ausgeschlossen wurden Daten von Patienten, die zum Zeitpunkt des LTT oder in den letzten vier Wochen davor an einer floriden opportunistischen oder an einer den Allgemeinzustand deutlich beeinträchtigenden bzw. fieberhaften sonstigen Infektion litten.
2. Ausgeschlossen wurden auch Daten von Patienten, die zum Zeitpunkt des LTT oder in den letzten drei Monaten davor an floriden, chemo- oder strahlentherapeutisch behandlungsbedürftigen Tumoren litten.
3. Auch Daten von Patienten, die innerhalb der letzten acht Wochen vor dem LTT eine Schutzimpfung – mit Ausnahme einer Vakzinierung gegen Hepatitis A oder B – erhalten haben, wurden ausgeschlossen.
4. Letztlich war auch die Einnahme jeglicher Art von Immunmodulatoren wie Glukokortikoiden etc. innerhalb der letzten vier Wochen vor dem LTT ein Ausschlussgrund.

Hiermit sollte sichergestellt werden, dass die LTT-Ergebnisse nicht durch temporäre Dysregulationen, zusätzliche Aktivierungen oder medikamentöse Modulation des Immunsystems beeinträchtigt wurden.

Für die vorliegende Untersuchung wurden die Daten von zwei Gruppen à 50 Patienten analysiert, welche den genannten Ein- und Ausschlusskriterien entsprachen und die sich einzig durch das im Rahmen ihrer antiretroviralen Therapie verwendete Thymidinanalogon – Zidovudin bzw. Stavudin – unterschieden. Selektiert wurden die Patientendaten aus dem oben genannten Pool von LTT-Befunden HIV-Infizierter, ergänzt um Befunde aus den jeweiligen Krankenakten. Die Auswahl erfolgte zufällig, bis zum Erreichen der vordefinierten Gruppenstärke von 50 Patienten in jeder Gruppe, entsprechend den genannten Ein- und Ausschlusskriterien.

Für den ersten Teil der Untersuchung wurden die Daten aller Personen beider Patientengruppen gepoolt und mit denen einer Kontrollgruppe verglichen. Im zweiten Teil der Untersuchung wurden die Daten beider Patientengruppen miteinander verglichen.

2.2 Kontrollgruppe

Als Kontrollgruppe für den LTT dienten 100 klinisch gesunde, nicht HIV-infizierte Personen. Hierbei handelte es sich vorwiegend um Laborpersonal und Blutspender. Die Kontrollpersonen mussten zum Zeitpunkt der Blutentnahme für den LTT sowie in den letzten vier Wochen klinisch gesund sein, bei ihnen durfte kein Verdacht auf Vorliegen einer Immunerkrankung bestehen, sie durften in den letzten vier Wochen vor dem Test keine immunmodulatorischen Medikamente eingenommen haben, in den letzten acht Wochen keine Schutzimpfungen (Ausnahme Hepatitis A und B) erhalten haben und mussten mit der Teilnahme an der Untersuchung einverstanden sein. Sämtliche Daten der Kontrollgruppe wurden mir freundlicherweise von Herrn Professor von Baehr, der diese Gruppe unabhängig von der vorliegenden Untersuchung rekrutiert hat, zur Verfügung gestellt.

2.3 Der Lymphozytentransformationstest (LTT)

2.3.1 Testprinzip

Der Lymphozytentransformationstest (LTT), auch als Lymphozytenproliferations- oder Lymphozytenstimulationstest bezeichnet, ist ein etabliertes *in vitro*-Verfahren zum Nachweis mitogen- und antigeninduzierter Zellproliferation. Er basiert auf dem Prinzip, dass Lymphozyten nach ihrer Aktivierung expandieren, also proliferieren. Diese Proliferation geht mit DNA-Synthese einher. Durch Zugabe radioaktiv markierter DNA-Bausteine ist das Ausmaß der DNA-Synthese und somit das Ausmaß der Proliferation messbar.

Die Fähigkeit, *in vitro* auf eine Stimulation mit löslichen Recall(protein-)antigenen mit Proliferation zu reagieren, ist – wie eingangs ausführlich dargelegt – im Wesentlichen eine Funktion CD4-positiver T-Helferlymphozyten. Da T-Zellen Antigen nur als auf MHC-Molekülen präsentierte Peptide erkennen und bei exogener Zugabe im Allgemeinen nur der MHC-Klasse-II-Weg benutzt wird, ist die Proliferationsantwort gegen komplettes Antigen ganz überwiegend eine CD4-T-Zellantwort. Eine „*cross-presentation*“ über MHC-Klasse-I, beispielsweise durch aktivierte dendritische Zellen, und damit eine Aktivierung CD8-positiver T-Zellen findet nur minimal statt. Es kann somit davon ausgegangen werden, dass mehr als 90% der in diesem Test erfassten Proliferation den CD4-positiven T-Helferzellen zugeordnet werden kann. Dies konnte auch experimentell bestätigt werden: Die Depletion CD8-positiver T-Zellen führt – verglichen mit unfraktionierten PBMCs – zu keiner wesentlichen Änderung der Proliferation nach Stimulation mit Recallantigenen *in vitro* [103]. Durch die Depletion von CD4-positiven T-Zellen ist die proliferative Aktivität gegen Recallantigene hingegen aufgehoben, die gegenüber Mitogenen reduziert [105].

Mitogene führen zu einer unspezifischen, antigenunabhängigen Aktivierung von Immunzellen. Es gibt verschiedene Arten von Mitogenen, die verschiedene Zellarten aktivieren. So sind die Lektine Concanavalin A (Con-A) und Phytohämagglutinin (PHA) polymere Pflanzenproteine, die spezifisch an gewisse Kohlenhydrate von Glykoproteinen der T-Zelloberfläche – einschließlich TCR- und CD3-Proteine – binden und dadurch eine Zellstimulation von T-Zellen (CD4+ und CD8+) auslösen [89]. *Pokeweed*-Mitogen (PWM) hingegen stimuliert B- und T-Lymphozyten. Im Gegensatz zu den T-Zell-Mitogenen PHA und Con-A kann die proliferative Reaktion nach Stimulation mit PWM bereits früh im Verlauf der HIV-Infektion gestört sein [106].

Für den LTT wird eine festgelegte Anzahl von PBMCs in jeweils drei Parallelansätzen mit verschiedenen (Protein-)Antigenen und Mitogenen über sechs Tage kultiviert. Zwölf Stunden vor dem Ende der Kultur wird eine definierte Menge radioaktives ³H-Thymidin zu jedem Ansatz hinzugefügt. Je stärker die Zellen in den Kulturansätzen proliferieren, desto mehr ³H-Thymidin wird eingebaut. ³H-Thymidin ist ein Beta-Strahler. Die emittierte Strahlung kann demnach in einem „Beta-Counter“ als „*counts per minute* – *cpm*“ gemessen werden. Es hat sich durchgesetzt, die antigeninduzierte Stimulation durch Angabe eines „Stimulationsindex – SI“ zu kennzeichnen. Dieser errechnet sich folgendermaßen: Aus den *cpm*-Werten der drei Parallelansätze für jedes Antigen/Mitogen wird ein Mittelwert errechnet. Dieser wird durch den *cpm*-Mittelwert dreier Parallelansätze nicht durch Antigen/Mitogen stimulierter, sonst jedoch identisch kultivierter PBMCs dividiert. Der resultierende Stimulationsindex ist ein dimensionsloser Wert. Nach Stimulation mit Antigen ist er abhängig von der Frequenz und der Effektivität der Aktivierung antigenspezifischer Lymphozyten. Ein SI-Wert von mindestens drei gilt als positiv.

2.3.2 Testadaptation

Ein Problem des LTT ist die Spontanproliferation nicht spezifisch stimulierter Zellen in den Kulturansätzen. Hierdurch kommt es zu einer schlechteren Detektierbarkeit von antigenspezifischen Lymphozyten, die nur in relativ geringer Frequenz vorkommen. Da, wie oben erwähnt, das Ausmaß des ^3H -Thymidin-Einbaus in den Kulturansätzen von der Frequenz antigenspezifischer Zellen abhängig ist, wird der Signal-Rausch-Abstand und damit die Detektierbarkeit niederfrequenter antigenspezifischer Zellen um so geringer, je höher das „Grundrauschen“, also die Spontanproliferation der Zellen in der Kultur ist. Verschiedene Versuche wurden in der Vergangenheit unternommen, das Testverfahren diesbezüglich zu optimieren.

In der hier vorliegenden Untersuchung wurden zwei Adaptationen vorgenommen, um die antigeninduzierte Proliferation schärfer von der unspezifischen Spontanproliferation kultivierter Zellen trennen zu können. Das verwendete, optimierte Verfahren wurde publiziert [201]. Zum einen wurde während der Zellkultivierung nicht – wie sonst üblich – fetales Kälberserum oder hitzeinaktiviertes gepooltes humanes AB-Serum, sondern nicht hitzeinaktiviertes autologes Patientenserum verwendet. Der entscheidende Punkt ist jedoch die Zugabe von rekombinatem Interferon-alpha während der Zellkultur. Dieses Zytokin hat eine Fülle biologischer Wirkungen. Beispielsweise hemmt es die Zellproliferation, bewirkt jedoch andererseits eine verstärkte Expression von MHC-Molekülen der Klassen I und II sowie von kostimulatorisch wirksamem Molekül B7-2 (CD86) auf APCs. Es konnte nachgewiesen werden, dass es durch die Zugabe von Interferon-alpha vorwiegend zu einer Hemmung der Spontanproliferation nicht spezifisch stimulierter Lymphozyten kommt. Das Zytokin hat jedoch keinen wesentlichen Einfluss auf den Einbau von ^3H -Thymidin in stimulierten Kulturen. Durch diese Adaptationen kam es auch nicht zu einer Verfälschung der Resultate im Sinne falsch positiver Ergebnisse. Nettoeffekt ist ein deutlich vergrößerter Signal-Rausch-Abstand, der eine sensitivere Detektion auch in geringerer Frequenz vorkommender antigenspezifischer Lymphozyten ermöglicht [201]. Der LTT wurde in dieser Modifikation nach DAR-DIN EN ISO/IEC 17025 akkreditiert.

Für die Untersuchung HIV-infizierter Patienten wurde der mit den beschriebenen Adaptationen versehene Test an die Besonderheiten der Erkrankung adaptiert. Dies betrifft im Wesentlichen die Auswahl der verwendeten Antigene. In zahlreichen Voruntersuchungen wurde ein *Panel* geeigneter Recallantigene ermittelt. Von diesen wurde gefordert, dass sie bei mindestens 75 Prozent aller immungesunden Kontrollpersonen zu einer spezifischen lymphoproliferativen Reaktion führen. Zudem wurden Antigene gewählt, die im Zusammenhang mit der HIV-Infektion klinische Bedeutung haben. Nachdem einige Kandidaten aufgrund unzureichender Responderraten bei Immungesunden ausgeschlossen wurden (Streptokinase, Mumps-Masern-Röteln, Tuberkulin, Diphtherietoxoid), wurden sechs Recallantigene, die den Anforderungen entsprachen, ausgewählt. Diese sind Tetanus-Toxoid (78 % LPR bei Kontrollpersonen), Influenzavirusantigen (94 %), Candida-Lysatantigen (95 %), Mykobakterien-„*Purified-Protein-Derivate*“ – PPD (96 %), Toxoplasma-gondii-Antigen (76 %) und Cytomegalievirus-Antigen – CMV (78 %). Die optimalen Antigendosierungen wurden durch vorhergehende Versuche mit Verdünnungsreihen ermittelt.

Zur Erfassung der gegen HIV gerichteten Helferzellaktivität wurde rekombinantes HIV-*p24*-Antigen verwendet. Dieses Antigen hat sich in mehreren Studien als sehr gutes „*target*“ für die Messung HIV-spezifischer Immunantwort erwiesen [202]. Zur weiteren Differenzierung der Intensität der gegen HIV-*p24*-Antigen gerichteten Helferzellantwort wurde dieses Antigen in drei verschiedenen Konzentrationen – 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (*high*), 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (*medium*) und 2,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (*low*) – eingesetzt. Als Mitogen wurde *Pokeweed*-Mitogen verwendet, welches unspezifisch T- und B-Lymphozyten aktiviert.

2.3.3 Detaillierte Beschreibung des verwendeten Verfahrens

Von den Patienten und Kontrollpersonen wurde 20 ml venöses Blut in zwei Lithium-Heparin Mono-
vetten® der Firma Sarstedt sowie 10 ml Blut in einer Serum Monovette® gewonnen. Die Proben wur-
den am jeweils selben Tag im Labor verarbeitet.

Die Gewinnung von PBMCs erfolgte durch Dichtegradientenzentrifugation des heparinisierten Bluts
mittels Ficoll-Plaque® (Pharmacia, Uppsala, Schweden). Die Fraktion mononukleärer Zellen wurde
dann zweimal mit PBS (Sigma, Deisenhofen, Deutschland) gewaschen und in einer Konzentration von
 $1,5 \times 10^6$ Zellen/ml in RPMI 1640 (Biochrom KH, Berlin, Deutschland) resuspendiert. Hinzugefügt
wurden 100 µg/ml Gentamycin (Seromed, Heidelberg, Deutschland), 2 mM L-Glutamin (Sigma
Aldrich, Deisenhofen, Deutschland) und 10 % nicht hitzeinaktiviertes autologes Patientenserum. Ein
Endvolumen dieser Zelllösung von 200 µl – entsprechend 3×10^5 Zellen – wurde in je ein *well* einer
96-*well*-Microtiter-Platte pipettiert.

Hinzugegeben wurden jetzt 20 µl einer Lösung rekombinanten humanen Interferons-alpha 2a
(Biosource, Giessen, Deutschland). Die hierzu verwendete Stammlösung wurde zuvor durch Verdün-
nung von Interferon-alpha 2a in RPMI 1640 bis zum Erreichen einer Endkonzentration von
1250 IU/ml hergestellt. Die endgültige Interferon-Konzentration in der Kultur entspricht 125 IU/ml.
Diese hat sich in vorhergehenden Experimenten als optimal zur Verbesserung des Signal-Rausch-Ab-
stands herausgestellt.

In jeweils drei Parallelansätzen wurden dann Mitogen bzw. Antigene hinzugefügt. Hierbei wurden
verwendet:

- **Pokeweed Mitogen** (Sigma Aldrich, Deisenhofen, Deutschland; Endkonzentration: 5 µg/ml)
- **HIV-p24-Antigen**, rekombinant, exprimiert in E. coli (Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für
Medizinische Immunologie, Abteilung Proteinchemie, Prof. Höhne; drei Endkonzentrationen:
2,5/5,0/10,0 µg/ml)
- **Tetanus-Toxoid** (Tetasorbat Adsorbat-Impfstoff, Sächsisches Serumwerk Dresden, Deutschland;
Endkonzentration: 1:1000)
- **Influenzaantigen** (Influenza-Impfstoff des aktuellen Jahres, Sächsisches Serumwerk Dresden,
Deutschland; Endkonzentration: 1:1000)
- **Candidaantigen** (lyophilisiert, Allergopharma Reinbek, Deutschland; Endkonzentration: 10 µg/ml)
- **PPD** (Säugertuberkulin, Impfstoffwerk Dessau-Tornau GmbH, Deutschland; Endkonzentration:
1:250)
- **Toxoplasma gondii** (Toxoplasma-Antigen, antigen-coated microparticles, Abbott, Deutschland;
Endkonzentration: 1:500)
- **Zytomegalievirus** (CMV-Antigen, human strain AD169, antigen-coated microparticles, Abbott,
Deutschland; Endkonzentration: 1:500)

In befeuchteter Atmosphäre mit 5 % CO₂ bei 37 °C erfolgte eine sechstägige Kultur. Zwölf Stunden vor
Ende der Kultur wurde ³H-Thymidin (Amersham, Großbritannien; Endkonzentration: 1 µCi/ml) hin-
zugegeben.

Nach Kulturrende wurden die Zellen auf Glasfaserfiltern (Wallac, Lund, Schweden) geerntet. Die in-
korporierte ³H-Thymidin-Aktivität wurde mittels Beta-Counter (Wallac, Lund, Schweden) gemessen.
Die Lymphozytenproliferation wurde als Stimulationsindex angegeben. Dieser errechnet sich, wie oben
bereits erwähnt, aus dem Mittelwert der *cpm*-Werte der drei Parallelansätze mit jedem Antigen/Mito-
gen, geteilt durch den Mittelwert der emittierten Strahlungswerte dreier Parallelansätze nicht antigen-/
mitogenstimulierter, jedoch sonst gleich kultivierter PBMCs (Hintergrund-/Spontanproliferation).

2.4 Lymphozytendifferenzierung

Die Lymphozytendifferenzierung wurde in zwei verschiedenen Labors durchgeführt. Für Patienten der Tagesklinik des Vivantes-Klinikums Prenzlauer Berg erfolgte die Untersuchung im Institut für Laboratoriumsdiagnostik der Klinik. Für Patienten der Praxis Dr. Mayr/Dr. Strohbach erfolgte die Bestimmung im praxiseigenen immunologischen Labor. Beide Labors führten die Untersuchung mittels Durchflußzytometrie unter Verwendung Fluoreszenz-markierter monoklonaler Antikörper durch.

2.4.1 Messprinzip

Bei der Durchflußzytometrie werden Einzelzellen anhand morphologischer (Größe und Granularität) und biochemischer Kriterien, beispielsweise der Expression bestimmter Oberflächenproteine, charakterisiert. Die Zellen werden in einem Flüssigkeitsstrom – mittels „hydrodynamischer Fokussierung“ in einer Quarzküvette – wie in einer Perlenreihe an einem gebündelten Laserstrahl geeigneter Wellenlänge vorbeigeführt. Das Laserlicht wird an der Zelloberfläche gestreut und durch Photosensoren detektiert. Dabei korreliert das in Richtung des Laserstrahls (*Forward Scatter*) gestreute Licht mit der Zellgröße, während das rechtwinklig zum Laserstrahl gestreute Licht (*Side Scatter*) abhängig ist von deren Granularität.

Durch den Einsatz monoklonaler Antikörper, die mit geeigneten Fluoreszenzfarbstoffen gekoppelt sind, können spezifische Oberflächenmarker gezielt markiert werden. Durch den Laser werden die Elektronen der Fluorochrome auf ein höheres Energieniveau gehoben. Ihr nachfolgendes „Zurückfallen“ auf das Ursprungsniveau führt zur Emission von Licht einer charakteristischen Wellenlänge. Dieses wird ebenfalls durch Photodetektoren registriert. Die Fluoreszenzintensität korreliert mit der Anzahl markierter Oberflächenmarker. Durch Verwendung mehrerer unterschiedlicher monoklonaler Antikörper mit unterschiedlichen gekoppelten Fluorochromen ist die gleichzeitige Registrierung mehrerer Oberflächenmarker einer Zelle möglich. Voraussetzung ist, dass die verschiedenen Fluorochrome Licht verschiedener Wellenlänge emittieren [203, 204]. Zur durchflußzytometrischen Differenzierung von Lymphozyten werden u. a. Fluoreszenz-markierte monoklonale Antikörper gegen CD19 (B-Zellen), CD3 (Gesamt-T-Zellen), CD4 (CD3+CD4+ T-Helferzellen) und CD8 (CD3+CD8+ Zytotoxische T-Zellen) eingesetzt.

Mittels der Durchflußzytometrie sind jedoch nur die prozentualen Anteile der jeweiligen Zellpopulationen bestimmbar. Die quantitative Angabe ihrer Konzentrationen im Blut wird durch Multiplikation dieser Prozentangaben mit der Gesamtkonzentration von Lymphozyten im Blut – bestimmt mittels Zellcounter oder durch Auszählung in der Neubauer-Zählkammer – ermittelt.

2.5 Viruslastbestimmung

Die Viruslastbestimmung wurde ebenfalls in den beiden genannten Labors getrennt durchgeführt. Beide Labors nutzten hierfür kommerzielle Testkits der Firma Chiron Diagnostics. Verwendet wurde die Version 3.0 des QUANTIPLEX® HIV-1-RNA-Assays. Es handelt sich hierbei um einen auf dem *branched-DNA*-Verfahren basierenden Test. Die Nachweisgrenze dieses Tests liegt bei 50 Viruskopien pro Milliliter Blut.

2.6 Statistische Auswertung

Die Signifikanzprüfung für metrisch skalierte Messwerte erfolgte mit dem Mann-Whitney-U-Test für zwei unverbundene Stichproben. Geprüft wurde zweiseitig mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha=5\%$. Das Testergebnis wird als p-Wert angegeben. Ein $p<0,05$ gilt als signifikant.

Die Signifikanz von Häufigkeitsunterschieden wurde mit dem Chi-Quadrat-Test geprüft. Geprüft wurde zweiseitig mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha=5\%$. Ein $p<0,05$ gilt als signifikant.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mithilfe von WinSTAT®, Version 2001.1, einem „Statistik-Add-Inn“ für Microsoft® Excel®.

Wie oben erwähnt, wurden die gesunden Kontrollpersonen nicht von mir, sondern von Herrn Prof. von Baehr im Rahmen der Evaluierung des verwendeten Testverfahrens untersucht. Unglücklicherweise konnte mir Herr Prof. von Baehr keine Einzeldaten der Kontrollprobanden bezüglich ihrer demographischen Daten und der bei der Untersuchung ihrer Lymphozyten im LTT ermittelten Stimulationsindizes zur Verfügung stellen. Zur Auswertung standen mir von den Kontrollpersonen nur Mittelwerte für das Alter, Häufigkeitsangaben über das Geschlecht, Mittelwerte der Stimulationsindizes für PWM, HIV-*p24*- und Recallantigene, Häufigkeitsangaben positiver ($SI \geq 3$) und hochpositiver ($SI \geq 10$) Reaktionen gegen die getesteten HIV- und Recallantigene, 95%-Intervalle für die PWM- und mittleren Recallantigen-SIs sowie das 95%-Intervall für die Anzahl „erkannter“ Recallantigene zur Verfügung. Da sowohl die Ermittlung einer Standardabweichung und die Erstellung eines „Box and Whisker Plots“, als auch die Durchführung eines U- oder T-Tests das Vorliegen von Einzeldaten erfordern, ließen sich diese statistischen Auswertungen für die Kontrollgruppe bzw. für den Vergleich der Patienten- mit der Kontrollgruppe leider nicht durchführen. Eine statistische Prüfung auf signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen war nur für Häufigkeitsunterschiede möglich, da hierbei (Chi-Quadrat-Test) keine Einzeldaten erforderlich sind. Hieraus resultiert unglücklicherweise eine Beeinträchtigung des ersten Teils der Untersuchung. Diese ließ sich jedoch – trotz selbstkritischer Wahrnehmung der Mängel – leider nicht beheben.

3 Ergebnisse

3.1 Beschreibung der zellulären Immunrekonstitution unter besonderer Berücksichtigung der Helferzellfunktion in einer Gruppe antiretroviral behandelter HIV-infizierter Patienten

Im ersten Teil der Untersuchung wurde die Gesamtgruppe von 100 HIV-infizierten Patienten mit einer Kontrollgruppe immungesunder, nicht mit HIV infizierter Patienten verglichen.

3.1.1 Allgemeine Charakterisierung der Gruppen

In der Gruppe der Kontrollpersonen waren mehr Frauen als in der Patientengruppe (55 vs. 18 %). Dieser Unterschied war unbeabsichtigt, stellt jedoch aus meiner Sicht keinen gravierenden Grund dar, an der prinzipiellen Eignung beider Gruppen für einen direkten Vergleich der Funktion ihrer Lymphozyten zu zweifeln. Hinsichtlich des Alters der Probanden unterschieden sich die Gruppen nicht (Tabelle 1).

Tabelle 1: Alter und Geschlechterverteilung

			Patienten	Kontrollgruppe	p-Wert
Gesamt			100	100	
Geschlecht	Männer	%	82	45	<0,05
	Frauen	%	18	55	
Alter		Median	39,8	40,1	
		range	23-65	18-64	

Die Verteilung der HIV-infizierten Patienten bezüglich ihrer Zugehörigkeit zu einer Hauptrisikogruppe für die HIV-Infektion spiegelte die Patientenklintel beider Behandlungszentren wieder. Der größte Teil (85 %) hat sich auf sexuellem, zumeist homosexuellem Weg infiziert (Tabelle 2).

Tabelle 2: Transmissionsweg der HIV-Infektion

			Patienten
Transmissionsweg	Sexuell	%	85
	IVDU	%	6
	Sonstiges	%	9

3.1.2 Die Patientengruppe

3.1.2.1 Erkrankungsstadium und Surrogatmarkeranamnese

Die Patientengruppe bestand ausschließlich aus Personen mit einer seit mindestens sechs Monaten bekannten, und somit chronischen HIV-Infektion. Die Infektionsdauer – ermittelt seit dem ersten dokumentierten positiven HIV-Antikörpertest – betrug im Median 5,3 Jahre (Tabelle 3).

Etwa ein Fünftel der Patienten (22 %) erlitt in der Vergangenheit zumindest eine AIDS-definierende Erkrankung (Tabelle 3).

Tabelle 3: Infektionsstadium

			Patienten
Infektionsdauer	Jahre seit ED	Median	5,3
		range	0,5-18,8
CDC-Stadium	A	%	44
	B	%	34
	C	%	22

Der Nadir, also der niedrigste jemals gemessene Wert der Helferzellkonzentration in der Patientengruppe betrug 215 Zellen/ μ l im Median (Tabelle 4). Die CD4/CD8-Ratio zum Zeitpunkt der Messung des Helferzell-Nadirs betrug im Median 0,25. Das Maximum jemals gemessener Werte der HIV-Viruslast lag bei median 4,92 \log_{10} Viruskopien pro Milliliter Blut (c/ml).

Tabelle 4: Surrogatmarkeranamnese

			Patienten
Extremwerte jemals			
Nadir CD4+ T-Zellen	Zellen/ μ l	Median	215
		MW \pm SD	231 \pm 162
		range	0-710
Nadir CD4/CD8-Ratio		Median	0,25
		range	0,00-1,55
Viruslast-Maximum	\log_{10} c/ml	Median	4,92
		range	3,40-6,32
Extremwerte in den letzten 12 Monaten			
Nadir CD4+ T-Zellen	Zellen/ μ l	Median	455
		MW \pm SD	465 \pm 194
		range	134-1089
Nadir CD4/CD8-Ratio		Median	0,42
		range	0,11-2,95
Viruslast-Maximum	\log_{10} c/ml	MW \pm SD	3,85\pm4,38
		range	0,00-5,15
	Anteil <50 c/ml	%	39

Viele der Patienten wurden bereits seit Jahren antiretroviral behandelt. Dies ist mit einer verschieden stark ausgeprägten Immunrestitution einhergegangen. Um die Dynamik dieser Entwicklung in der Vergangenheit besser abschätzen zu können, wurden Extremwerte der Helferzell- und Viruskonzentrationen der letzten 12 Monate vor Bestimmung des LTT ermittelt. Der 12-Monats-Nadir der Helferzellkonzentration betrug im Median 455 Zellen/ μ l, der der CD4/CD8-Ratio 0,42.

Der Mittelwert für die innerhalb des letzten Jahres maximal gemessene HIV-Viruslast lag bei 3,85 \log_{10} c/ml (=7.134 c/ml), wobei 39 % der Patienten innerhalb dieser Zeit nie Werte oberhalb der Nachweisgrenze von 50 c/ml hatten (Tabelle 4).

3.1.2.2 Surrogatmarker aktuell

Zum Zeitpunkt der Blutentnahme für den LTT lag der Median der Helferzellkonzentration in der Patientengruppe bei 610 Zellen/ μ l (Abbildung 1), der der CD4/CD8-Ratio bei 0,56 (Tabelle 5).

Tabelle 5: Surrogatmarker zum Zeitpunkt der Untersuchung

			Patienten
CD4+ T-Zellen	Zellen/ μ l	Median	610
		MW \pm SD	646 \pm 265
		range	200-1540
CD8+ T-Zellen	Zellen/ μ l	Median	1056
		MW \pm SD	1064 \pm 503
		range	475-2870
CD4/CD8-Ratio		Median	0,56
		range	0,14-3,24
Viruslast	<50 c/ml	%	83
	c/ml	range	0-905
Dauer VL<1000	Wochen	Median	89,6
		range	13-288

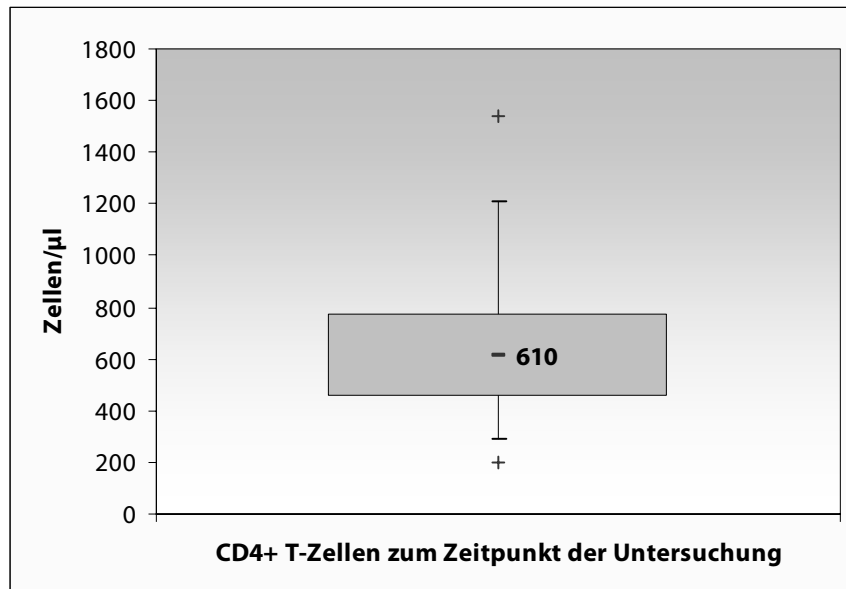


Abbildung 1: Zum Zeitpunkt des LTT lag die Helferzellkonzentration im Blut der Patientengruppe mit median 610/ μ l zu einem großen Teil im Bereich der Normwerte für Immungesunde

Die HIV-Viruslast war bei 83 % der Patienten unterhalb der Nachweisgrenze von 50 c/ml. Den Ausschlusskriterien folgend hatte keiner der Patienten zum Zeitpunkt des LTT eine Viruslast über 1000 c/ml. Der maximal gemessene Wert lag bei 905 c/ml. Im Median lag die gemessene Viruslast in der gesamten Patientengruppe seit 89,6 Wochen dauerhaft unterhalb eines Wertes von 1000 c/ml.

Ein Vergleich der Helferzellkonzentrationen in der Vergangenheit und zum Zeitpunkt der Untersuchung zeigt eine deutliche Immunrekonstitution an (Abbildung 2).

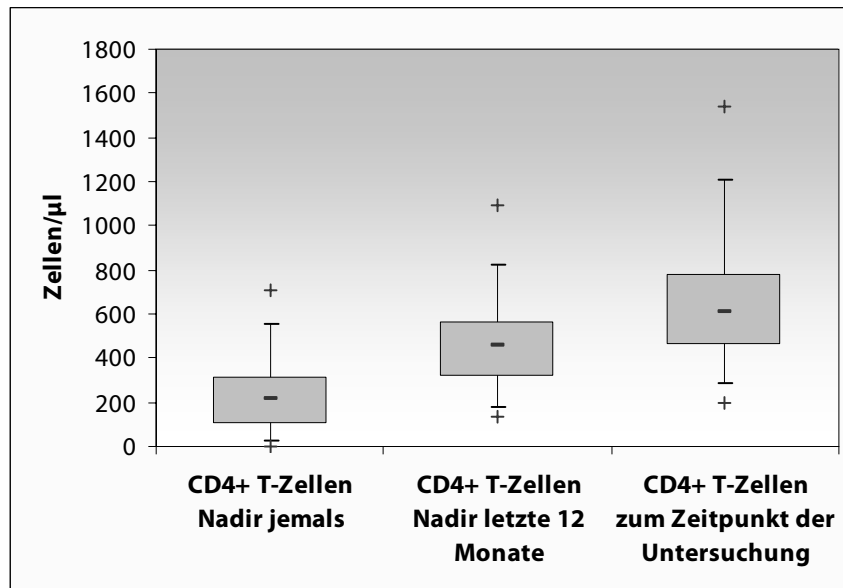


Abbildung 2: Die Helferzellkonzentrationen in der Patientengruppe sind im Rahmen der HAART-induzierten Immunrekonstitution über einen Zeitraum von mehr als einem Jahr kontinuierlich angestiegen

Für die Probanden der Kontrollgruppe lagen leider nur vereinzelt Messergebnisse der Lymphozyten-subpopulationen vor, deren Einbeziehung in die Auswertung nicht sinnvoll erschien.

3.1.2.3 ART-Anamnese

Die Patienten nahmen zum Zeitpunkt der Untersuchung seit median 197,9 Wochen antiretrovirale Medikamente ein. Gemessen wurde die Zeit seit der ersten dokumentierten Einnahme eines gegen HIV gerichteten Virostatikums. Hierbei wurde nicht berücksichtigt, ob dieses im Rahmen einer Mono-, Zweifach- oder Mehrfachkombinationstherapie verabreicht wurde.

Tabelle 6: Vorbehandlung mit antiretroviralen Substanzen

			Patienten
ART-Dauer insgesamt	Wochen	Median	197,9
	range		20,6-528,6
Dauer der aktuellen ART-Kombination	Wochen	Median	70,9
		range	13,4-295,6
Nr. der aktuellen ART-Kombination		Median	2,0
		range	1-11
Anteil „first-line“		%	27

Die aktuelle Therapiekombination wurde seit median 70,9 Wochen ununterbrochen eingenommen. Im Median nahmen die Patienten aktuell die zweite sequentiell verabreichte antiretrovirale Medikamentenkombination ein. Die Ursachen für einen Therapiewechsel in der Vergangenheit – Resistenz, Nebenwirkung etc. – wurden nicht untersucht. Etwa ein Viertel der Probanden (27 %) nahmen derzeit ihr erstes antiretrovirales Therapieregime („first-line“) ein (Tabelle 6).

Jedoch waren auch stark vorbehandelte Patienten vertreten. Je ein Patient wurde mit der neunten, zehnten und elften sequentiell verabreichten Medikamentenkombination behandelt (Abbildung 3).

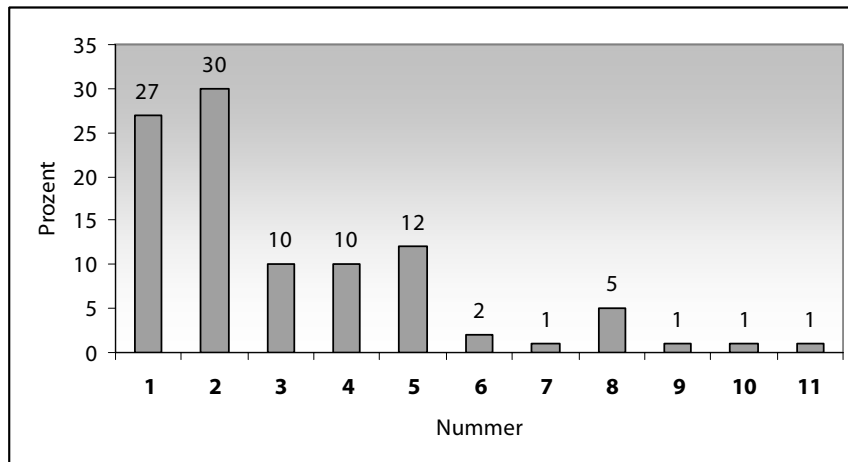


Abbildung 3: Die Intensität der antiretroviralen Vorbehandlung der Patienten – gemessen an der Nummer des aktuell verabreichten HAART-Regimes – ist heterogen. Ungefähr je ein Drittel der Patienten nehmen derzeit ihre erste, zweite und dritte bis fünfte Kombinationstherapie ein.

Unter den Arten antiretroviraler Kombinationen – bezogen auf die verwendeten antiviralen Substanzgruppen – dominierten Therapieregime unter Einschluss eines Nichtnukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitors (NNRTI). Etwa drei Fünftel (59 %) aller Patienten nahm eine derartige ART ein (Tabelle 7). Jeweils circa ein Fünftel der Patienten erhielten ein Regime aus drei Nukleosidanaloga (NRTI/19 %) bzw. eine Proteasehemmer-haltige Therapie (PI/22 %).

Tabelle 7: Arten verwendeter antiretroviraler Kombinationsregime

			Patienten
Art der ART aktuell	3NRTI	%	19
	2NRTI+1NNRTI	%	59
	2NRTI+1PI	%	4
	2NRTI+1PI/r	%	18
	Anteil ART mit PI	%	22

3.1.3 Lymphozytenproliferation

3.1.3.1 Mitogeninduzierte Lymphozytenaktivierung

Bezüglich der Proliferation nach Stimulation der PBMCs mit *Pokeweed* Mitogen (PWM) fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der HIV-infizierten Patienten- und der immungesunden Kontrollgruppe (Tabelle 8).

Tabelle 8: Lymphozytenproliferation nach Mitogenstimulation mit PWM

			Patienten	Kontrollgruppe
Mitogen				
PWM	SI	MW±SD	45,0±27,4	50,2
		range	9,6-160	19,2-102
	SI≥20	%	81	95 0,291

Bei 95 % der Kontrollpersonen lag der Stimulationsindex für PWM bei mindestens 20. Dieser Wert wurde damit als untere Grenze des Referenzbereichs definiert.

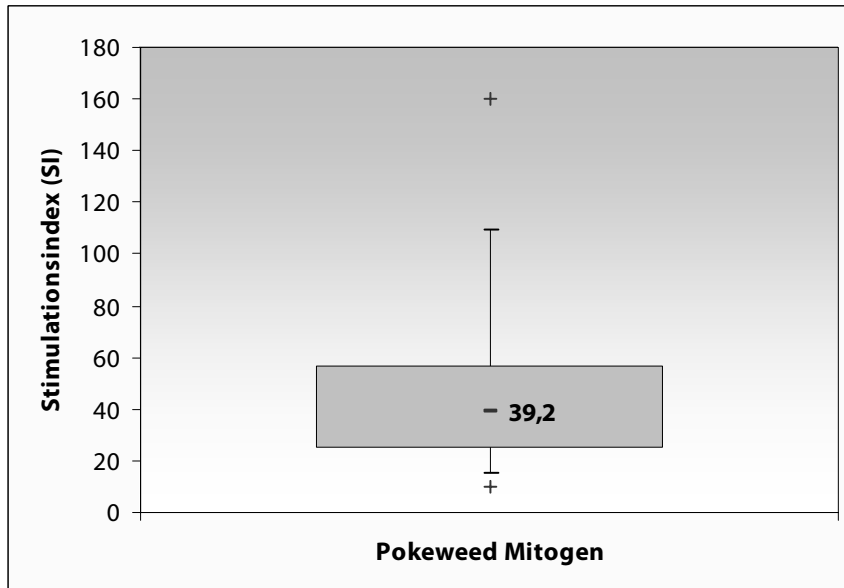


Abbildung 4: Stimulierbarkeit der Lymphozyten durch Pokeweed Mitogen in der Patientengruppe (Aufgrund fehlender Einzeldaten für die Kontrollgruppe lassen sich die gemessenen Stimulationsindizes dieser nicht zum Vergleich in Form eines Box and Whisker Plots darstellen.)

3.1.3.2 Helferzellaktivität gegen HIV

Für den Nachweis der Proliferationskapazität gegen HIV wurde das HIV-*p24*-Antigen gewählt. Dieses wird, wie oben ausgeführt, als eines der wichtigsten „targets“ der T-Zell-Antwort gegen HIV angesehen. Es wurden verschiedene Konzentrationen dieses Proteins eingesetzt. Ein Anteil von 44 %, 58 % bzw. 76 % der Patienten hatte eine nachweisbare ($SI \geq 3$), gegen HIV gerichtete Helferzellaktivität bei niedriger (*low*), mittlerer (*medium*) und hoher (*high*) Antigenkonzentration im Ansatz (Abbildung 5).

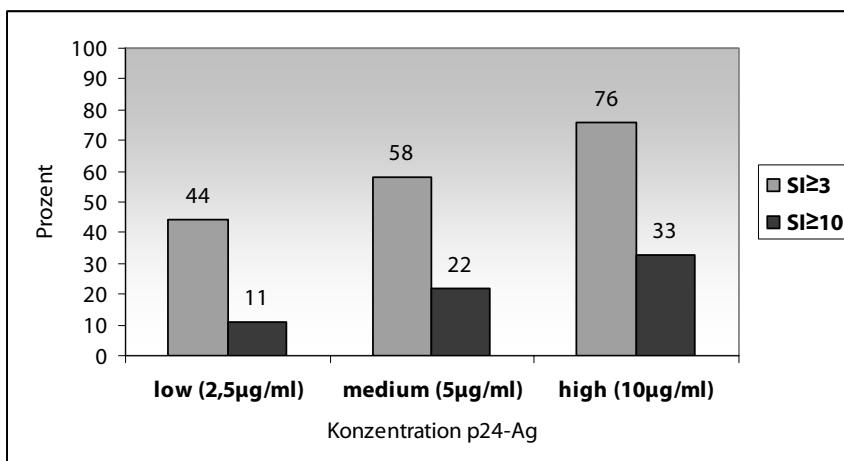


Abbildung 5: Gegen HIV gerichtete Helferzellen sind bei etwa drei Viertel aller Patienten bei Testung mit hohen Antigenkonzentrationen im Testansatz nachweisbar. Starke Reaktionen waren bei bis zu einem Drittel der Patienten meßbar.

Im Allgemeinen zeigte sich, dass die Wahrscheinlichkeit einer positiven Reaktion gegen HIV-*p24*-Antigen mit dessen Konzentration im Testansatz steigt. So reagierten die Lymphozyten aller 44 Patienten, die eine positive Reaktion gegen die niedrigste Konzentration (2,5 µg/ml) von HIV-*p24*-Antigen hatten, auch – und in der Regel stärker – gegen höhere Konzentrationen (5 und 10 µg/ml) des Antigens. Die Helferzellen von nur einem der 58 Patienten mit nachweisbarer Aktivität gegen die mittlere Konzentration von *p24*-Ag (5 µg/ml) reagierten schwach positiv auf diese ($SI=3,4$) und nicht ($SI=2,5$) auf die höhere, maximale Antigenkonzentration (10 µg/ml).

Starke Helferzellaktivität gegen HIV – ausgedrückt durch einen SI von mindestens zehn – fanden sich bei 11 %, 22 % und 33 % der Patienten nach Stimulation mit niedriger (*low*), mittlerer (*medium*) und hoher (*high*) Antigenkonzentration (Abbildung 5).

Tabelle 9: Helferzellaktivität gegen HIV-p24-Antigen

			Patienten	Kontroll- gruppe	p-Wert
HIV-p24-Antigen					
low (2,5 µg/ml)	SI	MW±SD	4,6±5,7		
	SI≥3	%	44	0	
	SI≥10	%	11		
medium (5,0 µg/ml)	SI	MW±SD	6,7±6,7		
	SI≥3	%	58	0	
	SI≥10	%	22		
high (10,0 µg/ml)	SI	MW±SD	9,1±8,5		
	SI≥3	%	76	0	
	SI≥10	%	33		

Bei keinem der 100 nicht HIV-infizierten, immungesunden Probanden der Kontrollgruppe fand sich eine lymphoproliferative Reaktion (LPR) nach Stimulation mit HIV-p24-Antigen, egal bei welcher Konzentration. Sämtliche bei den nicht HIV-infizierten Kontrollpersonen nach Stimulation mit HIV-p24-Ag bestimmten Stimulationsindizes betragen weniger als zwei und lagen damit deutlich unter dem Grenzwert von drei. Dies zeigt die hohe Spezifität des Testsystems für den Nachweis gegen HIV-p24-Antigen gerichteter zirkulierender T-Helferzellen.

Vergleicht man die lymphoproliferative Aktivität gegen die höchste getestete Konzentration von HIV-p24-Antigen mit der gegen das eingesetzte Candida- und Mykobakterien-Antigen, so finden sich bezüglich des mittleren Stimulationsindex signifikante Unterschiede (Abbildung 6). Der mediane SI gegen Candida und Mykobakterien liegt signifikant über dem gegen HIV-p24-Antigen.

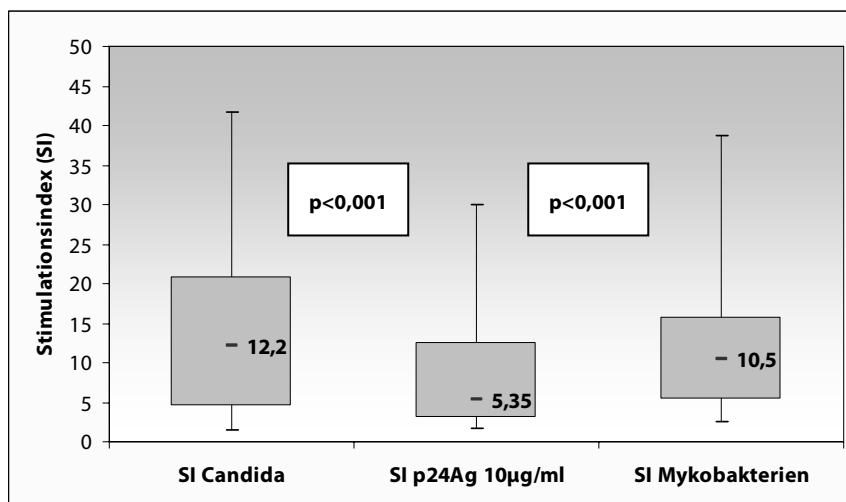


Abbildung 6: Die Helferzellaktivität gegen HIV-p24-Antigen liegt deutlich unter der gegen Candida- und Mykobakterien-Antigen (angegeben ist der Median der Stimulationsindizes)

Der mediane Patientenanteil, deren Helferzellen überhaupt gegen diese drei Antigene reagieren, unterscheidet sich jedoch nicht signifikant (Abbildung 7).

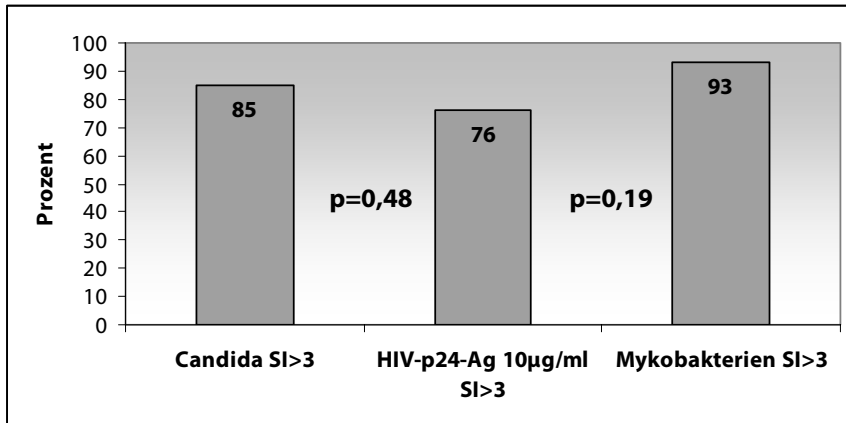


Abbildung 7: Der Patientenanteil mit überhaupt nachweisbarer ($SI \geq 3$) Helferzellaktivität gegen Candida-, HIV-p24- und Mykobakterien-Antigen unterscheidet sich nicht signifikant.

3.1.3.3 Helferzellaktivität gegen Recallantigene

Wiederum lagen – wie oben ausgeführt – von der Kontrollgruppe nur die Mittelwerte der Stimulationsindizes sowie die prozentualen Anteile positiver ($SI \geq 3$) bzw. hochpositiver ($SI \geq 10$) Reaktionen vor. Mangels Einzeldaten waren folglich weder statistische Prüfungen von Mittelwertdifferenzen, noch die Angabe von Verteilungskenngrößen wie der Standardabweichung möglich. Eine Signifikanzprüfung war nur für die Vergleiche der Häufigkeitsangaben positiver ($SI \geq 3$) bzw. stark positiver Reaktionen ($SI \geq 10$) möglich. Dennoch lassen sich Differenzen und auch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zeigen und nachweisen.

Deutliche Unterschiede zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe fanden sich in der proliferativen Aktivität der T-Helferzellen nach Stimulation mit Recallantigenen (Tabelle 10/Abbildung 8).

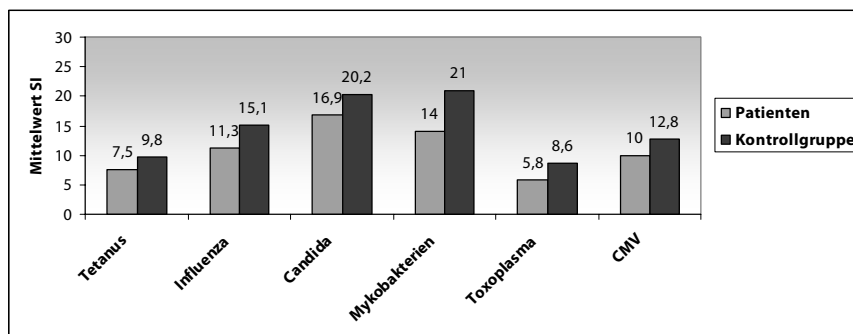


Abbildung 8: Die Mittelwerte der Stimulationsindizes (SI) gegen Recallantigene liegen tendenziell für alle getesteten Antigene in der Patientengruppe unter denen der Kontrollgruppe.

Besonders deutlich zeigten sich diese Unterschiede bei Tetanus- und Toxoplasma-Antigen. Der Anteil von Probanden, deren Helferzellen überhaupt auf eine Stimulation mit Tetanus- und Toxoplasma-Antigen reagierten ($SI \geq 3$), war in der Patientengruppe signifikant vermindert. Nur 44 % der HIV-Infizierten, verglichen mit 78 % der Immungesunden, hatten eine Helferzellaktivität gegen Tetanus-Toxoid. Ähnliche Ergebnisse fanden sich für Toxoplasma-Antigen, welches von den Helferzellen bei 49 % der HIV-infizierten Patienten, jedoch bei 76 % der immungesunden Kontrollpersonen „erkannt“ wurde (Abbildung 9).

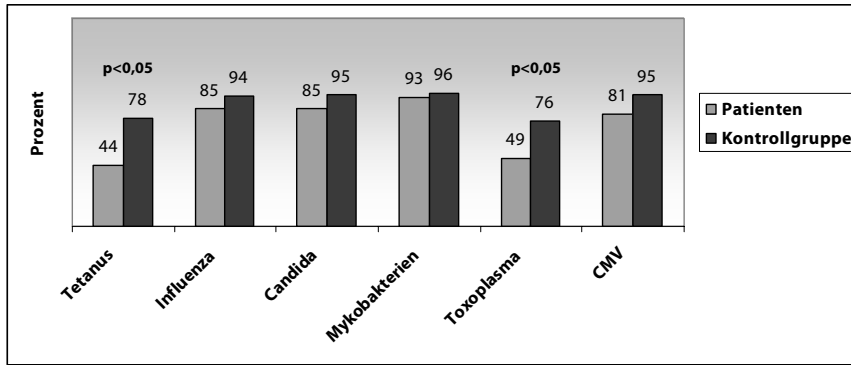


Abbildung 9: Tetanus- und Toxoplasma-Antigen wurden signifikant seltener von den Lymphozyten der Patienten als von denen der Kontrollgruppe „erkannt“

Die Abbildung 10 zeigt den Vergleich der Stimulationsindizes innerhalb der Patientengruppe gegen Mykobakterien, CMV, Influenza und Candida auf der einen und Tetanus-Toxoid auf der anderen Seite. Auch hierbei zeigt sich, dass die lymphoproliferative Aktivität gegen Tetanus-Toxoid signifikant geringer ist als gegen die anderen Recallantigene.

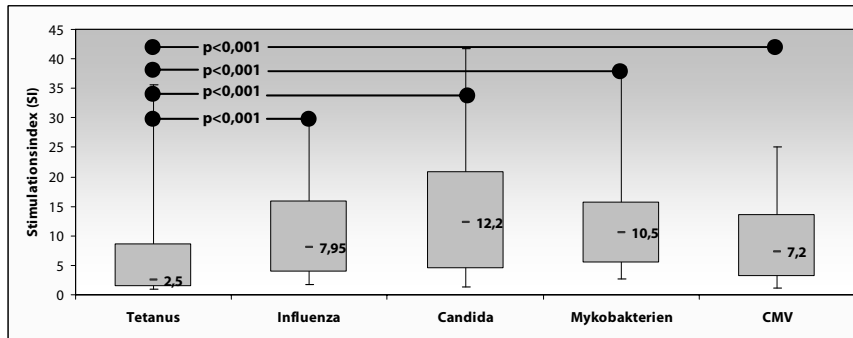


Abbildung 10: Die Helferzellaktivität gegen Tetanus-Toxoid liegt in der Patientengruppe signifikant unter der gegen Influenza, Candida, Mykobakterien und CMV (angegeben: Median der SIs)

Auch beim Vergleich des Anteils der Teilnehmer in der Patientengruppe mit einer überhaupt nachweisbaren Helferzellaktivität gegen Tetanus-Toxoid ($SI \geq 3$) zeigt sich ein signifikant geringerer Anteil (44 %) im Vergleich zu Influenza (85 %; $p < 0,001$), Candida (85 %; $p < 0,001$), Mykobakterien (93 %; $p < 0,001$) und CMV (78 %; $p = 0,002$).

Die Abbildung 11 zeigt die Helferzellaktivität gegen Toxoplasma-Antigen, dem zweiten von den Patientenlymphozyten signifikant schlechter „erkannten“ Antigen, verglichen mit der gegen Influenza, Candida, Mykobakterien und CMV in der Patientengruppe. Auch gegen Toxoplasma ist innerhalb der Patientengruppe die Aktivität signifikant geringer als gegen die anderen angegebenen Recallantigene. Auch der Anteil von Patienten, deren Helferzellen überhaupt eine lymphoproliferative Aktivität gegen Toxoplasma-Antigen zeigen ($SI \geq 3$) liegt mit 49 % signifikant unter dem mit einer positiven Reaktion gegen Influenza (85 %; $p = 0,002$), Candida (85 %; $p = 0,002$), Mykobakterien (93 %; $p < 0,001$) und CMV (78 %; $p = 0,01$)

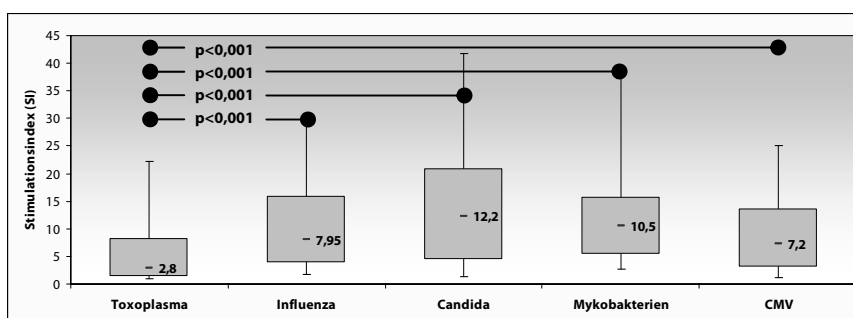


Abbildung 11: Auch die Helferzellaktivität gegen Toxoplasma-Antigen liegt signifikant unter der gegen Influenza, Candida, Mykobakterien und CMV (Median der SI angegeben)

Bei allen getesteten Recallantigenen zeigten sich in der Stärke der proliferativen Aktivität signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe. So war der Prozentsatz stark positiver Reaktionen ($SI \geq 10$) gegen alle eingesetzten Recallantigene in der Kontrollgruppe signifikant größer (Abbildung 12).

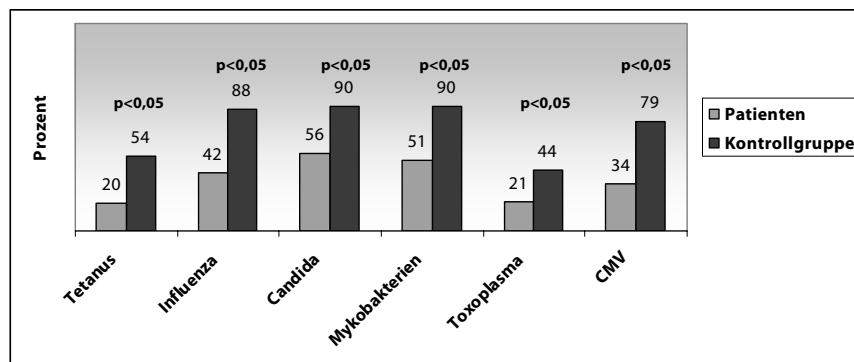


Abbildung 12: Der Anteil stark positiver Helferzellaktivitäten ($SI \geq 10$) ist in der Patientengruppe für alle getesteten Recallantigene signifikant geringer

Die mittleren Stimulationsindizes nach Testung mit verschiedenen Recallantigenen sowie der Anteil positiver ($SI \geq 3$) und stark positiver proliferativer Reaktionen ($SI \geq 10$) zeigt Tabelle 10.

Tabelle 10: Helferzellproliferation nach Stimulation mit Recallantigenen

			Patienten	Kontrollgruppe	p-Wert
Recallantigene					
Tetanus-Toxoid	SI	MW \pm SD	7,5\pm10,2	9,8	
	SI \geq 3	%	44	78	<0,05
	SI \geq 10	%	20	54	<0,001
Influenza	SI	MW \pm SD	11,3\pm9,9	15,1	
	SI \geq 3	%	85	94	0,501
	SI \geq 10	%	42	88	<0,001
Candida	SI	MW \pm SD	16,9\pm25,5	20,2	
	SI \geq 3	%	85	95	0,456
	SI \geq 10	%	56	90	<0,05
Mykobakterien (PPD)	SI	MW \pm SD	14,0\pm15,3	21,0	
	SI \geq 3	%	93	96	0,827
	SI \geq 10	%	51	90	<0,05
Toxoplasma gondii	SI	MW \pm SD	5,8\pm6,8	8,6	
	SI \geq 3	%	49	76	<0,05
	SI \geq 10	%	21	44	<0,05
CMV	SI	MW \pm SD	10,0\pm9,7	12,8	
	SI \geq 3	%	78	78	
	SI \geq 10	%	34	79	<0,001

Die lymphoproliferative Aktivität gegen alle eingesetzten Antigene in der Gruppe der HIV-infizierten Patienten zeigt die Abbildung 13.

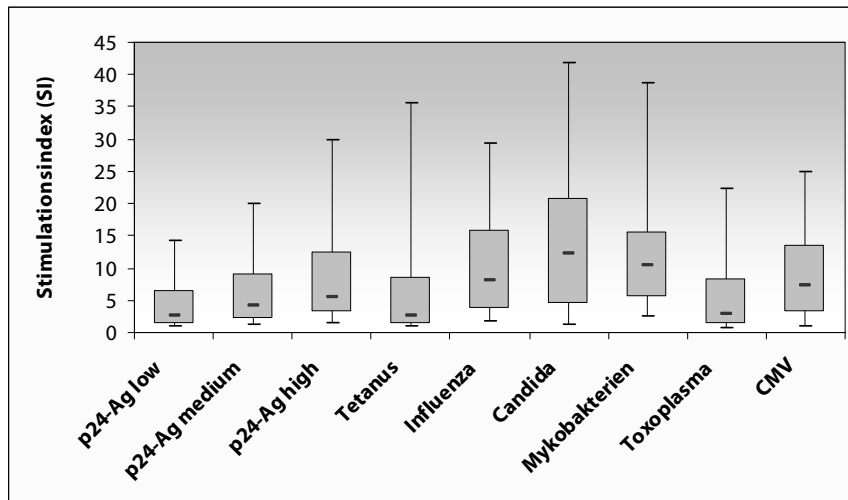


Abbildung 13:
Lymphoproliferative Aktivität gegen alle eingesetzten Antigene in der Patientengruppe (HIV-p24-Ag low=2,5 µg/ml, medium=5 µg/ml, high=10 µg/ml)

Durch die Bildung eines Mittelwerts aus den Stimationsindizes für die einzelnen Recallantigene erhält man ein Maß für die Stärke der Helferzellaktivität gegen die Gesamtheit dieser Antigene.

Tabelle 11: Helferzellaktivität gegen Recallantigene – Intensität und Vielfalt der Reaktion

			Patienten	Kontrollgruppe	p-Wert
Mittelwert der SIs für Recallantigene	MW±SD		10,9±7,5	16,5	
	MW≥10,0	%	43	95	<0,001
Anzahl Recallantigene SI≥3	≥ 4/6	%	81	95	0,291
	< 4/6	%	19	5	
Breite und Stärke	MW Recall-SIs ≥10,0 und Anzahl positiver Reaktionen ≥4/6	%	42	95	<0,001

Dieser Wert lag bei 95 % der immungesunden Patienten bei mindestens zehn. Hingegen erreichten weniger als die Hälfte, nur 43 %, der HIV-Patienten diesen Grenzwert. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant (Tabelle 11).

Neben der mittleren Intensität der Proliferation ist die Anzahl der Antigene, die eine Aktivierung von Helferzellen auslösen, ein Maß für die Vielfalt des funktionellen T-Zell-Repertoires. Helferzellen immungesunder Kontrollpersonen haben in 95 % auf mindestens vier der sechs getesteten Recallantigene durch Proliferation reagiert (SI≥3). Obwohl dies nur bei 81 % der HIV-Patienten der Fall ist, ist dieser Unterschied statistisch nicht signifikant (Tabelle 11).

Eine kombinierte Betrachtung von Intensität und Vielfalt der gegen Recallantigene gerichteten Helferzellproliferation macht Unterschiede zwischen beiden Gruppen am deutlichsten. Während die Helferzellen der immungesunden Kontrollpersonen in 95 % sowohl mindestens vier von sechs getesteten Antigenen „erkannt“, als auch mit einem mittleren SI von mindestens zehn auf eine Stimulation mit diesen proliferiert haben, war dies nur bei 42 % der HIV-Patienten der Fall. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant (Abbildung 14).

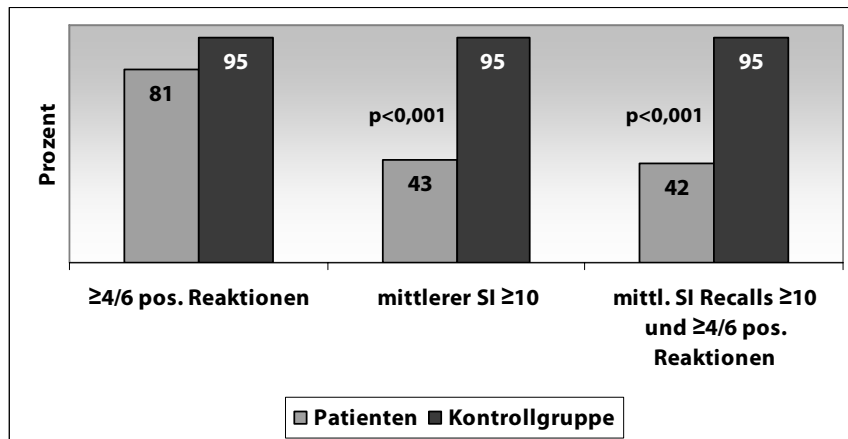


Abbildung 14: Die Helferzellaktivität gegen die Gesamtheit der Recallantigene ist bei 58% der Patienten vermindert

Betrachtet man nur die Patienten, deren Helferzellkonzentration zum Zeitpunkt des LTT mindestens 500 Zellen/ μ l betrug, so lag der mittlere Stimulationsindex nur in 50,7 % (34 von 67 Patienten) oberhalb eines Grenzwerts von zehn. Nur bei 85,1 % (57/67) der gleichen Patientensubgruppe reagierten die Helferzellen gegen mindestens vier der sechs getesteten Recallantigene (Abbildung 15).

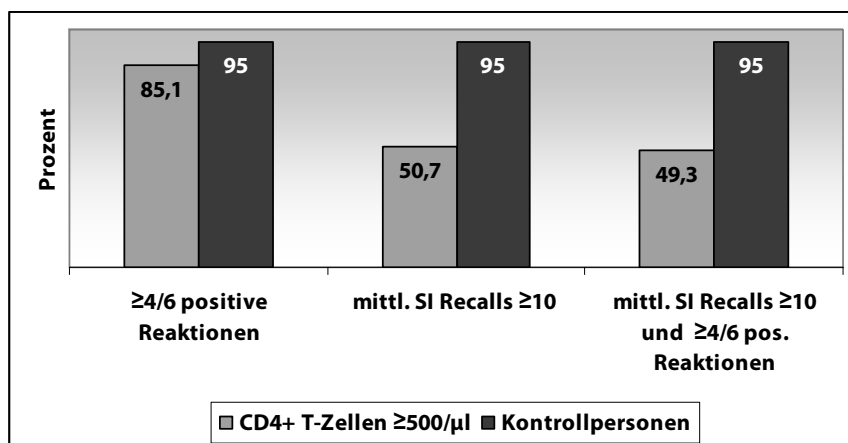


Abbildung 15: Selbst Patienten mit hervorragender quantitativer Immunrekonstitution und nahezu normalen Helferzellkonzentrationen haben in etwa 50% eine gestörte Helferzellfunktion gegen Recallantigene

Im Gegensatz zu 95 % in der Kontrollgruppe reagierten nur 49,3 % (33/67) der Helferzellen in dieser Patientensubgruppe sowohl gegen mindestens vier der sechs Recallantigene als auch taten sie dies mit einem mittleren Stimulationsindex von mindestens 10 (Abbildung 15). Die Unterschiede zur Kontrollgruppe sind jedoch statistisch nicht signifikant, was vermutlich an der kleineren Fallzahl liegt.

Es bestand in der Patientengruppe nur eine sehr geringe Korrelation zwischen der Helferzellkonzentration zum Zeitpunkt des LTT und dem mittleren Stimulationsindex für Recallantigene (Abbildung 16). Der Korrelationskoeffizient nach Spearman betrug 0,179.

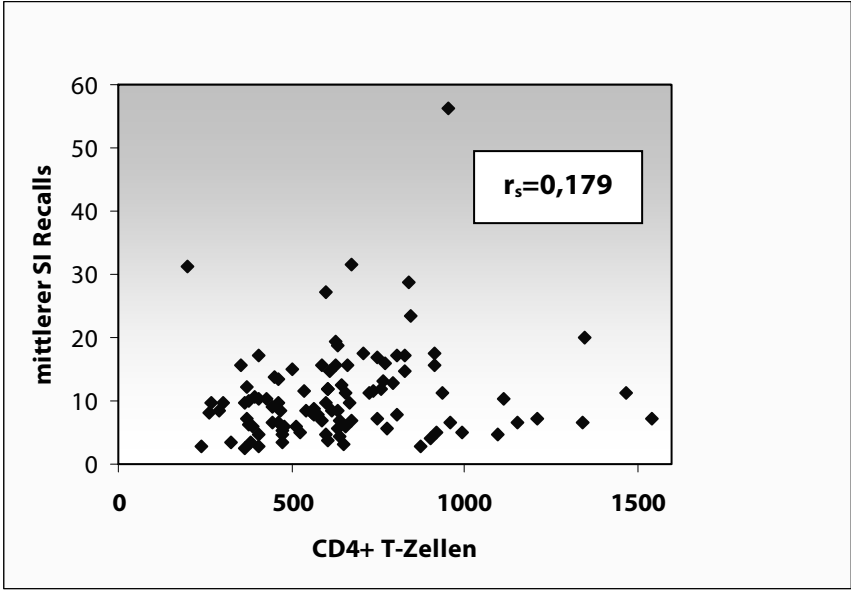


Abbildung 16: Die Helferzellkonzentration korreliert nur sehr gering mit der Helferzellfunktion gegen Recallantigene

3.2 Untersuchung der zellulären Immunrekonstitution und Helferzellfunktion in Abhängigkeit vom im Rahmen einer HAART verwendeten Thymidinanalogon

Im zweiten Teil der Analyse wurde untersucht, ob sich die lymphoproliferative Aktivität von PBMCs nach Antigen- und Mitogenstimulation in Abhängigkeit vom im Rahmen der HAART verwendeten Thymidinanalogon unterscheidet. Die Patienten in beiden Gruppen wurden, wie oben dargelegt, nur danach ausgewählt, welches der beiden Thymidinanaloga – Stavudin oder Zidovudin – sie einnahmen.

3.2.1 Charakteristika der Patientengruppen

Beide Gruppen unterschieden sich nicht hinsichtlich Alter und Geschlecht der Patienten. Ein geringer Trend zu einem höheren Frauenanteil (22 % vs. 14 %) in der Stavudin-Gruppe war statistisch nicht signifikant. Die Patienten waren in beiden Gruppen im Median 39,8 Jahre alt (Tabelle 12).

Tabelle 12: Alter und Geschlechterverteilung

			Stavudin	Zidovudin	p-Wert
Gesamt		n	50	50	
Geschlecht	Männer	%	78	86	0,34
	Frauen	%	22	14	
Alter		Median	39,8	39,8	0,77
		range	23,2-65,2	24,7-63,6	

Auch bezüglich des Transmissionsweges der HIV-Infektion fanden sich keine wesentlichen Unterschiede. Der überwiegende Teil (88 %) der Patienten hat sich auf sexuellem Weg infiziert (Tabelle 13).

Tabelle 13: Transmissionsweg der HIV-Infektion

			Stavudin	Zidovudin	p-Wert
Transmissionsweg	Sexuell	%	88	82	0,745
	IVDU	%	6	6	
	Sonstiges	%	6	12	0,317

3.2.1.1 Erkrankungsstadium und Surrogatmarkeranamnese

Hinsichtlich des klinischen Stadiums der HIV-Infektion besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Tabelle 14).

Tabelle 14: Infektionsstadium

			Stavudin	Zidovudin	p-Wert
Infektionsdauer	Jahre seit ED	Median	5,9	4,4	0,072
		range	0,5-18,8	0,7-17,4	
CDC-Stadium	A	%	46	42	0,763
	B	%	28	40	0,146
	C	%	26	18	0,393

Beim Vergleich beider Gruppen hinsichtlich der Infektionsdauer fällt ein – die statistische Signifikanz nur sehr knapp verfehlender – starker Trend zugunsten der Stavudin-Gruppe auf. Gewertet wurde die Zeit seit dem ersten dokumentierten positiven HIV-Antikörpertest (Abbildung 17/Tabelle 14).

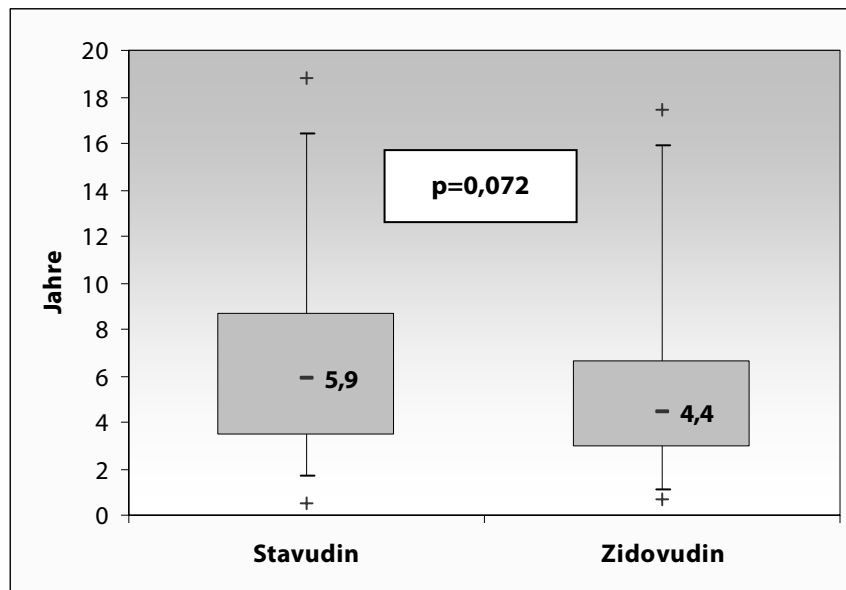


Abbildung 17: Es besteht ein starker Trend zu einer längeren Infektionsdauer in der Stavudin-Gruppe (in Jahren seit Erstdiagnose der HIV-Infektion)

Beim Vergleich der niedrigsten jemals gemessenen Helferzellkonzentrationen (CD4-Nadir) findet sich ein Trend zu geringeren Werten in der Stavudin-Gruppe, jedoch kein signifikanter Unterschied. Der Nadir CD4-positiver T-Zellen lag in der Stavudin-Gruppe bei median 207 Zellen/ μ l, in der Zidovudin-Gruppe bei 236 Zellen/ μ l (Tabelle 15). Ebenso verhalten sich die Gruppen hinsichtlich der am Helferzellnadir gemessenen CD4/CD8-Ratio (0,24 vs. 0,29). Identisch ist der Median des maximalen jemals gemessenen Wertes für die HIV-Viruslast (4,92 \log_{10}) in beiden Gruppen.

Tabelle 15: Surrogatmarkeranamnese I

			Stavudin	Zidovudin	p-Wert
Extremwerte jemals					
Nadir CD4+ T-Zellen	Zellen/ μ l	Median	207	236	0,412
		MW \pm SD	215 \pm 148	247 \pm 173	
		range	4-675	0-710	
Nadir CD4/CD8-Ratio		Median	0,24	0,29	0,234
Viruslast-Maximum	\log_{10} c/ml	Median	4,92	4,92	0,803
		range	3,4-6,2	3,9-6,3	

Die Extremwerte der routinemäßig erhobenen Surrogatmarker während des letzten Jahres vor Durchführung der Untersuchung wiesen ebenfalls Trends, jedoch keine signifikanten Unterschiede auf (Tabelle 16). Der 12-Monats-Nadir der Helferzellkonzentration im Blut lag im Median bei 441 Zellen/ μ l in der Stavudin- und bei 470 Zellen/ μ l in der Zidovudin-Gruppe. Die CD4/CD8-Ratio zum Zeitpunkt der Messung dieser niedrigsten Helferzellwerte betrug 0,40 in der Stavudin- und 0,49 in der Zidovudin-Gruppe. In beiden Gruppen lag die mediane maximale Viruslast innerhalb der letzten zwölf Monate bei 1,84 \log_{10} c/ml.

Tabelle 16: Surrogatmarkeranamnese II

			Stavudin	Zidovudin	p-Wert
Extremwerte innerhalb der letzten 12 Monate					
Nadir CD4+ T-Zellen	Zellen/ μ l	Median	441	470	0,608
		MW \pm SD	486 \pm 213	445 \pm 170	
		range	167-1089	134-770	
Nadir CD4/CD8-Ratio		Median	0,40	0,49	0,393
Viruslast-Maximum	log ₁₀ c/ml	Median	1,84	1,84	0,757
		range	0-5,15	0-5,15	

3.2.1.2 Surrogatmarker aktuell

Die Patienten der Stavudin-Gruppe hatten zum Zeitpunkt der Untersuchung eine mediane Helferzellkonzentration von 624 Zellen/ μ l Blut. In der Zidovudin-Gruppe betrug dieser Wert 603 Zellen/ μ l. Dieser Unterschied ist nicht signifikant (Tabelle 17/Abbildung 18).

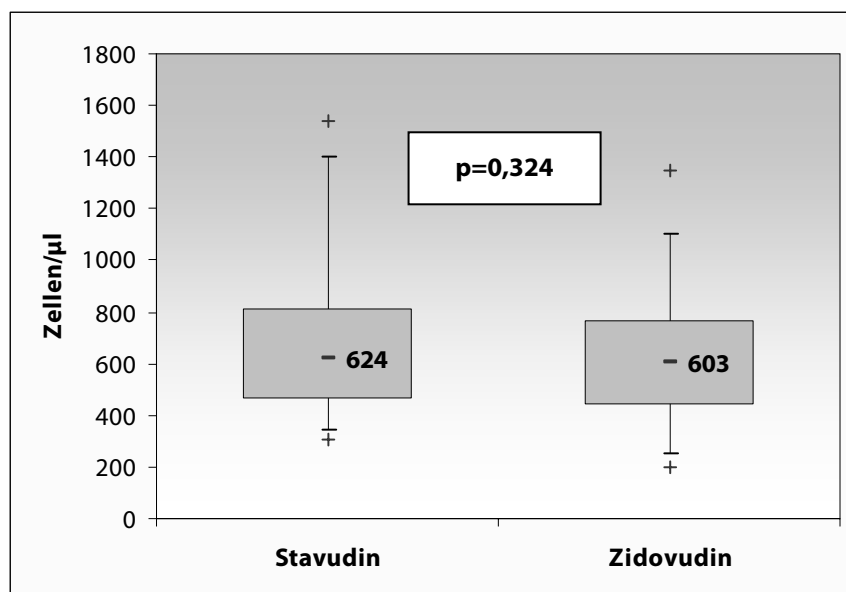


Abbildung 18: Die Konzentration CD4-positiver T-Zellen zum Zeitpunkt der Untersuchung unterscheidet sich zwischen den Gruppen nicht signifikant

Überraschenderweise signifikant war hingegen der Unterschied in der Konzentration CD8-positiver T-Zellen am Tag der Durchführung des LTT. Diese lag in der Stavudin-Gruppe mit 1137 Zellen/ μ l im Median deutlich über dem Wert der Zidovudin-Gruppe mit 966 Zellen/ μ l (Abbildung 19).

Hingegen fand sich für die CD4/CD8-Ratio kein signifikanter Unterschied.

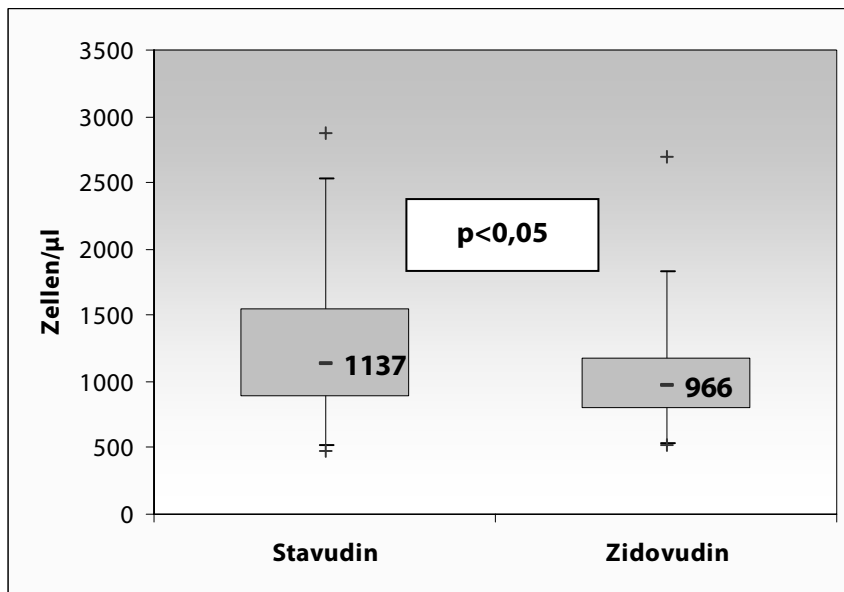


Abbildung 19: Die Konzentration CD8-positiver T-Zellen im Blut zum Zeitpunkt der Untersuchung war in der Stavudin-Gruppe signifikant höher

Nach Ermittlung der Gesamtkonzentration von T-Zellen (CD3+) durch Summierung der Konzentrationen CD4- und CD8-positiver T-Lymphozyten im Blut, ergeben sich erneut deutliche Unterschiede. Die mediane T-Zell-Gesamtkonzentration von 1735 Zellen/µl in der Stavudin-Gruppe liegt signifikant über der in der Zidovudin-Gruppe mit 1568 Zellen/µl (Abbildung 20).

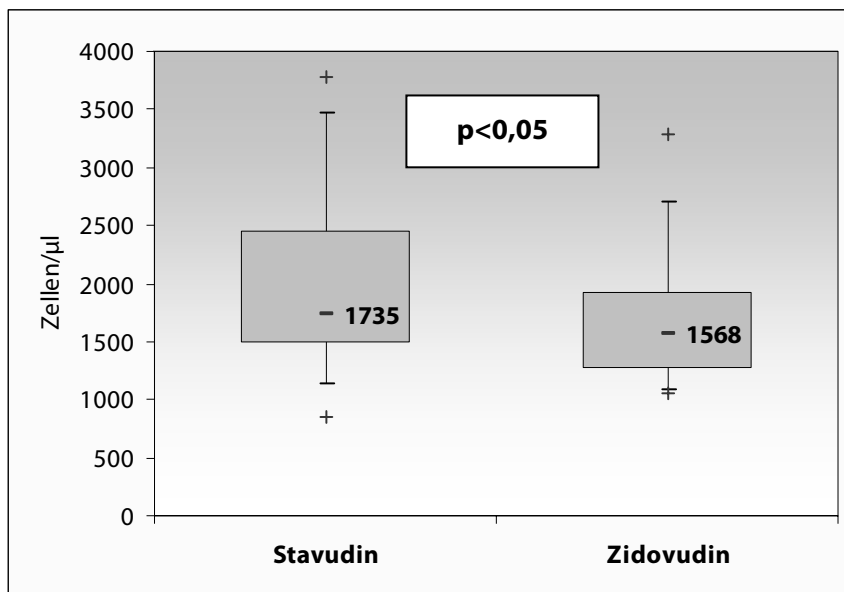


Abbildung 20: Auch die Gesamtkonzentration von T-Zellen (CD3+) im Blut lag in der Stavudin-Gruppe zum Zeitpunkt der Untersuchung signifikant höher

Die HIV-Viruslast zum Zeitpunkt der Untersuchung lag infolge der Ausschlusskriterien bei keinem Patienten über 1000 c/ml. In der Stavudin-Gruppe hatten 84 %, in der Zidovudin-Gruppe 82 % der Patienten eine Viruslast unterhalb der Nachweisgrenze von 50 c/ml (Tabelle 17).

Tabelle 17: Surrogatmarker zum Zeitpunkt der Untersuchung

			Stavudin	Zidovudin	p-Wert
CD4+ T-Zellen	Zellen/ μ l	Median	624	603	0,324
		MW \pm SD	680 \pm 284	611 \pm 240	
		range	304-1540	200-1349	
CD8+ T-Zellen	Zellen/ μ l	Median	1137	966	<0,05
		MW \pm SD	1282 \pm 570	1045 \pm 391	
		range	475-2870	516-2690	
CD4/CD8-Ratio		Median	0,54	0,58	0,345
		range	0,22-3,24	0,14-1,52	
CD3+ T-Zellen ges.	Zellen/ μ l	Median	1735	1568	<0,05
		MW \pm SD	1962 \pm 664	1657 \pm 478	
		range	857-3787	1048-3292	
Viruslast	<50 c/ml c/ml	%	84	82	
		range	0-263	0-905	
Dauer VL<1000	Wochen	Median	89,9	88,8	0,629
		range	12,9-273,1	15,6-287,9	

Auch der Zeitraum – rückblickend vom Tag der Untersuchung –, in welchem die Viruslast dauerhaft unter 1000 c/ml supprimiert war, unterschied sich mit 89,9 (Stavudin) vs. 88,8 (Zidovudin) Wochen nicht wesentlich (Tabelle 17).

3.2.1.3 ART-Anamnese

Das Ausmaß der Vorbehandlung mit antiretroviralen Substanzen jedoch unterschied sich deutlich zwischen den Gruppen. Die Patienten der Stavudin-Gruppe nahmen mit median 269 Wochen signifikant länger antiretrovirale Medikamente ein als Patienten der Zidovudin-Gruppe, die im Median seit 156,2 Wochen behandelt wurden (Abbildung 21).

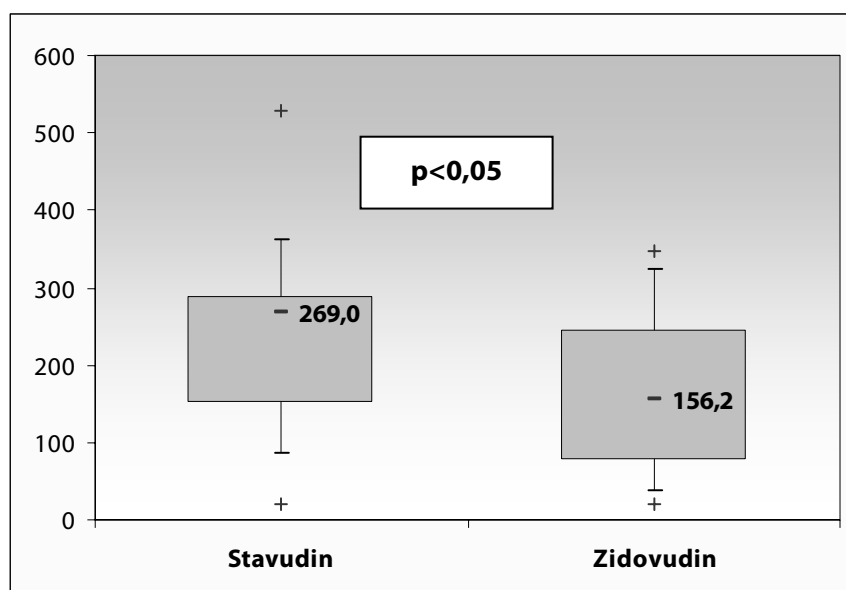


Abbildung 21: Die Patienten der Stavudin-Gruppe waren signifikant länger kumulativ antiretroviral behandelt (Behandlungsdauer in Wochen)

Parallel zur längeren Gesamtdauer einer ART unterschieden sich die Gruppen zudem signifikant in der Nummer des aktuellen, sequentiell verabreichten Medikamentenregimes. So erhielten die Patienten der Stavudin-Gruppe im Median aktuell ihre dritte antiretrovirale Medikamentenkombination, wohingegen die der Zidovudin-Gruppe erst ihr zweites ART-Regime erhielten (Tabelle 18). Auch in der Dauer der kontinuierlichen Einnahme des aktuell verwendeten ART-Regimes zeigt sich ein Trend zugunsten längerer Zeit in der Stavudin-Gruppe (80,6 vs. 66,4 Wochen), der jedoch statistisch nicht signifikant ist.

Tabelle 18: Vorbehandlung mit antiretroviralen Substanzen

			Stavudin	Zidovudin	p-Wert
ART-Dauer insgesamt	Wochen	Median	269,0	156,2	<0,001
		range	20,7-528,6	20,6-348,3	
Dauer der aktuellen ART-Kombination	Wochen	Median	80,6	66,4	0,253
		range	17,9-199,1	13,4-295,6	
Nr. der aktuellen ART-Kombination		Median	3,0	2,0	<0,05
		range	1-11	1-8	
Anteil „first-line“		%	18	36	0,083

Zudem zeigte sich hinsichtlich des Anteils der Patienten, die aktuell ihre erste antiretrovirale Medikamentenkombination einnahmen, ein starker Trend zugunsten der Zidovudin-Gruppe. Der Unterschied verfehlte nur knapp die Kriterien statistischer Signifikanz ($p=0,083$).

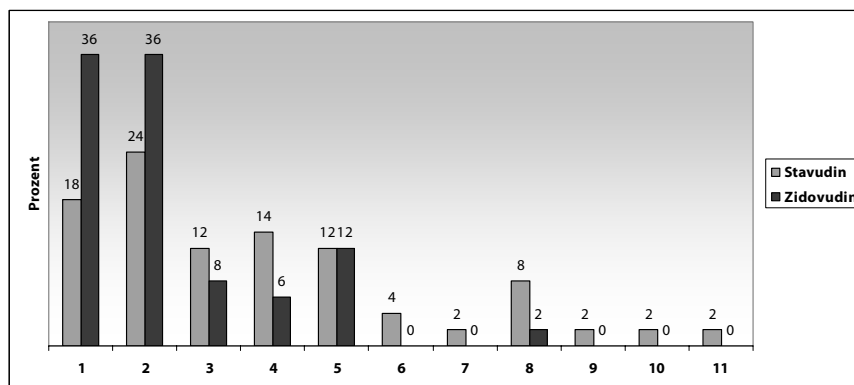


Abbildung 22: Patienten der Zidovudin-Gruppe nehmen aktuell tendenziell öfter ihr erstes oder zweites ART-Regime ein, während Stavudin-Patienten tendenziell stärker vorbehandelt sind (Nummer des aktuellen ART-Regimes)

Unerwartet stark unterschieden sich die Gruppen hinsichtlich der Arten antiretroviraler Substanzen, die zum Zeitpunkt der Untersuchung eingenommen wurden. So erhielten signifikant mehr Patienten in der Zidovudin-Gruppe eine Kombination aus drei verschiedenen Nukleosidanaloga. Außerdem fand sich ein starker Trend zu einer aktuell häufigeren Behandlung der Patienten der Stavudin-Gruppe mit Proteasehemmern (Tabelle 19/Abbildung 23).

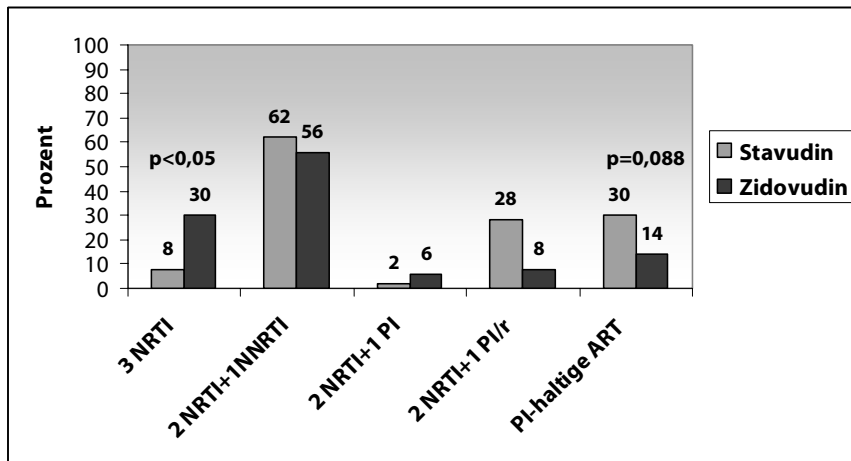


Abbildung 23: In der Zidovudin-Gruppe wurden signifikant mehr Patienten mit einem ART-Regime aus drei Nucleosidanaloga behandelt, wohingegen die Patienten der Stavudin-Gruppe tendenziell öfter ein Proteasehemmerhaltiges Regime erhielten

Tabelle 19: Arten verwendeter antiretroviraler Kombinationsregime

			Stavudin	Zidovudin	p-Wert
Art der ART aktuell	3NRTI	%	8	30	<0,05
	2NRTI+1NNRTI	%	62	56	0,696
	2NRTI+1PI	%	2	6	
	2NRTI+1PI/r	%	28	8	
	Anteil ART mit PI	%	30	14	0,088

(NRTI: Nucleosidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitor, NNRTI: Nichtnucleosidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitor, PI: Protease-Inhibitor, r: „baby-dose“ = 100mg Ritonavir als „Booster“)

3.2.2 Lymphozytenproliferation

3.2.2.1 Mitogeninduzierte Lymphozytenaktivierung

Die Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant hinsichtlich der Aktivierbarkeit ihrer Lymphozyten durch Pokeweed Mitogen (Tabelle 20).

Tabelle 20: Lymphozytenproliferation nach Mitogenstimulation mit PWM

			Stavudin	Zidovudin	p-Wert
Mitogen					
PWM	SI	Median	43,6	38,5	0,473
		MW±SD	46,6±27,0	43,5±27,8	
		range	9,6-124,0	12,0-160,0	
	SI≥20	%	80	82	0,911

3.2.2.2 Helferzellaktivität gegen HIV

Es bestehen keine signifikanten Unterschiede der HIV-spezifischen Helferzellaktivität (Abbildung 24/ Tabelle 21).

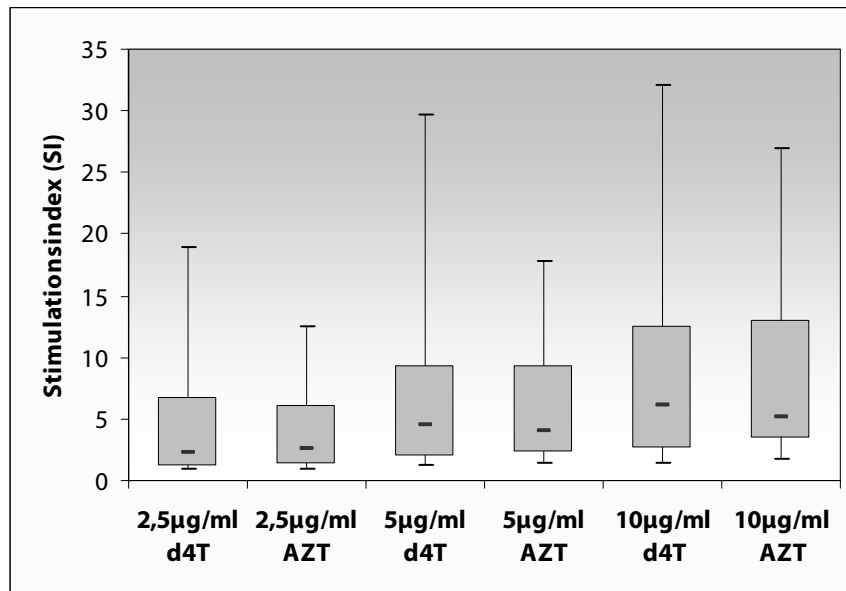


Abbildung 24: Die Stimulierbarkeit der Helferzellen beider Gruppen durch verschiedene Konzentrationen von HIV-p24-Antigen unterscheidet sich nicht signifikant (d4T= Stavudin; AZT=Zidovudin)

Tabelle 21: Helferzellaktivität gegen HIV-p24-Antigen

			Stavudin	Zidovudin	p-Wert
HIV-p24-Antigen					
low (2,5 µg/ml)	SI	MW±SD	5,1±7,0	4,1±3,8	
	SI	Median	2,2	2,6	0,783
	SI≥3	%	46	42	0,763
	SI≥10	%	14	8	0,365
medium (5,0 µg/ml)	SI	MW±SD	7,3±7,9	6,2±5,0	
	SI	Median	4,5	4,1	0,799
	SI≥3	%	56	60	0,793
	SI≥10	%	14	24	0,251
high (10,0 µg/ml)	SI	MW±SD	9,1±8,9	9,1±8,0	
	SI	Median	6,1	5,1	0,551
	SI≥3	%	70	82	0,491
	SI≥10	%	34	32	0,862

3.2.2.3 Helferzellaktivität gegen Recallantigene

Die Gruppen zeigten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der gegen die verschiedenen getesteten Recallantigene gerichteten Helferzellaktivität (Tabelle 22/Abbildung 25).

Tabelle 22: Helferzellproliferation nach Stimulation mit Recallantigenen

			Stavudin	Zidovudin	p-Wert
Recallantigene					
Tetanus-Toxoid	SI	MW±SD	8,0±10,6	7,0±9,7	
	SI	Median	2,5	2,7	0,772
	SI≥3	%	44	44	
	SI≥10	%	22	18	0,654
Influenza	SI	MW±SD	11,1±9,2	11,4±10,5	
	SI	Median	7,8	8,0	0,820
	SI≥3	%	88	82	0,744
	SI≥10	%	44	40	0,758
Candida	SI	MW±SD	14,5±11,6	19,2±34,1	
	SI	Median	12,5	11,9	0,926
	SI≥3	%	88	82	0,745
	SI≥10	%	56	56	
Mykobakterien	SI	MW±SD	12,1±8,1	15,9±19,8	
	SI	Median	11,1	8,4	0,918
	SI≥3	%	90	96	0,755
	SI≥10	%	56	46	0,483
Toxoplasma gondii	SI	MW±SD	5,4±5,4	6,3±7,9	
	SI	Median	2,8	2,7	0,804
	SI≥3	%	48	50	0,886
	SI≥10	%	22	20	0,827
CMV	SI	MW±SD	10,3±10,6	9,7±8,8	
	SI	Median	6,8	7,5	0,926
	SI≥3	%	76	80	0,821
	SI≥10	%	34	34	

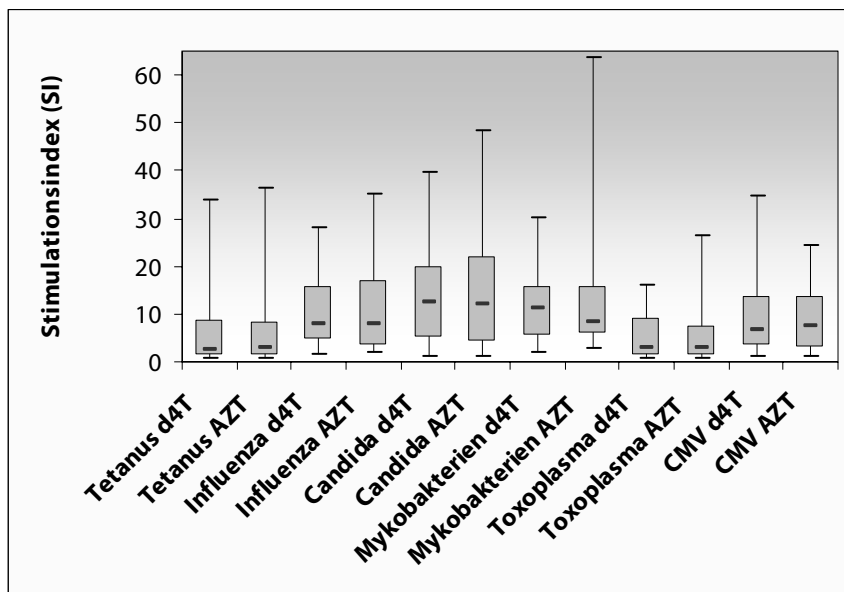


Abbildung 25: Die Gruppen zeigen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich ihrer Helferzellaktivität gegen verschiedene Recallantigene (d4T=Stavudin; AZT=Zidovudin)

Schließlich konnten auch bezüglich der Gesamtintensität und -vielfalt der Helferzellreaktion gegen Recallantigene keine signifikanten Unterschiede gefunden werden (Tabelle 23).

Tabelle 23: Helferzellaktivität gegen Recallantigene – Intensität und Vielfalt der Reaktion

			Stavudin	Zidovudin	p-Wert
Breite und Stärke der Helferzellaktivität gegen Recallantigene					
Mittelwert der SIs für Recallantigene	MW±SD		10,2±5,2	11,6±9,3	0,956
	MW≥10,0	%	40	46	0,647
Anzahl Recallantigene SI≥3	≥4/6	%	78	84	
	<4/6	%	22	16	0,491
Breite und Stärke	MW Recall-SIs ≥10,0 und Anzahl positiver Reaktionen ≥4/6	%	38	46	0,537

4 Diskussion

Im ersten Teil der Untersuchung wurde analysiert, ob und wie sich die proliferative Aktivität von PBMCs einer Gruppe HIV-infizierter, erfolgreich antiretroviral behandelter Patienten von der immungesunder Kontrollpersonen unterscheidet. Hierbei fanden sich in der Patientengruppe signifikant seltener überhaupt nachweisbare Helferzellaktivitäten gegen Tetanus- und Toxoplasma-Antigen, sowie signifikant seltener eine starke lymphoproliferative Reaktion ($SI \geq 10$) gegen alle getesteten Recallantigene. Während die Lymphozyten von 95% der Kontrollpersonen mit einem mittleren Stimulationsindex von mindestens zehn gegen alle getesteten Recallantigene reagierten, war dies nur bei 43% der Patienten, und damit signifikant seltener, der Fall. Somit kann ein signifikanter Funktionsdefekt der PBMCs HIV-infizierter Patienten gegen Recallantigene konstatiert werden. Während sich in der HIV-negativen Kontrollgruppe keine gegen HIV-*p24*-Antigen gerichteten Helferzellen detektieren ließen, konnten solche in der Patientengruppe in bis zu drei Viertel der Fälle nachgewiesen werden. Bezüglich der durch *Pokeweed*-Mitogen ausgelösten Lymphozytenproliferation fanden sich keine signifikanten Unterschiede.

Der zweite Teil der Untersuchung stand unter der Fragestellung, ob sich die lymphoproliferative Aktivität in Abhängigkeit vom im Rahmen einer HAART verwendeten Thymidinanalogon unterscheidet. Hierzu wurden die LTT-Befunde zweier Gruppen von je 50 Patienten, die entweder eine Stavudin- oder eine Zidovudin-haltige Therapie erhielten, miteinander verglichen. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in der lymphoproliferativen Aktivität nach Stimulation der PBMCs mit *Pokeweed*-Mitogen, HIV-*p24*-Antigen sowie mit Recallantigenen gefunden werden. Jedoch fanden sich unbeabsichtigte, relevante Unterschiede zwischen den Patientengruppen. Diese zeigten sich in der mittleren Infektionsdauer (starker Trend zugunsten der Stavudin-Gruppe), in der antiretroviralen Vorbehandlung (signifikant längere und mehr unterschiedliche Vortherapien in der Stavudin-Gruppe), in der Art der aktuellen HAART (starker Trend zu häufigerer „*first-line*“-Therapie in der Zidovudin-, zu häufigerer Proteasehemmer-haltiger Therapie in der Stavudin-Gruppe sowie signifikant mehr „Triple-Nukleosidanaloga“-Therapien in der Zidovudin-Gruppe) sowie in der Zusammensetzung der Lymphozytensubpopulationen (signifikant mehr Gesamt- und CD8-positive T-Zellen in der Stavudin-Gruppe). Diese Unterschiede begründen Zweifel an der Vergleichbarkeit der Gruppen und lassen die Aussage einer sicher fehlenden Beeinflussung der Lymphozytenproliferation durch die unterschiedlichen Thymidinanaloga fraglich erscheinen.

4.1 Vergleich von 100 HIV-infizierten Patienten mit einer gesunden Kontrollgruppe

4.1.1 Patientencharakterisierung

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden labormedizinische Messwerte des zellulären Immunstatus und das Ausmaß der damit erfassbaren Immunschädigung und -rekonstitution in einer Gruppe von 100 antiretroviral behandelten HIV-infizierten Patienten untersucht. Ein genauer Infektionszeitpunkt ließ sich nur für einen geringen Prozentsatz dieser ermitteln, sodass die Zeit seit dem ersten dokumentierten positiven HIV-Antikörpertest als Näherungsmaß für die Infektionsdauer dienen musste. Hierbei handelt es sich jedoch nur um einen groben Anhaltswert, da es sowohl Patienten gab, die unmittelbar nach der Serokonversion HIV-positiv getestet wurden, als auch solche, deren HIV-Infektion erst nach dem Auftreten opportunistischer Infektionen erstmals diagnostiziert wurde. Im Median war die Infektion zum Zeitpunkt der Untersuchung seit 5,3 Jahren bekannt, wobei diese Zeit innerhalb der Patientengruppe jedoch inhomogen ist und für mehr als 50 Prozent der Patienten

zwischen drei und acht Jahren beträgt. Die kürzeste Zeit betrug sechs Monate. Es handelt es sich somit ausschließlich um Patienten mit chronischer HIV-Infektion.

Mehr als die Hälfte der Patienten (56 %) hatte bereits HIV-bedingte klinische Symptome (CDC-Stadium B und C). Betrachtet man den tiefsten jemals gemessenen Wert der Helferzellkonzentration, welcher bei fast drei Viertel aller Patienten unter 300 Zellen/ μ l lag, so liegt bei der Mehrzahl zweifellos eine fortgeschrittene, mit ausgeprägter Schädigung des Immunsystems einhergegangene HIV-Infektion vor. Bei allen Patienten bestand in der Vergangenheit die Indikation für eine antiretrovirale Therapie. Auch wenn die Expertenmeinungen zum Beginn einer Behandlung in den letzten Jahren starken Veränderungen, hin zu einem immer mehr abwartenden Verhalten, unterlegen waren und infolge dessen die Indikation bei einem Teil der Patienten aus heutiger Sicht nicht mehr gestellt würde, bestanden doch bei der Mehrzahl – zumindest bei den symptomatischen Patienten – Anzeichen für eine HIV-bedingte Schädigung des Immunsystems und damit auch aus heutiger Sicht eindeutige Gründe für eine Therapie [125].

Die Patienten wurden überwiegend seit längerer Zeit erfolgreich antiretroviral behandelt. Die mediane Gesamtdauer einer ART beträgt ca. 3,8 Jahre (197,9 Wochen). Die Viruskonzentration in der Gesamtgruppe ist im Median seit fast 1,75 Jahren (89,6 Wochen) kontinuierlich unter 1000 c/ml supprimiert und 83 % der Patienten hatten zum Zeitpunkt der Untersuchung eine Viruslast unterhalb der Nachweisgrenze von 50 c/ml. Durch die Einschlusskriterien der Untersuchung (aktuelle ART seit mindestens zwölf Wochen, Viruslast seit mindestens zehn Wochen kontinuierlich unter 1000 c/ml) wurde sichergestellt, dass sich die Patienten nicht mehr in der mit vornehmlicher Redistribution von Helferzellen aus lymphatischen Geweben und konsekutiv rapider Konzentrationszunahme dieser im Blut einhergehenden ersten Phase der Immunrekonstitution befanden. Der Vergleich der niedrigsten Helferzellkonzentrationen jemals und der innerhalb des letzten Jahres mit den aktuellen Werten (Abbildung 2) zeigt, dass bei den Patienten überwiegend bereits eine ausgeprägte Immunrekonstitution stattgefunden hat.

Zusammenfassend kann also konstatiert werden, dass es sich um chronisch Infizierte handelt, deren HIV-Infektion in der Vergangenheit vornehmlich bereits zu einer ausgeprägten Schädigung des Immunsystems geführt hat und die sich seit längerem in einer Phase kontinuierlich fortschreitender Immunrekonstitution unter HAART befinden.

4.1.2 Mitogeninduzierte Lymphozytenproliferation

Die Patientengruppe unterschied sich hinsichtlich der Stimulierbarkeit ihrer PBMCs durch *Pokeweed* Mitogen nicht signifikant von der Kontrollgruppe (Tabelle 8). Auch wenn nur bei 81 % der Patienten, verglichen mit 95 % der Immungesunden, ein Stimulationsindex von mindestens 20 nach PWM-Reizung erreicht wurde, war dieser Unterschied statistisch nicht signifikant. Auch bezüglich des mittleren Stimulationsindex für PWM zeigte sich ein Trend zugunsten höherer Werte bei den nicht infizierten Probanden. Dieser Unterschied konnte jedoch mangels Einzeldaten für die Kontrollgruppe nicht statistisch geprüft werden.

In mehreren Studien wurde die Proliferation von Lymphozyten antiretroviral behandelter und unbehandelter HIV-Infizierter nach einer Stimulation mit Mitogenen untersucht. Eine verminderte lymphoproliferative Reaktion (LPR) konnte nach Stimulation mit PHA [101, 102, 105, 106], Con-A [105, 106], Anti-CD3 mAb [85, 205] und PWM [101, 105, 106] bei einem relevanten Teil der Patienten nachgewiesen werden. Während die Proliferation von PBMCs nach Stimulation mit PHA und Con-A i. d. R. erst in weiter fortgeschrittenen klinischen Stadien der Erkrankung eingeschränkt ist, zeigt sich eine verminderte Stimulierbarkeit durch PWM bereits in früheren Phasen der Infektion

[106, 119, 206, 207]. Diese korreliert mit dem Erkrankungsstadium [206]. Die eingeschränkten LPR nach Stimulation mit PWM [208, 209] und Anti-CD3 mAb [205, 210] konnten als eigenständige, von der Helferzellzahl unabhängige Risikofaktoren für die Entwicklung HIV-bedingter klinischer Symptome und für die Progression zu AIDS bei nicht mit einer antiretroviralen Kombinationstherapie behandelten Patienten identifiziert werden. Zudem konnte bei nicht mit einer HAART behandelten Patienten eine stärkere LPR nach Stimulation mit PHA und Anti-CD3 mAb mit einer längeren Überlebenszeit nach dem Auftreten von AIDS korreliert werden und war in einer Studie diesbezüglich aussagekräftiger als die Helferzellkonzentration im Blut [211]. Schließlich traten bei antiretroviral behandelten HIV-infizierten Kindern mit einer Verbesserung der durch Mitogen (PHA) und Alloantigen ausgelösten T-Tell-Proliferation signifikant weniger opportunistische und sonstige Infekte auf als bei Kindern ohne Verbesserung dieser Zellfunktionen. Dabei korrelierte die T-Zell-Funktion besser mit dem Infektionsrisiko als die Zunahme der Helferzellkonzentration [212, 213].

Die geringen Unterschiede zwischen Infizierten- und Kontrollgruppe in der vorliegenden Untersuchung sind vermutlich auf die Tatsache zurückzuführen, dass es sich um Patienten mit insgesamt bereits ausgeprägter, länger andauernder HAART-induzierter Immunrestitution handelt. Aus Untersuchungen ist bekannt, dass die mitogeninduzierte Lymphozytenproliferation mit zunehmender Progression der Erkrankung deutlich länger als die Stimulierbarkeit durch Recallantigene erhalten bleibt [102] und sich nach dem Beginn einer HAART auch recht schnell und weitgehend vollständig wieder regeneriert [84, 111, 113, 150, 156]. Die PWM-induzierte LPR korreliert zudem mit der Helferzellkonzentration [119], welche in der Patientengruppe im Mittel nahezu Normalwerte erreicht hat.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Stimulierbarkeit der PBMCs durch PWM in der Patientengruppe nicht relevant vermindert ist, was vermutlich an einer guten Immunrestitution unter langdauernder HAART-induzierter Virussuppression liegt.

4.1.3 HIV-spezifische Helferzellaktivität

Der Patientenanteil mit einer durch Verwendung einer Antigenkonzentration von 2,5 µg/ml HIV-*p24*-Ag nachweisbaren, gegen HIV gerichteten Helferzellaktivität ist mit 44 % vergleichbar mit den Ergebnissen publizierter Studien bei antiretroviral behandelten HIV-infizierten Personen (Tabelle 24). Ähnliche oder geringere Antigenkonzentrationen wurden in den meisten publizierten Untersuchungen verwendet („*p24*Ag pro well“/Tabelle 24). Beim Einsatz höherer Konzentrationen ließen sich deutlich bessere Responderraten von bis zu 76 % – bei einer Antigenkonzentration von 10 µg/ml – ermitteln (Abbildung 5). Dies liegt deutlich über den Ergebnissen publizierter Arbeiten (Tabelle 24).

In zahlreichen Untersuchungen ließ sich – verglichen mit anderen Recallantigenen – nicht nur eine auffallend geringe HIV-spezifische Helferzellaktivität bereits in frühen Phasen der unbehandelten Infektion nachweisen [216, 217, 218, 219, 220], sondern auch eine verhältnismäßig geringere Zunahme dieser unter einer suffizienten HAART [84, 108, 111, 149, 165, 218, 221]. Bei chronisch HIV-infizierten Patienten unter HAART fanden sich zumeist nur bei deutlich weniger als zwei Drittel der Patienten überhaupt gegen HIV-*p24*-Antigen gerichtete Helferzellaktivitäten (Tabelle 24). Bei Stimulation mit anderen HIV-Antigenen, wie dem *env*-Genprodukt *gp160*, waren die Responderraten noch schlechter [151, 202, 216, 217, 218, 220]. In vielen Arbeiten zeigt sich ein auffallendes Missverhältnis zu anderen Antigenen wie Candida, PPD und CMV, welche von den Helferzellen vieler Patienten i. d. R. deutlich besser erkannt werden [151, 156, 166, 214].

Tabelle 24: Anteil positiver HIV-p24-LPR bei Patienten unter HAART in publizierten Studien

Studie	n	p24Ag pro well	cutoff SI p24Ag	PBMC pro well	CD4 vor HAART	CD4 bei LTT	positive p24-LPR unter HAART	Viruslast zum LTT
[113]	42	1 µg/ml	3	3x10 ⁵	284	413	48Wo: 24,4 %	
[151]	17	2,5µg/ml	10	1x10 ⁵	556	800	48Wo: 69 %	90 % <50
[214]	10	2 µg/ml	5	2x10 ⁵	Nadir 29	497	>1a: 50 %	100 % <500 seit ø 1,6a
[214]	8	2 µg/ml	5	2x10 ⁵	Nadir 497	855	>1a: 0 %	100 % <500 seit ø 2,6a
[156]	43	5 µg/ml	3		Nadir 280	694	ø 41Mo: 53 %	ø33,5Mo<50
[166]	24	1 µg/ml	3	1x10 ⁵	756	970	72Wo: 30 %	85 % <50
[215]	39	1 µg/ml	3		n ₁ =31 >500 n ₂ =8 <500	>850	48Wo: n ₁ 39 % n ₂ 37 %	73-84 % <50
[171]	42	1 µg/ml	3	3x10 ⁵	286		96 Wo: 44 %	88 % <200
[111]	7	1 µg/ml	2	2x10 ⁵	179	385	20 Wo: 2/7	
[108]	8	6 µg/ml	3	1x10 ⁵	40-403		9 Mo: 1/8	>2,5log ₁₀ Reduktion

Gleichartige Diskrepanzen zeigen sich auch in den vorliegenden Daten. Der mittlere Stimulationsindex nach Reizung mit der höchsten Konzentration von HIV-p24-Ag liegt in der Patientengruppe signifikant unter dem nach Stimulation mit Candida und PPD gemessenen (Abbildung 6). Jedoch ließ sich bezüglich des Patientenanteils mit überhaupt nachweisbarer Helferzellaktivität gegen diese drei Antigene zwar ein Trend zu geringeren Raten bei HIV-p24-Ag, jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied finden (Abbildung 7). Ob der Vergleich der mittleren Stimulationsindizes in diesem Fall überhaupt statthaft ist, erscheint diskussionswürdig. Zum einen findet sich eine deutliche Abhängigkeit der Responderraten gegen HIV-p24-Ag von der zur Stimulation eingesetzten Antigenkonzentration (Abbildung 5). Dies ist vermutlich auch bei den zur Stimulation verwendeten Candida- und PPD-Antigenen der Fall. Standardisierte Antigenkonzentrationen, die äquivalente Helferzellreaktionen bei vergleichbarer antigenspezifischer Helferzellfrequenz erzeugen, sind nicht bekannt. Zudem unterscheiden sich die verwendeten Antigenpräparationen in ihrer Art deutlich. Im Fall von HIV-p24-Ag wird ein definiertes Einzeleiweiß mit einer bestimmten Anzahl antigener Epitope, gegen die eine Helferzellaktivität gerichtet sein kann, eingesetzt. Bei den verwendeten Candida- und PPD-Präparationen handelt es sich um Mischungen verschiedener Proteine mit einer dementsprechend vermutlich höheren Anzahl antigener Epitope und somit potentiell höherer Helferzellfrequenz mit „passenden“ TCR-Spezifitäten. Dies allein könnte eine stärkere Helferzellproliferation gegen diese Antigene erklären.

In mehreren Untersuchungen kam es unter einer HAART zu einer Zunahme des Anteils HIV-reaktiver Helferzellen [113, 151, 166]. Anstiege der Virämie unter einer Therapie sind mit einem Verlust vormals nachweisbarer Reaktivität gegen HIV-p24-Antigen verbunden [171]. Sehr starke Helferzellaktivität gegenüber HIV-p24-Ag ließ sich bei Personen nachweisen, die während der akuten Serokonversion – noch vor vollständiger Serokonversion im Western-Blot – antiretroviral behandelt wurden [222, 223, 224].

Es bleibt zu konstatieren, dass die in dieser Untersuchung – zumindest bei Verwendung hoher Antigenkonzentrationen – nachweisbaren HIV-spezifischen Helferzellaktivitäten verglichen mit den Ergebnissen publizierter Untersuchungen sehr hoch erscheinen. Hierfür sehe ich mehrere Gründe:

Zum einen wurden in dem hier verwendeten Test z. T. deutlich höhere Antigenkonzentrationen als in den meisten publizierten Studien verwendet („p24Ag pro well“/Tabelle 24). Der Prozentsatz von Patienten mit nachweisbarer, gegen HIV gerichteter Helferzellaktivität ist klar dosisabhängig (Abbildung 5). Die Tatsache, dass sich – selbst bei hohen Antigenkonzentrationen – bei keinem der 100 HIV-negativen Kontrollpersonen in dieser Untersuchung HIV-spezifische Helferzellaktivitäten nachweisen ließen, spricht für die hohe Spezifität des Nachweises HIV-spezifischer Helferzellen in diesem Testsystem. Somit bleibt zu konstatieren, dass sich bei Verwendung höherer Antigenkonzentrationen bei einem größeren Patientenanteil HIV-spezifische Helferzellaktivitäten nachweisen lassen. Ähnliches wurde auch von Rosenberg und Walker beschrieben. Sie fanden bei Patienten, die während der akuten Serokonversion mit HAART behandelt wurden, starke, im LTT mit HIV-p24-Antigen nachweisbare, gegen HIV gerichtete Helferzellaktivitäten. Diese waren vergleichbar mit denen von *long-term nonprogressors*. Jedoch liegen nach Aussage der Autoren die zu ihrem Nachweis nötigen Antigenkonzentrationen im LTT höher, optimalerweise bei 5 µg/ml [220]. Somit erscheint die Standardisierung der verwendeten Antigenkonzentrationen als eine vordringliche Aufgabe, um Ergebnisse von Studien vergleichbar zu machen.

Zum zweiten unterscheidet sich in den verschiedenen Untersuchungen die im LTT eingesetzte Anzahl von PBMCs pro *well*. Diese variiert von 1×10^5 bis 3×10^5 Zellen (Tabelle 24). Da die Höhe des Stimulationsindex u. a. eine Funktion der Frequenz und Anzahl antigenspezifischer Helferzellen im Ansatz ist, sind bei einer höheren Zellzahl höhere Responderraten zu erwarten. Die in dem hier verwendeten Test eingesetzten 3×10^5 Zellen pro *well* entsprechen dem oberen Bereich der in den publizierten Studien verwendeten Zellzahlen (Tabelle 24), was die hohen Responderraten zum Teil erklären kann.

Drittens unterscheiden sich die Studien auch deutlich darin, welcher Stimulationsindex als Grenzwert („*cutoff SI p24Ag*“/ Tabelle 24) für als „positiv“ angesehene Helferzellaktivitäten definiert wurde. Diese schwanken in den verschiedenen Arbeiten von drei bis zehn. Dementsprechend unterschiedlich ist folglich der Anteil als „positiv“ gewerteter Reaktionen. Der verwendete *cutoff* von drei in der vorliegenden Arbeit liegt im unteren Spektrum dieser Grenzwerte.

Schließlich unterscheiden sich die Patientengruppen in den erwähnten Studien deutlich hinsichtlich des Stadiums ihrer Erkrankung („*CD4 vor HAART*“/ Tabelle 24). Gemäß den Ergebnissen publizierter Studien scheint es Unterschiede in der Häufigkeit nachweisbarer, gegen HIV gerichteter Helferzellaktivität in Abhängigkeit vom Erkrankungsstadium zu geben. Jedoch lässt sich noch kein einheitliches Bild erkennen. Positive Reaktionen gegen HIV-p24-Antigen sind in einigen Untersuchungen bevorzugt bei Infizierten nachweisbar, die bereits in früheren Stadien der HIV-Infektion eine HAART erhalten haben und deren Viruslast langdauernd optimal supprimiert wird [151, 156, 171, 215]. Jedoch konnten auch bei Patienten mit weit fortgeschrittener Infektion und einem Helferzellnadir von weniger als 200 Zellen/µl in der Vergangenheit positive Reaktionen gegen p24-Ag unter HAART nachgewiesen werden [214, 217]. Lange et al. konnten keine Assoziation der Helferzellreaktivität gegen HIV-p24-Antigen unter HAART mit der Höhe des Nadirs der Helferzellkonzentration vor Beginn der ART nachweisen [156]. In einer Arbeit von Blankson et al. hatten erstaunlicherweise gerade Patienten mit einem sehr niedrigen Helferzellnadir die höchste Helferzellreaktivität gegen HIV-p24-Ag, die zudem vergleichbar war mit der von *long-term nonprogressors* [214].

Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass der Vergleich verschiedener Studien bezüglich des Anteils von Patienten mit nachweisbarer, gegen HIV gerichteter Helferzellaktivität aufgrund mangelnder Standardisierung der verwendeten Testsysteme sowie aufgrund der Unterschiede in der Patientencharakterisierung nur bedingt möglich ist.

Dennoch erscheint die Messung dieser gegen HIV gerichteten lymphoproliferativen Aktivität im LTT als praxisrelevant und ist anderen Verfahren zur Bestimmung antigenspezifischer Helferzellen überlegen: Eine starke spezifische Helferzellaktivität ist für die Aufrechterhaltung einer effektiven Immunantwort gegen chronische Virusinfektionen – auch gegen HIV – essenziell [220, 225]. Die Intensität der Helferzellproliferation nach *in vitro*-Stimulation mit HIV-*p24*-Antigen im LTT korreliert in mehreren Studien bei unbehandelten Patienten invers mit der HIV-Viruslast im Blut [217, 219, 220, 222]. Bei *long-term nonprogressors* lässt sich meist eine starke gegen HIV-*p24*-Ag gerichtete Helferzellproliferation nachweisen [214, 218, 222, 225]. Der Nachweis einer starken derartigen Helferzellaktivität im LTT korrelierte in einer Studie von Kalams et al. [226] mit dem Nachweis zahlreicher, gegen HIV-*gag*-Proteine gerichteter zytotoxischer CD8-positiver T-Zellen (CTL). In derselben Arbeit war der Nachweis hochfrequenter gegen HIV-*gag*-Proteine gerichteter CTLs ohne gleichzeitigen Nachweis einer starken HIV-spezifischen Helferzellproliferation im LTT nicht mit einer niedrigen HIV-Viruslast assoziiert, was beim Nachweis letzterer klar der Fall ist. Da CTLs maßgeblich an der Suppression der HIV-Replikation beteiligt sind [225, 227, 228, 229], sprechen diese Daten für eine direkte funktionelle Interaktion gegen HIV gerichteter CD4-positiver T-Helfer- und CD8-positiver zytotoxischer T-Zellen [226]. Anders ausgedrückt: HIV-spezifische CTLs sind auf die Hilfe HIV-spezifischer T-Helferzellen angewiesen, um virussuppressiv zu wirken [225, 227]. Dies wurde auch für andere Virusinfektionen nachgewiesen [227, 230, 231, 232, 233].

Hinweise auf eine positive prognostische Aussage im LTT nachweisbarer, gegen HIV gerichteter Helferzellen für den Verlauf der Infektion fanden sich auch bei mehreren von mir behandelten Patienten. Zwei Beispiele sollen hier exemplarisch genannt werden:

Ein 40-jähriger Mann, der erstmalig 1997 HIV-positiv getestet wurde, hatte seitdem nie eine messbare HIV-Viruslast. Eine von 1997 bis 2000 mit einer Zweifachkombination durchgeführte ART entbehrte aus heutiger Sichtweise jeder Indikation, da der Patient zu keinem Zeitpunkt eine HIV-bedingte Symptomatik, nie eine messbare Viruslast und nie Helferzellen unter 840/ μ l hatte. Seit dem Absetzen der ART im Dezember 2000 konnte in ca. dreimonatlich durchgeführten Untersuchungen nie eine Viruslast oberhalb der Nachweisgrenze von 50 c/ml gemessen werden. Die Helferzellkonzentration lag seitdem nie unter 1000/ μ l und betrug zum Zeitpunkt des LTT 1236 Zellen/ μ l bei einer CD4/CD8-Ratio von 1,5 und einer Viruslast unterhalb der Nachweisgrenze des Nukleinsäure-Assays von 50 c/ml. Im LTT ließen sich Stimulationsindizes von 12,6 bis 18,5 gegen die verschiedenen Konzentrationen von HIV-*p24*-Antigen messen. Dies entspricht hochpositiven HIV-spezifischen Helferzellreaktionen.

Bei einem zweiten Patienten fanden sich vergleichbare Befunde: Der 32-jährige Mann ist 1994 HIV-positiv getestet worden und hat nie eine ART erhalten. Zu keinem Zeitpunkt bestanden HIV-bedingte klinische Symptome. Der Nadir der Helferzellkonzentration betrug 543 Zellen/ μ l, die maximale jemals gemessene Viruslast während eines Infekts 740 c/ml. Zum Zeitpunkt des LTT hatte er 681 Helferzellen bei einer Ratio von 0,7. Die HIV-Viruslast lag – ohne HAART – unter der Nachweisgrenze von 50 c/ml. Im LTT ließen sich erneut hochpositive Helferzellreaktionen mit Stimulationsindizes über zehn gegen HIV-*p24*-Antigen nachweisen.

Eine der wichtigsten Fragestellungen derzeitiger Forschung ist die nach den Gründen für die auffallend geringe gegen HIV gerichtete Helferzellaktivität und das Unvermögen des Immunsystems der meisten Infizierten, HIV zu eliminieren oder dauerhaft zu kontrollieren. Da HIV bevorzugt aktivierte Zellen infiziert, wird vermutet, dass die gegen HIV gerichteten Helferzellen selektiv während der ersten Wochen der HIV-Infektion durch gezielte Infektion oder durch aktivierungsinduzierte Apoptose zerstört

werden [202, 220, 234]. Demgegenüber stehen Ergebnisse von Studien, in denen die intrazelluläre Zytokinproduktion nach Stimulation von T-Helferzellen mit HIV-*gag*-Proteinen gemessen wurde [235, 236]. Hierdurch ließen sich bei einem Großteil chronisch HIV-Infizierter mit progredienter Erkrankung durchaus gegen HIV-*gag*-Proteine gerichtete Helferzellen nachweisen. Diese waren auch bei fehlender Helferzellproliferation nach Stimulation mit HIV-*gag*-Proteinen im LTT nachweisbar [236]. Nach Ansicht der Untersucher spricht dieser Befund gegen die Theorie einer frühen Deletion HIV-spezifischer CD4-positiver T-Zellen im Verlauf der Infektion. Denkbar wäre eher eine kontinuierliche Inhibition ihrer proliferativen Kapazität [236]. Die Frequenz dieser so detektierten Zellen nimmt – vermutlich infolge sinkender Antigenkonzentrationen – unter einer HAART kontinuierlich ab. Im Gegensatz zur mehrfach nachgewiesenen inversen Korrelation zwischen der durch HIV-*p24*-Ag ausgelösten Lymphozytenproliferation im LTT und der Plasmaviruslast unbehandelter Patienten ließ sich eine solche für die durch intrazelluläre Zytokinfärbung nachgewiesenen, HIV-*gag*-spezifischen Helferzellen nicht zeigen [235, 237]. In einer weiteren Untersuchung, in welcher die antigeninduzierte intrazelluläre Zytokinproduktion und Lymphozytenproliferation im LTT parallel gemessen wurden, ließ sich eine fehlende Proliferation nach Stimulation mit HIV-Antigenen mit einer verminderten IL-2-Produktion korrelieren [237].

Zusammenfassend erscheint also die Bestimmung der gegen HIV-*p24*-Antigen gerichteten Helferzellproliferation im LTT als eine für den Einsatz in der klinischen Praxis sinnvolle und in ihrem Wert wissenschaftlich belegte Methode zur Erfassung prognostisch relevanter Marker der Immunkontrolle des HI-Virus bei infizierten Patienten.

4.1.4 Helferzellproliferation nach Stimulation mit Recallantigenen

Sehr deutliche Unterschiede zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe zeigen sich in der Helferzellproliferation nach Stimulation ihrer PBMCs mit Recallantigenen. So finden sich – trotz der guten quantitativen Helferzellrekonstitution – durchgängig niedrigere mittlere Stimulationsindizes gegen alle getesteten Recallantigene in der Patientengruppe (Abbildung 8). Leider konnten diese Unterschiede nicht auf eine statistische Signifikanz geprüft werden, da für die Kontrollgruppe keine Einzeldaten der Stimulationsindizes vorliegen. Dennoch lässt sich klar sagen: Obwohl die Patienten unter einer suffizienten HAART im Median Helferzellkonzentrationen erreicht haben, die denen Immungesunder entsprechen, finden sich deutliche Einschränkungen in der Funktion dieser. Diese zeigen sich deutlich beim Vergleich des jeweiligen Anteils der Patienten und Kontrollpersonen, deren Helferzellen mit einem Stimulationsindex von mindestens zehn nach Stimulation mit den einzelnen Recallantigenen proliferieren. Dieser Anteil ist bei den Patienten für alle Recallantigene signifikant geringer (Abbildung 12). Es lässt sich somit ein deutlicher qualitativer Defekt von T-Helferzellen trotz ausgeprägter quantitativer Rekonstitution derselben konstatieren. Betrachtet man nur den Personenanteil, deren Helferzellen überhaupt nach Stimulation mit den Einzelantigenen proliferieren ($SI \geq 3$), so finden sich zwar ebenfalls durchgängig höhere Werte in der Kontrollgruppe, diese Unterschiede sind jedoch nur für Tetanus-Toxoid und Toxoplasma-Antigen statistisch signifikant (Abbildung 9). Auch innerhalb der Patientengruppe finden sich sowohl für die mittleren Stimulationsindizes (Abbildung 10/Abbildung 11), als auch für den Patientenanteil mit überhaupt nachweisbaren antigenspezifischen Helferzellen signifikant geringere Werte für Tetanus und Toxoplasma, verglichen mit Influenza, Candida, Mykobakterien und CMV.

Ähnliche Unterschiede sind in einer Reihe publizierter Studien beschrieben. So war die Verbesserung der Tetanus-spezifischen Helferzellfunktion in mehreren Untersuchungen an HIV-Patienten unter

HAART deutlich geringer ausgeprägt als die für Candida [145, 149, 150, 156, 166, 169, 238], Mykobakterien [156, 166, 169], Streptokinase/Streptodornase [111], CMV [156, 166] und HSV [166]. Demgegenüber ließ sich während einer suffizienten antiretroviralen Therapie eine umfangreiche Rekonstitution der gegen Candida [108, 145, 156, 169], CMV [146, 148, 156] und Mykobakterien [146, 148, 156] gerichteten Helferzellaktivitäten nachweisen.

Zu den Ursachen dieser Diskrepanzen finden sich in der Literatur verschiedene Ansichten. Mehrere Autoren postulieren, dass die ständige und wiederholte Exposition des Immunsystems mit Erregern, die teils als Kommensalen, teils als opportunistische Keime dauerhaft im Organismus bzw. auf dessen Schleimhäuten existieren, zu einer stärkeren gegen diese gerichteten Helferzellaktivität führt, als dies für Impfantigene wie Tetanus-Toxoid der Fall ist [145, 169, 238]. Auch wird vermutet, dass niederfrequenzere antigenspezifische Klone (z.B. gegen das Impfantigen Tetanus-Toxoid) empfindlicher für einen Verlust im Rahmen der Infektion sind als solche, die infolge ständiger oder wiederholter Antigenexposition (z.B. gegen Candida und CMV) in potenziell höherer Frequenz vorliegen [239]. Die Reaktivität gegenüber Tetanus-Toxoid unter einer HAART korreliert mit dem Helferzellnadir vor deren Beginn [156]. Diese Ergebnisse unterstützen die Vermutung, dass Teile des immunologischen Repertoires in Form von *memory*-Zellen im Laufe der Krankheitsprogression „verloren“ gehen. Unklar ist jedoch, ob diese unvollständige Rekonstitution gegenüber Impfantigenen Ausdruck eines „Verlusts“ antigenspezifischer T-Helferzellen oder eines anhaltenden funktionellen Defekts dieser ist [156]. Durch Impfungen mit Tetanus-Toxoid lassen sich bei einem Großteil der Patienten starke lymphoproliferative Reaktionen gegen Tetanusantigen induzieren (unveröffentlichte eigene Untersuchungen).

Im Gegensatz zu Untersuchungen zur Risikoabschätzung des Absetzens einer Primär- oder Sekundärprophylaxe gegen Toxoplasmen, in denen die Häufigkeit klinischer Ereignisse untersucht wurde [240, 241, 242], beschäftigen sich nur sehr wenige publizierte Studien mit dem Nachweis spezifischer, gegen diese Parasiten gerichteter Helferzellen. Aus demselben Grund können die hier erhobenen Befunde bezüglich der im Vergleich zu anderen opportunistischen Erregern geringen erregerspezifischen Helferzellproliferation nicht mit publizierten Studien verglichen werden. Auch kann man über die Ursachen dieser Unterschiede nur spekulieren. Da Toxoplasma-spezifische Helferzellen bei 76 % der Kontrollpersonen nachgewiesen wurden, ist davon auszugehen, dass deren Existenz durch den verwendeten Test mit ausreichender Sensitivität detektiert wird. Da jedoch nur bei sensibilisierten, sprich mit Toxoplasma *gondii* infizierten Personen auch eine Proliferation von *memory*-Zellen im LTT nachweisbar ist und keine Informationen über das Vorliegen von erregerspezifischen IgG-Antikörpern in beiden Gruppen vorliegen, wären theoretisch geringere Durchseuchungsraten in der Patientengruppe als Erklärung der Unterschiede denkbar. Diese halte ich jedoch für unwahrscheinlich. Die gleichen Bedenken gelten dennoch auch für CMV. Im Gegensatz zu den ubiquitär vorkommenden Candida- und Influenza-Antigenen sowie dem anamnestisch nahezu obligat als Impfung verabreichten Tetanus-Toxoids gibt es Patienten, die weder mit Toxoplasma *gondii* noch mit CMV infiziert sind und demzufolge keine erregerspezifischen *memory*-Helferzellen besitzen müssen.

Die Intensität der Zellproliferation im LTT ist u. a. abhängig von der Funktionstüchtigkeit und der Anzahl antigenspezifischer Helferzellen. Betrachtet man demzufolge den Mittelwert der mittleren Stimulationsindizes für die einzelnen Recallantigene als ein Maß für die Immunkompetenz, so zeigen sich erneut signifikante Unterschiede zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe. Da dieser Wert bei 95 % der Immungesunden mindestens zehn beträgt, kann ein mittlerer SI von zehn als unterer Grenzwert einer ungestörten Helferzellfunktion angesehen werden. Diesen Grenzwert erreichen nur 43 % der Patienten (Abbildung 14).

Des Weiteren kann man die sechs in diesem Test eingesetzten Recallantigene als einen „kleinen Ausschnitt“ aus dem Repertoire von Antigenen betrachten, gegen die das Immunsystem durch Exposition in der Vergangenheit mit hoher Wahrscheinlichkeit immunisiert wurde und gegen die demzufolge spezifische *memory*-T-Helferzellen existieren sollten. So ist neben der Stärke vor allem auch die Vielfalt der Reaktionen gegen verschiedene Recallantigene Ausdruck der Helferzellfunktion. Die CD4-positiven T-Lymphozyten von 95 % der Kontrollpersonen „erkennen“ ($SI \geq 3$) mindestens vier der sechs getesteten Recallantigene. Bezüglich dieser Vielfalt der Helferzellreaktivität findet sich zwar erneut ein Trend zu schlechteren Werten in der Patientengruppe, jedoch ist der Unterschied statistisch nicht signifikant. Durch die kombinierte Betrachtung von Stärke und Vielfalt der gegen Recallantigene gerichteten Helferzellaktivität lässt sich nur bei 42 % der Patienten eine ungestörte Immunfunktion konstatieren (Abbildung 14).

Betrachtet man nur die Patienten, die unter einer suffizienten HAART (Ein-/Ausschlusskriterien) eine Helferzellkonzentration von mindestens 500/ μ l erreicht haben und die somit nach Meinung vieler Kliniker und Forscher als weitgehend immunkompetent angesehen werden, so weisen nur knapp die Hälfte dieser (49,3 %/Abbildung 15) eine – verglichen mit Immungesunden – ungestörte Helferzellfunktion auf. Hierbei fand sich keine relevante Korrelation zwischen dem Mittelwert der mittleren Stimulationsindizes für Recallantigene und der zum Zeitpunkt des LTT gemessenen Helferzellkonzentration (Abbildung 16). Zusammenfassend bedeutet dies, dass allein aus der Anzahl CD4-positiver T-Zellen im Blut nur bedingt auf den aktuellen Immunstatus geschlossen werden kann. Anders ausgedrückt: Eine Helferzelle, die nicht funktioniert, ist nichts wert.

Neben dieser globalen Sichtweise auf das erhaltene Immunrepertoire haben zahlreiche Studien die Bedeutung eines (fehlenden) Nachweises antigenspezifischer Helferzellen für das Auftreten und den Verlauf entsprechender Infektionen untersucht. So traten in einer Studie an unbehandelten HIV-Infizierten mit nachweisbaren IgG-Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii* bei 2 von 27 Patienten ohne, jedoch bei keinem von 18 Patienten mit nachweisbarer Toxoplasmen-spezifischer LPR zerebrale Toxoplasmosen auf [243]. In einer weiteren Arbeit wurde mittels LTT die Häufigkeit des Nachweises Toxoplasma-spezifischer Helferzellen bei Patienten mit einer zerebralen Toxoplasmosenachdem Beginn einer HAART bestimmt. Die Autoren konnten initial nur bei 10 % und nach einer 15- bis 18-monatigen Therapie in 83 % der Patienten Toxoplasma-spezifische Helferzellproliferation nachweisen. Sie empfehlen die Durchführung einer solchen Analyse vor dem Absetzen der Toxoplasma-suppressiven Erhaltungstherapie unter HAART [244, 245]. Ebenfalls empfohlen wird die Bestimmung Toxoplasma-spezifischer Helferzellen in einer Arbeit von Fournier et al. [170]. Auch diese Arbeitsgruppe untersuchte die Häufigkeit Toxoplasma-spezifischer Helferzellproliferation im LTT in drei Patientengruppen mit unterschiedlich ausgeprägter Immunrekonstitution. Die Autoren rieten dringend vom Absetzen einer Primär- oder Sekundärprophylaxe bei positiver Toxoplasma-Serologie und fehlender Toxoplasma-LPR ab. Die Bedeutung Toxoplasma-spezifischer Helferzellen für die Aufrechterhaltung einer suffizienten Immunkontrolle dieser Parasiten, auch wenn diese nur eine der bei der Immunabwehr dieses Keimes beteiligten Zellarten darstellen, wird durch weitere Untersuchungen und seitens mehrerer Autoren unterstützt [246, 247].

Obwohl besonders antigenspezifische, CD8-positiv zytotoxische T-Zellen (CTL) für die Immunabwehr gegen CMV erforderlich sind [232, 248, 249, 250], belegen zahlreiche Untersuchungen an Immunsupprimierten die starke klinische Bedeutung der Nachweisbarkeit CMV-spezifischer T-Helferzellen. So ließ sich deren strikte Notwendigkeit für die Aufrechterhaltung einer suffizienten CTL-Aktivität gegen CMV wiederholt zeigen [232, 250]. In mehreren Fallberichten wurden CMV-Erkrankungen bei AIDS-Patienten trotz ausgeprägten Helferzellenanstiegs unter HAART mit dem feh-

lenden Nachweis CMV-spezifischer Helferzellen – u. a. im LTT – assoziiert [196, 197, 198]. Li et al. beschrieben einen erstmals fehlenden Nachweis von CMV in zuvor mehrfach positiven Blutkulturen eines AIDS-Patienten unter HAART zeitgleich mit der erstmaligen Detektion zuvor nicht nachweisbarer CMV-spezifischer Helferzellen im LTT [251]. In mehreren Studien korrelierte der fehlende Nachweis gegen CMV gerichteter T-Helferlymphozyten stark mit dem Risiko des Auftretens einer CMV-Retinitis bei therapienaiven und antiretroviral behandelten Patienten [252, 253, 254, 255, 256, 257, 258]. Gleichartige Assoziationen finden sich bei Patienten nach Knochenmarktransplantation [259]. Der Nachweis CMV-induzierter Lymphozytenproliferation korreliert nur minimal mit der Helferzell-Gesamtkonzentration [254, 260], sodass aus dem quantitativen Anstieg CD4-positiver T-Zellen unter HAART nur bedingt auf eine Immunrestitution gegenüber CMV geschlossen werden kann. Mehrere Forschergruppen empfehlen deshalb die Bestimmung CMV-spezifischer Helferzellen vor dem Absetzen einer CMV-Sekundärprophylaxe unter HAART [196, 253] sowie zur Abschätzung des Erkrankungsrisikos bei HIV-Infizierten [258] und bei Patienten nach Knochenmarktransplantation [259].

Für die Abwehr und Immunkontrolle von Mykobakterien sind spezifische T-Helferzellen essenziell [261, 262, 263, 264, 265]. Dies wird nicht zuletzt anhand des stark erhöhten Erkrankungsrisikos für eine Tuberkulose bei HIV-infizierten Patienten deutlich [263]. Insbesondere IFN-gamma-produzierende CD4-positive T-Zellen sind innerhalb eines Konzerts verschiedener Immunzellen und Zytokine beim Schutz vor klinischen Mykobakterien-Infektionen tätig [261, 262, 263, 264, 265]. Die Intensität ihrer Nachweisbarkeit korreliert mit der Immunkontrolle dieser Keime sowie invers mit dem Ausmaß einer klinischen Mykobakterien-Erkrankung [266, 267]. Ihre Frequenz im Blut nimmt bei AIDS-Patienten mit vormals florider Tuberkulose unter antituberkulöser Therapie und gleichzeitiger HAART zu [267]. Soweit mir bekannt ist, existieren keine Studien über die Bedeutung des (Nicht-)Nachweises Mykobakterien-spezifischer Lymphozytenproliferation im LTT als Risikomarker klinischer Mykobakteriosen beim Menschen. Die große Bedeutung eines solchen Nachweises wurde jedoch eindrucksvoll in einer Studie an SIV-infizierten Makaken nachgewiesen. In dieser korrelierte der erstmalige Nachweis zuvor nicht vorhandener Mykobakterien-spezifischer Helferzellproliferation im LTT unter einer HAART mit der Besserung klinischer Symptome SIV- und Mykobakterien-koinfizierter Affen mit einem tuberkuloseähnlichen Krankheitsbild [268].

Bei fast allen immungesunden Kontrollpersonen in dieser sowie in publizierten Studien lassen sich Candida-spezifische Helferzellen nachweisen [238, 269]. Diese sind bei HIV-Patienten deutlich seltener nachweisbar. Obwohl die Häufigkeit oropharyngealer Candidosen bei HIV-Infizierten invers mit der Helferzellzahl korreliert, ist die Nachweisbarkeit Candida-spezifischer T-Helferzellen nicht mit dieser assoziiert [238]. Es ist vielfach belegt, dass v. a. zelluläre Immunmechanismen für einen Schutz vor invasiven Candidosen erforderlich sind. Besondere Bedeutung wird spezifischen T-Helferzellen sowie mononukleären Phagozyten zugeschrieben [269, 270]. Jedoch sind die genauen Interaktionen verschiedener zellulärer und humoraler, unspezifischer und spezifischer, systemischer und Schleimhaut-assoziiertes lokaler Immunantworten sowie der Einfluss unterschiedlicher Zytokine noch unzureichend geklärt [269, 270]. Im Gegensatz zu vulvovaginalen Candida-Infektionen (VVC) treten oropharyngeale Candidosen (OPC) bei zellulären Immundefekten mit Schädigung von T-Zellen gehäuft auf [269, 271]. Der (Nicht-)Nachweis systemischer Candida-spezifischer Helferzellen im LTT korreliert jedoch nur mäßig mit dem (Nicht-)Auftreten klinischer Infektionen, was für eine stärkere Bedeutung lokaler Immunreaktionen in den Schleimhäuten sprechen könnte [271].

Schließlich fanden sich in einer Studie von Blazevic et al. Influenza-spezifische CTLs nur bei solchen antiretroviral behandelten Patienten, die auch eine positive LPR nach einer Stimulation mit Influenza-Antigen im LTT aufwiesen [84]. Dies unterstreicht erneut die Bedeutung antigenspezifischer Helferzellen für die Aufrechterhaltung einer spezifischen CTL-Antwort, die im Fall von Virusinfektionen wesentlich an der Immunabwehr beteiligt ist. Im Gegensatz zu anderen Untersuchungen fand sich in dieser Arbeit auch eine schwache, aber vorhandene Korrelation zwischen der Helferzellkonzentration und der lymphoproliferativen Aktivität nach Stimulation mit Influenza- und Alloantigen im LTT. Der Erfolg von Vakzinierungen mit Neo- und Recallantigenen ist bei HIV-Infizierten unter HAART – selbst bei weitgehender Normalisierung der Helferzellkonzentrationen – signifikant vermindert [70]. Diese Ausführungen machen deutlich, dass die Bestimmung spezifischer, gegen Recallantigene gerichteter Helferzellen wertvolle zusätzliche Informationen für den in der Behandlung HIV-infizierter Patienten tätigen Arzt liefern kann. Exklusive Einsatzmöglichkeiten einer derartigen Analyse sehe ich in der Klärung der Frage, ob eine Erhaltungstherapie der CMV-, Toxoplasmen- oder Mykobakterieninfektion nach Anstieg der Helferzellkonzentration infolge HAART gefahrlos abgesetzt werden kann. Hierzu wären Studien zur klinischen Validierung dieser Laborbefunde sinnvoll.

In mehreren Studien wurde darauf hingewiesen, dass zwar Patienten mit einer fortgeschritteneren HIV-Infektion und niedrigeren Helferzellkonzentrationen auch häufiger Defekte der Helferzellfunktion aufweisen als Infizierte in früheren Stadien der Erkrankung, dennoch betonen viele Untersucher, dass die Funktion der Helferzellen bereits vor einer relevanten quantitativen Reduktion dieser stark eingeschränkt sein kann [86, 119, 205, 208, 211, 272]. Mehrere Studien haben die Bedeutung verschiedener Defekte der T-Zell-Funktion für den klinischen Verlauf der HIV-Infektion untersucht. Die Stimulierbarkeit von T-Zellen durch Mitogen (PHA), Alloantigen und Recallantigene (Tetanus und Influenza) korrelierte mit der Geschwindigkeit der Abnahme der Helferzellkonzentration [49, 273] und der Wahrscheinlichkeit, innerhalb der nächsten drei Jahre an AIDS zu erkranken oder zu sterben [273]. Patienten, deren T-Zellen auf alle vier Stimuli reagieren, haben ein Risiko, innerhalb von drei Jahren an AIDS zu erkranken, von 8 %, wenn die Zellen auf keines der Stimuli reagieren, liegt dieses bei 48 %. Dolan et al. [274] untersuchte die T-Zell-Proliferation nach Stimulation mit Mitogen (PHA), Alloantigen und Recallantigenen (Tetanus und Influenza) bei 335 nicht antiretroviral behandelten Patienten. Diese wurden bis zu fünf Jahre nachbeobachtet. Patienten, deren T-Zellen auf keines der Stimulanzien mit Proliferation reagierten, hatten eine signifikant kürzere Überlebenszeit als solche mit einer Reaktion gegen alle getesteten Mito- und Antigene. Die T-Zell-Funktion stellte hierbei einen von der Helferzellkonzentration unabhängigen Risikofaktor dar.

Hieraus werden zwei weitere Einsatzgebiete des Testverfahrens ersichtlich: Zum einen bietet sich eine Bestimmung der Helferzellfunktion als Quelle zusätzlicher, potentiell entscheidungsrelevanter Informationen bei der Klärung sowohl der Indikation einer HAART als auch der Unbedenklichkeit einer Pause dieser an. Zum anderen hilft eine solche Untersuchung, die Ursache atypisch auftretender Erkrankungen – beispielsweise opportunistischer Infektionen bei ungewöhnlich hohen Helferzellkonzentrationen – zu klären und Patienten mit individuell erhöhtem Risiko besser zu identifizieren. Auch zur Validierung dieser Einsatzgebiete erscheinen mir Studien als sinnvoll.

Die wesentliche Erkenntnis aus der vorliegenden Untersuchung ist, dass selbst Patienten unter einer langdauernden und effizienten antiretroviralen Therapie mit einer vermeintlich optimalen Immunkonstitution deutliche Einschränkungen der Helferzellfunktion aufweisen können. Anhand der Ergebnisse diverser publizierter Untersuchungen ist zu vermuten, dass diese Funktionseinschränkungen – zumindest teilweise – auch klinisch relevant sind. Hieraus wird ersichtlich, dass wir trotz aller bisheri-

gen Erfolge von dem Ziel einer vollständigen Wiederherstellung der Immunkompetenz HIV-Infizierter noch weit entfernt sind. Neben der Entwicklung neuer, besser antiretroviral wirksamer und verträglicherer Substanzen sollte deshalb ein Hauptaugenmerk der Forschung in der Entwicklung immunmodulatorischer Prinzipien liegen, die neben der HAART zu einer Optimierung des Therapieerfolgs führen.

4.2 Vergleich zweier Patientengruppen mit unterschiedlichen im Rahmen einer HAART verwendeten Thymidinanaloga

Ziel des zweiten Teils der Untersuchung war es zu untersuchen, ob sich die Helferzellfunktion in Abhängigkeit vom im Rahmen einer HAART verwendeten Thymidinanalogon unterscheidet. Die hierbei untersuchten HIV-Infizierten waren, wie oben beschrieben, identisch mit der im ersten Teil der Analyse untersuchten Patientengruppe. Es handelte sich also um chronisch HIV-Infizierte, größtenteils seit längerem antiretroviral behandelte, die sich in der mit geringerer Dynamik ablaufenden zweiten Phase der Immunrestitution befinden. Einziges Zuordnungskriterium zu einer der beiden Gruppen war das von ihnen im Rahmen einer HAART eingenommene Thymidinanalogon. Demzufolge gab es eine Stavudin- sowie eine Zidovudin-Gruppe mit jeweils 50 Patienten. Die Gruppen unterschieden sich nicht bezüglich Alter, Geschlecht und Transmissionsweg. Beim Vergleich der Dauer seit dem ersten positiven HIV-Test – stellvertretend für die Infektionsdauer – fiel ein sehr starker, die statistische Signifikanz nur sehr knapp verfehlender ($p=0,072$) Trend zugunsten längerer Zeiten in der Stavudin-Gruppe auf (Abbildung 17). Auch wenn die hier erfasste „Zeit seit Diagnosestellung“ – wie oben diskutiert – nur eingeschränkt als Maß der Infektionsdauer taugt, spricht dieses Ergebnis – trotz knapp verfehlter Signifikanz – doch dafür, dass die Patienten in der Stavudin-Gruppe tendenziell länger HIV-infiziert sind. Bezüglich der CDC-Klassifikation (Tabelle 14) sowie des jemals gemessenen Helferzell-Nadirs und Viruslast-Maximums (Tabelle 15) finden sich – bis auf einen wiederum nicht signifikanten Trend zu niedrigeren Helferzellzahlen in der Stavudin-Gruppe – keine wesentlichen Unterschiede. Beim Vergleich der niedrigsten Helferzellkonzentrationen innerhalb der letzten zwölf Monate zeigt sich erneut – wie auch bei der CD4/CD8-Ratio – ein Trend zu etwas geringeren Werten in der Stavudin-Gruppe (Tabelle 16), wohingegen die gleichen Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung tendenziell mehr CD4-positive T-Zellen hatten (Tabelle 17/ Abbildung 18). Diese Unterschiede sind jedoch erneut weder statistisch signifikant noch liegen zwischen den beiden letzten Werten definierte und somit vergleichbare Zeiträume. Der gefundene Trend entspräche jedoch dem in verschiedenen Studien Beschriebenen bezüglich eines – im Vergleich zu Zidovudin – stärkeren Helferzellanstiegs unter Stavudin [192, 193, 194, 195].

Überraschenderweise fand sich ein signifikanter Unterschied in der Konzentration CD8-positiver T-Zellen zum Zeitpunkt der Untersuchung. Diese lag in der Stavudin-Gruppe um median mehr als 170 Zellen/ μ l höher (Abbildung 19). Angeregt durch die Ergebnisse einer Studie, in der beim Vergleich eines Stavudin- mit einem Zidovudin-haltigen ART-Regime neben höheren Helferzell- auch höhere Gesamt-T-Zell-Konzentrationen in der Stavudin-Gruppe gefunden wurden [195], verglich ich diese – ermittelt durch Summierung der Konzentrationen CD4- und CD8-positiver T-Zellen – auch in den hier untersuchten Patientengruppen. Erneut fand sich ein statistisch signifikanter Unterschied von fast 170 Zellen zugunsten höherer Werte in der Stavudin-Gruppe (Abbildung 20). Die Autoren der erwähnten Untersuchung, in der beide Thymidinanaloga im Rahmen einer Kombinationstherapie an ART-naiven Patienten über 48 Wochen verglichen wurden, fanden zu Studienende eine um 100 Zellen/ μ l gefallene T-Zell-Konzentration in der Zidovudin-, jedoch eine um 400 Zellen/ μ l gestiegene in der Stavudin-Gruppe. Sie vermuteten eine toxische Wirkung des AZT auf die Hämopoese mit

konsekutiv verminderter Produktion von Lymphozyten als Ursache dieses Unterschieds [195]. Myelotoxische Effekte sind als wichtige Nebenwirkungen von AZT bekannt und Störwirkungen auf die Hä-mopoese in der Tat mehrfach nachgewiesen [135, 136, 137, 138]. Möglicherweise liegt hierin auch die Begründung des in der vorliegenden Untersuchung gefundenen Unterschieds.

Tortjada et al. [275] verglichen das Ausmaß der Immunrestitution in einer Patientengruppe mit früher mit dem in einer Patientengruppe mit weit fortgeschrittener HIV-Infektion. Nach zwölf Monaten HAART fand sich – verglichen mit den Ausgangswerten – eine signifikant stärkere Reduktion (-18 % vs. -2 %) der Konzentration CD8-positiver T-Zellen in der Gruppe mit geringer fortgeschrittener Erkrankung. Im Gegensatz zu einer Abnahme der Gesamtkonzentration CD8-positiver T-Zellen unter länger anhaltender HAART in zahlreichen Studien mit Patienten in relativ frühen Phasen der HIV-Infektion [152, 166] zeigte sich eine anhaltende Zunahme der Konzentration dieser Zellen über 12 bzw. 24 Monate in zwei Studien mit Patienten, die vor Einleitung einer HAART mit im Mittel 167 bzw. 20 Helferzellen/ μ l bereits einen starken bis sehr starken Immundefekt aufwiesen [150, 276]. In einer Untersuchung von Lange et al. fand sich eine inverse Korrelation zwischen der Konzentration CD8-positiver T-Zellen nach länger andauernder HAART (Median 40,8 Monate) mit der niedrigsten jemals gemessenen Helferzellkonzentration [156].

In vielen Studien [145, 146, 152] findet sich initial eine Zunahme der Konzentration CD8-positiver T-Zellen, die sowohl durch eine Zunahme naiver, als auch von Zellen mit einem *memory*-Phänotyp gekennzeichnet ist. Dieser ersten Phase folgt – vorwiegend bei Patienten in frühen bis mäßig fortgeschrittenen Phasen der Erkrankung – eine abnehmende Gesamtkonzentration dieses T-Zell-Subtyps infolge eines abnehmenden Anteils von *memory*-Zellen [145, 146, 152].

Zusammenfassend scheint also die Konzentrationsveränderung CD8-positiver T-Zellen unter HAART abhängig zu sein vom Ausmaß des HIV-bedingten Immundefekts vor Einleitung der Therapie. Theoretisch könnten demnach die in dieser Arbeit beobachteten Konzentrationsunterschiede CD8-positiver T-Zellen auch Folge eines weiter fortgeschrittenen Immundefekts (tendenziell längere Infektionsdauer sowie tendenziell geringerer Helferzell- und CD4/CD8-Ratio-Nadir) in der Stavudin-Gruppe sein.

Schließlich konnte für HIV-Proteasehemmer, nicht jedoch für Nukleosidanaloga nachgewiesen werden, dass sie in der Lage sind, die Apoptose von CD4- und CD8-positiven T-Zellen unabhängig von der Viruslastsenkung zu hemmen [277]. Dies führt zu einer verlängerten Überlebenszeit CD8-positiver T-Zellen. Wie unten dargestellt, erhalten die Patienten der Stavudin-Gruppe tendenziell mehr Proteasehemmer-haltige ART-Regime, was zusätzlich zu diesen Konzentrationsunterschieden CD8-positiver T-Zellen beitragen könnte.

Zur Klärung dieser Spekulationen wäre eine weitere Untersuchung mit Patienten in vergleichbaren Stadien der HIV-Infektion, mit vergleichbarer Helferzellkonzentration bei Therapiebeginn sowie vergleichbarer Infektionsdauer und Therapie sinnvoll.

Ein weiterer Hinweis auf ein insgesamt stärker fortgeschrittenes Krankheitsgeschehen in der Stavudin-Gruppe – im Sinne einer ausgeprägteren Immundefizienz in der Vergangenheit – findet sich beim Vergleich der kumulativen Dauer antiretroviraler Therapie in beiden Gruppen. Trotz starker Schwankungsbreiten (vier Monate bis zehn Jahre in der Stavudin-; vier Monate bis 6,7 Jahre in der Zidovudin-Gruppe) wurden die Patienten der Stavudin-Gruppe im Median ca. zwei Jahre länger behandelt (112,8 Wochen/Abbildung 21). Selbst unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die Indikationen zum Beginn einer ART in der Vergangenheit oft großzügiger gestellt wurden, deutet dies darauf hin, dass bei den Untersuchten der Stavudin-Gruppe bereits deutlich länger ein therapiewürdiger und somit relevanter HIV-bedingter Immundefekt besteht.

Einhergehend mit der insgesamt längeren ART-Dauer sind die Patienten der Stavudin-Gruppe auch signifikant intensiver – also mit deutlich mehr unterschiedlichen antiretroviralen Kombinationsregimen – vorbehandelt. Sie nahmen zum Zeitpunkt der Untersuchung im Median ihr drittes sequentiell verabreichtes ART-Regime ein, während die Zidovudin-Patienten erst ihr zweites erhielten (Tabelle 18). Zudem fand sich ein die statistische Signifikanz nur knapp verfehlender Trend zu einem höheren Anteil, mit dem ersten ART-Regime behandelte Patienten in der Zidovudin-Gruppe.

Auch die Arten der zum Zeitpunkt der Analyse verwendeten antiretroviralen Substanzgruppen unterschieden sich wider Erwarten deutlich. Die Patienten der Zidovudin-Gruppe erhielten signifikant häufiger eine aus drei Nukleosidanaloga bestehende HAART, während die Patienten der Stavudin-Gruppe mit einem starken, die statistische Signifikanz erneut nur knapp verfehlenden Trend häufiger Proteasehemmer-haltige Therapieregime einnahmen (Abbildung 23). Auch diese Unterschiede beeinflussen potenziell die Vergleichbarkeit der im LTT erhobenen Daten. Es existiert eine Reihe von Hinweisen darauf, dass verschiedene antiretrovirale Substanzen direkten Einfluss auf die Proliferation und Apoptose von Lymphozyten sowie auf das Ausmaß der quantitativen Immunrestitution haben könnten. Neben den in der Einleitung ausführlich belegten Störwirkungen von Zidovudin auf die Proliferation von Zellen finden sich ähnliche Effekte auch für andere Substanzen.

Angel et al. beschrieben eine dosisabhängige Reduktion der Proliferation von PBMCs nicht HIV-infizierter Personen, wenn Saquinavir oder Ritonavir, jedoch keine, wenn Lamivudin den Zellkulturen hinzugesetzt wurde [171]. Dem entgegen stehen die Ergebnisse einer Untersuchungen an PBMCs HIV-Infizierter: Lu et al. konnten in dieser Studie nachweisen, dass Proteasehemmer bereits in Konzentrationen, die 30-fach unter den zur suffizienten Virussuppression nötigen liegen, zu einer deutlichen Zunahme der Überlebenszeit CD4- und CD8-positiver T-Zellen sowie zu einer ausgeprägten Zunahme der Mitogen-induzierten Proliferation derselben führen. Diese Effekte traten bei PBMCs HIV-negativer Probanden sowie unter alternativer Zugabe der Nukleosidanaloga Didanosin oder Stavudin nicht auf, was für einen klassenspezifischen Effekt der PIs unter den Bedingungen der HIV-Infektion spricht [276]. Phenix et al. konnten in einer Studie einen von der Viruslastsenkung unabhängigen Effekt von Proteasehemmern auf die Senkung der Apoptose CD4- und CD8-positiver T-Zellen HIV-Infizierter nachweisen, der bei AZT nicht auftrat [277]. Weiterhin scheint der Konzentrationsanstieg CD4-positiver T-Zellen unter einer Proteasehemmer-haltigen HAART ausgeprägter zu sein als unter einer NNRTI-basierten [278], was erneut für einen Einfluss unterschiedlicher ART-Regime auf den Grad der Immunrestitution spricht. Als Ursache letztgenannter Unterschiede werden wiederum direkt apoptosehemmende Wirkungen der PIs angenommen [278].

Es lässt sich also zusammenfassen, dass die gefundenen Unterschiede bezüglich der Verwendung antiretroviraler Substanzen potenziell Einflüsse auf die Zellproliferation im LTT haben könnten, die von der Art des verwendeten Thymidinanalogons unabhängig sind und die Aussagekraft der vorliegenden Untersuchung beeinträchtigen könnten.

Letztlich stellt auch die vermutlich unterschiedlich stark ausgeprägte Immunschädigung in beiden Gruppen ein potentielles Problem für die Vergleichbarkeit der Daten dar. Wiederholt fanden sich in publizierten Studien Hinweis darauf, dass das Ausmaß der möglichen quantitativen und qualitativen Immunrestitution invers mit dem der Immundefizienz vor Einleitung einer HAART korreliert [70, 84, 150, 156, 169, 275]. Anders ausgedrückt: Das Ausmaß der maximal möglichen Immunrestitution scheint vom Ausmaß der Schädigung des Immunsystems vor Beginn einer HAART abhängig zu sein. Je weiter fortgeschritten die Infektion, je ausgeprägter der Immundefekt und je stärker gestört das Immunrepertoire, desto geringer die Chancen auf eine vollständige Wiederherstellung der Immunkompetenz. Die hier gefundenen Unterschiede bezüglich der Gesamtdauer bisheriger antiretroviraler

Behandlung, der Intensität der Vorbehandlung, der verwendeten antiretroviralen Substanzen sowie die Trends bezüglich der Infektionsdauer und des Erkrankungsstadiums waren unerwartet, schränken aber potenziell die Vergleichbarkeit der Gruppen ein. In einer wesentlichen Determinante der lymphoproliferativen Aktivität, der Dauer und Intensität der Viruslastsenkung [148, 279], unterschieden sich die Gruppen dagegen nicht (Tabelle 17).

Vergleicht man schließlich beide Patientengruppen bezüglich der proliferativen Kapazität ihrer Lymphozyten nach Mitogen-, HIV-Antigen- und Recallantigenstimulation, so finden sich keine signifikanten Unterschiede. Die Lymphozyten von etwa vier Fünftel aller Patienten (80 % vs. 82 %) proliferieren mit etwa der gleichen Intensität wie die nicht HIV-Infizierter, immungesunder Kontrollpersonen nach einer Stimulation mit *Pokeweed* Mitogen. Auch in der proliferativen Aktivität der Helferzellen gegenüber HIV-*p24*-Antigen (Tabelle 21/Abbildung 24) fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Vergleicht man in Tabelle 22 die Mittel- und Medianwerte der Stimulationsindizes gegen die einzelnen Recallantigene, so fallen teils starke Unterschiede auf. Insbesondere bei den Angaben für Tetanus und Toxoplasma erscheinen die deutlich über dem Grenzwert von drei liegenden Mittelwerte der Stimulationsindizes auffallend diskrepant zu den meist weniger als 50 Prozent betragenden Patientenanteilen mit überhaupt nachweisbarer LPR gegen diese Antigene. Die Gruppen lassen sich demnach durch die deutlich niedrigeren Medianwerte besser charakterisieren als durch Verwendung der allgemein üblichen, jedoch gegenüber „Ausreißer-Werten“ empfindlicheren Mittelwerte.

Zusammenfassend lässt sich also feststellen: Bezüglich der lymphoproliferativen Aktivität ihrer PBMCs nach Stimulation mit Mitogen, HIV-*p24*- und Recallantigen fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen HIV-infizierten Patienten, die entweder mit Stavudin oder mit Zidovudin behandelt wurden. Da sich beide Patientengruppen jedoch wider Erwarten in einer Reihe, die Proliferation von T-Zellen potenziell beeinflussenden Faktoren unterschieden, ist die Existenz derartiger Unterschiede durch die Ergebnisse dieser Untersuchung nicht sicher auszuschließen. Insbesondere die im Vorfeld der Untersuchung nicht erwartete Tatsache, dass Stavudin (Zerit®) von den hier behandelnden Ärzten tendenziell erst in späteren, sequentiell verabreichten antiretroviralen Kombinationsregimen bei demzufolge länger behandelten und potenziell stärker immungestörten Patienten eingesetzt wird, führte zur eingeschränkten Vergleichbarkeit der Gruppen.

Zur abschließenden Klärung der Fragestellung sollte eine weitere, möglichst prospektive Studie an antiretroviral naiven Patienten mit genauer Randomisierung nach Infektionsdauer, klinischem Stadium sowie Konzentration CD4- und CD8-positiver T-Zellen erfolgen. Dieses Vorhaben erscheint jedoch im Hinblick auf ein deutlich eingeschränktes antiretroviral naives Patientengut, welches Zielgruppe zahlreicher Studien ist, schwierig realisierbar.

5 Zusammenfassung

Neben quantitativen Verlusten treten im Verlauf der HIV-Infektion auch qualitative Defekte CD4-positiver T-Helferzellen auf. Die hierfür verantwortlichen immunpathogenetischen Mechanismen sind vermutlich multifaktoriell und derzeit nicht vollständig aufgeklärt. Neben direkt zytopathischen Effekten des Virus auf seine Wirtszellen werden indirekte, zumeist durch gestörte Immunreaktionen bedingte Schädigungsmechanismen verantwortlich gemacht. Qualitative Helferzelldefekte können unabhängig von der Helferzellkonzentration auftreten und bereits vor einer relevanten Reduktion dieser vorhanden sein. Aus der Konzentration CD4-positiver T-Helferzellen kann also nicht ohne weiteres auf deren funktionelle Kompetenz geschlossen werden.

Die klinische Relevanz derartiger Funktionsdefekte ist in einer Vielzahl von Publikationen belegt. So wurde in zahlreichen Einzelfallberichten und Studien eine gestörte antigenspezifische Helferzellfunktion als Ursache opportunistischer Infektionen bei HIV-Infizierten mit inadäquat hohen Helferzellkonzentrationen nachgewiesen. Das Ausmaß lymphoproliferativer Aktivität von PBMCs nach *in vitro*-Stimulation mit verschiedenen Mitogenen und Recallantigenen konnte als eigenständiger Risikofaktor für das Auftreten opportunistischer Infektionen sowie für die Progression zu AIDS und Tod unbehandelter Patienten nachgewiesen werden. Mit anderen Worten: Eine Helferzelle, die nicht funktioniert, nützt auch nichts.

Unter einer suffizienten antiretroviralen Therapie kommt es bei der Mehrzahl der Patienten zu einer Immunrekonstitution mit quantitativer und qualitativer Zunahme von Zahl und Funktion CD4-positiver T-Zellen. Letztere bleibt jedoch bei einem Großteil der Patienten beeinträchtigt. Rezidive opportunistischer Infektionen nach Beendigung einer erregerspezifischen Sekundärprophylaxe unter suffizienter, mit einem Helferzellanstieg einhergegangener HAART wurden vielfach auf eine fehlende qualitative, also antigenspezifische funktionelle Helferzellrekonstitution zurückgeführt.

Von großer prognostischer Bedeutung ist der frühzeitige Verlust HIV-spezifischer Helferzellaktivität im Rahmen der Infektion. Eine starke Lymphozytenproliferation nach Stimulation mit HIV-*p24*-Antigen korreliert invers mit der Viruslast. Sie ist bei den meisten *long-term nonprogressors* nachweisbar und mit einer suffizienten Immunkontrolle des Virus sowie einem günstigen klinischen Verlauf assoziiert.

Trotz dieser offenbaren Relevanz, gehört die Bestimmung der funktionellen Helferzellkapazität in den meisten Behandlungszentren derzeit nicht zum Routineprogramm im Rahmen des Labor-Monitorings HIV-infizierter Patienten. Mit dem im Rahmen dieser Untersuchung verwendeten, auf die Besonderheiten der HIV-Infektion adaptierten und als akkreditiertes Routineverfahren in einem Einsenderlabor zur Verfügung stehenden Lymphozytentransformationstest steht ein gut reproduzierbares und die Immundiagnostik sinnvoll erweiterndes Untersuchungsverfahren zur Erfassung der Helferzellfunktion zur Verfügung.

Die vorliegende Untersuchung verfolgte zwei Ziele:

Zum einen sollte festgestellt werden, ob und wie stark sich die durch *Pokeweed*-Mitogen, HIV-*p24*- und Recallantigene induzierte lymphoproliferative Reaktivität von PBMCs einer Gruppe von 100 HIV-infizierten und seit mindestens zwölf Wochen antiretroviral behandelten Patienten von der einer gleich großen Gruppe HIV-negativer, gesunder Kontrollpersonen unterscheidet.

Zum anderen wurde untersucht, ob sich ein Unterschied im Ausmaß der quantitativen und qualitativen Immunrekonstitution in zwei jeweils 50 Personen umfassenden Patientengruppen, die sich in der Art des im Rahmen einer HAART eingesetzten Thymidinanalogs – Zidovudin oder Stavudin – unterschieden, finden lässt. Toxische Effekte von Zidovudin auf Zellen der Hämo- und Thymopoese sind mehrfach beschrieben wurden. In mehreren Vergleichsstudien kam es unter einer Stavudin-haltigen HAART zu einem besseren quantitativen Helferzellanstieg als unter einer Zidovudin-haltigen. Dies legt die Vermutung einer unterschiedlichen Kapazität beider Substanzen im Rahmen der HAART-induzierten Immunrekonstitution nahe. Geklärt werden sollte, ob die Art des verwendeten Thymidinanalogs Einfluss auf die lymphoproliferative Aktivität von PBMCs hat.

Im ersten Teil der Untersuchung wurden folgende wesentliche Ergebnisse gefunden:

1. Die HIV-Infektion der Patienten war seit median 5,3 Jahren bekannt. Ihr Helferzell-Nadir betrug im Median 215 Zellen/ μ l, 22 % waren im Stadium AIDS. Patienten und Kontrollpersonen waren im Median 39,8 bzw. 40,1 Jahre alt.
2. Zum Zeitpunkt der Untersuchung betrug die mediane Helferzellzahl der Patienten 610 Zellen/ μ l, die CD4/CD8-Ratio 0,56. Alle hatten seit mindestens zehn, im Median seit 89,6 Wochen eine HIV-Viruslast von weniger als 1000 c/ml. Bei 83 % lag diese unter der Nachweisgrenze von 50 c/ml.
3. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe in der Proliferation ihrer Lymphozyten nach Stimulation mit *Pokeweed*-Mitogen.
4. Bei keiner der Kontrollpersonen ließ sich eine Lymphozytenproliferation nach Stimulation mit HIV-*p24*-Antigen nachweisen, was für die hohe Spezifität des Tests spricht.
5. Die Häufigkeit des Nachweises einer vorhandenen ($SI \geq 3$) bzw. starken ($SI \geq 10$) Helferzellproliferation nach Stimulation mit HIV-*p24*-Antigen war von der zur Stimulation eingesetzten Antigenkonzentration abhängig. Bei Testung mit der höchsten Antigenkonzentration (10 μ g/ml) ließen sich bei 76 % der Patienten vorhandene ($SI \geq 3$) und bei 33 % starke ($SI \geq 10$) gegen HIV gerichtete Helferzellaktivitäten nachweisen.
6. Die mittleren Stimulationsindizes nach Testung mit allen sechs eingesetzten Recallantigenen lagen in der Patientengruppe unterhalb derer in der Kontrollgruppe.
7. Nach Testung mit allen sechs Recallantigenen lag die Häufigkeit starker Lymphozytenproliferation ($SI \geq 10$) in der Kontrollgruppe signifikant höher.
8. Tetanus- und Toxoplasma-Antigen wurden von den Helferzellen der Patienten signifikant seltener „erkannt“ ($SI \geq 3$) als von denen der Kontrollgruppe.
9. Ein mittlerer Stimulationsindex für alle sechs Recallantigene von mindestens zehn wurde bei 95 % der Kontrollpersonen, jedoch nur bei 43 % der Patienten ermittelt. Dieser Unterschied ist signifikant.
10. Bei 95 % der Kontrollpersonen betrug der mittlere Stimulationsindex für Recallantigene mindestens zehn und es fand sich zudem gegen mindestens vier der sechs Recallantigene eine positive Helferzellaktivität. Dies traf – trotz ausgeprägter, nahezu Normwerte erreichender, HAART-induzierter Helferzellrekonstitution – nur auf 42 % aller und auf 49,3 % der Patienten mit mindestens 500 Helferzellen/ μ l zu. Somit muss trotz Erreichens einer von vielen Experten als optimal angesehenen Helferzellzahl von über 500 Zellen/ μ l bei mehr als der Hälfte der Patienten ein, hinsichtlich der Helferzellfunktion, suboptimales Therapieergebnis konstatiert werden.
11. Die Höhe des mittleren Stimulationsindex für Recallantigene korreliert nur sehr wenig mit der Helferzellkonzentration. Aus der Helferzellzahl kann somit nicht ohne weiteres auf die Helferzellfunktion geschlossen werden.

Im zweiten Teil der Untersuchung wurden folgende Ergebnisse gefunden:

1. Bezüglich der mitogeninduzierten Lymphozyten- und der nach Testung mit HIV- und Recallantigenen ausgelösten Helferzellproliferation bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.
2. Beim Vergleich der mittleren Stimulationsindizes für Recallantigene, des Patientenanteils mit einem mittleren Stimulationsindex für Recallantigene von mindestens zehn und des Patientenanteils, deren Helferzellen nach Stimulation mit mindestens vier der sechs Recallantigene proliferieren, fanden sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede.
3. Beide Gruppen waren bezüglich Geschlecht, Alter, Transmissionsweg des Virus und CDC-Stadium der Infektion vergleichbar. Hinsichtlich der Zeitdauer seit Erstdiagnose der HIV-Infektion findet sich ein starker Trend zu höheren Werten in der Stavudin-Gruppe.
4. Die Konzentration CD8-positiver T-Zellen und die Gesamtkonzentration von T-Zellen lagen in der Stavudin-Gruppe signifikant höher als in der Zidovudin-Gruppe.
5. Die HIV-Viruslast zum Zeitpunkt der Untersuchung lag bei keinem der Patienten über 1000 c/ml und bei 84 % bzw. 82 % unterhalb der Nachweisgrenze von 50 c/ml. Der Zeitraum kontinuierlicher Viruslastsuppression unter einen Wert von 1000 c/ml war in beiden Gruppen vergleichbar (89,9 vs. 88,8 Wochen).
6. Die Patienten der Stavudin-Gruppe waren mit median 269,0 vs. 156,2 Wochen signifikant länger kumulativ antiretroviral behandelt worden. Ein nicht signifikanter Trend zu längeren Therapiezeiten in der Stavudin-Gruppe zeigt sich auch beim aktuellen HAART-Regime (80,6 vs. 66,4 Wochen). Signifikante Unterschiede fanden sich zudem beim Vergleich der Nummer des aktuellen, sequentiell verabreichten ART-Regimes (median 3,0 vs. 2,0) und in der Zusammensetzung der ART-Kombinationen. Die Patienten der Zidovudin-Gruppe erhielten signifikant öfter Regime aus drei Nukleosidanaloga (8 % vs. 30 %), während sich in der Stavudin-Gruppe ein starker, jedoch nicht signifikanter Trend zu mehr Proteasehemmer-haltigen Kombinationen findet.

Somit lassen sich vier Kernaussagen der gesamten Untersuchung formulieren:

1. Trotz sehr guter numerischer zellulärer Immunrestitution unter lang andauernder, suffizienter antiretroviraler Therapie mit Normalisierung der Helferzellzahlen bleibt deren Funktion gegen Recallantigene bei mehr als der Hälfte der Patienten signifikant eingeschränkt.
2. Aus der Helferzellkonzentration kann nicht ohne weiteres auf deren Funktionsfähigkeit geschlossen werden. Dies lässt den Einsatz geeigneter labormedizinischer Funktionstests – wie dem LTT – im Rahmen der Immundiagnostik HIV-Infizierter sinnvoll erscheinen.
3. Durch Steigerung der HIV-*p24*-Antigenkonzentration im LTT lassen sich bei 76 % der Patienten unter HAART HIV-spezifische T-Helferzellen nachweisen. Dieses Ergebnis liegt über denen publizierter Studien, was vermutlich (auch) an der höheren Antigenkonzentration im verwendeten LTT liegt.
4. Es konnte kein Einfluss des im Rahmen einer HAART verwendeten Thymidinanalogs – Stavudin oder Zidovudin – auf die Mitogen-, HIV- und Recallantigen-induzierte Lymphozytenproliferation nachgewiesen werden. Die eingeschränkte Vergleichbarkeit der untersuchten Patientengruppen schließt diesen postulierten Einfluß jedoch nicht sicher aus.

6 Anhang

6.1 Abkürzungen

ADCC	<i>antibody-dependent cellular cytotoxicity</i>
APC	<i>antigen presenting cell</i>
ART	Antiretrovirale Therapie
c/ml	<i>copies per milliliter</i>
CDC	<i>Centers for Disease Control</i>
cDNA	<i>copy-DNA</i>
CMV	Cytomegalievirus
Con-A	Concanavalin A
CTL	<i>Cytotoxic T-lymphocytes</i>
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
FasL	Fas-Ligand
FDC	<i>Follicular dendritic cells</i>
HAART	<i>High active antiretroviral therapy</i> oder Hochaktive antiretrovirale Therapie
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
i. d. R.	in der Regel
IFN	Interferon
IL	Interleukin
LPR	lymphoproliferative Reaktion
LTT	Lymphozytentransformationstest
mAb	<i>monoclonal antibody</i>
MW	Mittelwert
NF-AT	Nukleärer Faktor aktivierter T-Zellen
NF- κ B	Nukleärer Faktor - Kappa B
NK-Zellen	Natürliche Killer-Zellen
NNRTI	Nichtnukleosidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitor
NRTI	Nukleosidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitor
NtRTI	Nukleotidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitor
OPC	oropharyngeale Candidiasis
PBMC	<i>peripheral blood mononuclear cell</i>
PHA	Phytohaemagglutinin
PHA	Phytohämagglutinin
PI	Proteaseinhibitor
PPD	<i>purified protein derivate</i>
RNA	<i>ribonucleic acid</i>
RT	Reverse Transkriptase
SD	<i>standard deviation</i>
SI	Stimulationsindex
TCR	<i>T-cell receptor</i>
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TREC	<i>T-cell receptor excision circle</i>
u. a.	unter anderem
v. a.	vor allem
VVC	vulvovaginale Candidiasis

6.2 Literatur

- [1] (1981): Pneumocystis pneumonia--Los Angeles, MMWR Morb Mortal Wkly Rep 30 [21], pp. 250-2.
- [2] (1981): Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men--New York City and California, MMWR Morb Mortal Wkly Rep 30 [25], pp. 305-8.
- [3] Gottlieb, M. S.; Schroff, R.; Schanker, H. M.; Weisman, J. D.; Fan, P. T.; Wolf, R. A. and Saxon, A. (1981): Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency, N Engl J Med 305 [24], pp. 1425-31.
- [4] Masur, H.; Michelis, M. A.; Greene, J. B.; Onorato, I.; Stouwe, R. A.; Holzman, R. S.; Wormser, G.; Brettman, L.; Lange, M.; Murray, H. W. and Cunningham-Rundles, S. (1981): An outbreak of community-acquired Pneumocystis carinii pneumonia: initial manifestation of cellular immune dysfunction, N Engl J Med 305 [24], pp. 1431-8.
- [5] Montagnier, L. (2002): Historical essay. A history of HIV discovery, Science 298 [5599], pp. 1727-8.
- [6] Gallo, R. C. (2002): Historical essay. The early years of HIV/AIDS, Science 298 [5599], pp. 1728-30.
- [7] Barre-Sinoussi, F.; Chermann, J. C.; Rey, F.; Nugeyre, M. T.; Chamaret, S.; Gruest, J.; Dauguet, C.; Axler-Blin, C.; Vezinet-Brun, F.; Rouzioux, C.; Rozenbaum, W. and Montagnier, L. (1983): Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS), Science 220 [4599], pp. 868-71.
- [8] (2002): AIDS epidemic update December 2002, UNAIDS/WHO-2002, Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), World Health Organization (WHO), <http://www.unaids.org>
- [9] Touloumi, G. and Hatzakis, A. (2000): Natural history of HIV-1 infection, Clin Dermatol 18 [4], pp. 389-99.
- [10] (1992): 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults, MMWR Recomm Rep 41 [RR-17], pp. 1-19.
- [11] Kilby, J. M. and Saag, M. S. (1999): Natural history of HIV-1 disease, Merigan, Thomas C.; Bartlett, John G. and Bolognesi, Dani, Textbook of AIDS medicine, 2nd / . ed., pp. 49-58, Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- [12] D'Souza, M. Patricia and Fauci, A. S. (1999): Immunopathogenesis, Bolognesi, Dani, Textbook of AIDS medicine, 2nd / . ed., pp. 49-58, Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- [13] (2003): Natürlicher Verlauf der HIV-Infektion, Hoffmann, Christian and Kamps, Bernd Sebastian, HIV.NET 2003 pp. 36-38, Steinhäuser Verlag, Wuppertal-Beyenburg.
- [14] Darai, Gholamreza (2003): Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen Erreger, Symptome, Diagnose, Therapie und Prophylaxe, 2., vollst. überarb. und aktualis. Aufl. ed., pp. 342-346, Springer, Berlin.

- [15] Gelderblom, H.R. and Pauli, G. (1999): HIV: Einführung in die Virologie, L'age-Stehr, J. and Helm, E.B., Aids und die Vorstadien Folgelieferung Januar 1999 p. V.2, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- [16] Stevenson, M. (1999): Viral genes and their products, Merigan, Thomas C.; Bartlett, John G. and Bolognesi, Dani, Textbook of AIDS medicine, 2nd / . ed., pp. 23-48, Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- [17] Stevenson, M. (2003): HIV-1 pathogenesis, *Nat Med* 9 [7], pp. 853-60.
- [18] McCune, J. M. (2001): The dynamics of CD4+ T-cell depletion in HIV disease, *Nature* 410 [6831], pp. 974-9.
- [19] Shearer, G. M. (1998): HIV-induced immunopathogenesis, *Immunity* 9 [5], pp. 587-93.
- [20] Sodroski, J.; Goh, W. C.; Rosen, C.; Campbell, K. and Haseltine, W. A. (1986): Role of the HTLV-III/LAV envelope in syncytium formation and cytopathicity, *Nature* 322 [6078], pp. 470-4.
- [21] LaBonte, J. A.; Patel, T.; Hofmann, W. and Sodroski, J. (2000): Importance of membrane fusion mediated by human immunodeficiency virus envelope glycoproteins for lysis of primary CD4-positive T cells, *J Virol* 74 [22], pp. 10690-8.
- [22] Anderson, R. W.; Ascher, M. S. and Sheppard, H. W. (1998): Direct HIV cytopathicity cannot account for CD4 decline in AIDS in the presence of homeostasis: a worst-case dynamic analysis, *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 17 [3], pp. 245-52.
- [23] Zinkernagel, R. M. and Hengartner, H. (1994): T-cell-mediated immunopathology versus direct cytolysis by virus: implications for HIV and AIDS, *Immunol Today* 15 [6], pp. 262-8.
- [24] Pantaleo, G. and Fauci, A. S. (1995): New concepts in the immunopathogenesis of HIV infection, *Annu Rev Immunol* 13, pp. 487-512.
- [25] Ameisen, J. C. and Capron, A. (1991): Cell dysfunction and depletion in AIDS: the programmed cell death hypothesis, *Immunol Today* 12 [4], pp. 102-5.
- [26] Finkel, T. H.; Tudor-Williams, G.; Banda, N. K.; Cotton, M. F.; Curiel, T.; Monks, C.; Baba, T. W.; Ruprecht, R. M. and Kupfer, A. (1995): Apoptosis occurs predominantly in bystander cells and not in productively infected cells of HIV- and SIV-infected lymph nodes, *Nat Med* 1 [2], pp. 129-34.
- [27] Oyaizu, N. and Pahwa, S. (1995): Role of apoptosis in HIV disease pathogenesis, *J Clin Immunol* 15 [5], pp. 217-31.
- [28] Jaworowski, A. and Crowe, S. M. (1999): Does HIV cause depletion of CD4+ T cells in vivo by the induction of apoptosis?, *Immunol Cell Biol* 77 [1], pp. 90-8.
- [29] Gougeon, M. L.; Lecoeur, H.; Dulioust, A.; Enouf, M. G.; Crouvoiser, M.; Goujard, C.; Debord, T. and Montagnier, L. (1996): Programmed cell death in peripheral lymphocytes from HIV-infected persons: increased susceptibility to apoptosis of CD4 and CD8 T cells correlates with lymphocyte activation and with disease progression, *J Immunol* 156 [9], pp. 3509-20.
- [30] Goldberg, B. and Stricker, R. B. (1999): Apoptosis and HIV infection: T-cells fiddle while the immune system burns, *Immunol Lett* 70 [1], pp. 5-8.

- [31] Roshal, M.; Zhu, Y. and Planelles, V. (2001): Apoptosis in AIDS, *Apoptosis* 6 [1-2], pp. 103-16.
- [32] Oyaizu, N.; McCloskey, T. W.; Coronese, M.; Chirmule, N.; Kalyanaraman, V. S. and Pahwa, S. (1993): Accelerated apoptosis in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from human immunodeficiency virus type-1 infected patients and in CD4 cross-linked PBMCs from normal individuals, *Blood* 82 [11], pp. 3392-400.
- [33] Badley, A. D.; Dockrell, D.; Simpson, M.; Schut, R.; Lynch, D. H.; Leibson, P. and Paya, C. V. (1997): Macrophage-dependent apoptosis of CD4+ T lymphocytes from HIV-infected individuals is mediated by FasL and tumor necrosis factor, *J Exp Med* 185 [1], pp. 55-64.
- [34] Cottrez, F.; Manca, F.; Dalgleish, A. G.; Arenzana-Seisdedos, F.; Capron, A. and Groux, H. (1997): Priming of human CD4+ antigen-specific T cells to undergo apoptosis by HIV-infected monocytes. A two-step mechanism involving the gp120 molecule, *J Clin Invest* 99 [2], pp. 257-66.
- [35] Kaplan, D. and Sieg, S. (1998): Role of the Fas/Fas ligand apoptotic pathway in human immunodeficiency virus type 1 disease, *J Virol* 72 [8], pp. 6279-82.
- [36] Lawn, S. D.; Butera, S. T. and Folks, T. M. (2001): Contribution of immune activation to the pathogenesis and transmission of human immunodeficiency virus type 1 infection, *Clin Microbiol Rev* 14 [4], pp. 753-77, table of contents.
- [37] Giorgi, J. V.; Liu, Z.; Hultin, L. E.; Cumberland, W. G.; Hennessey, K. and Detels, R. (1993): Elevated levels of CD38+ CD8+ T cells in HIV infection add to the prognostic value of low CD4+ T cell levels: results of 6 years of follow-up. The Los Angeles Center, Multicenter AIDS Cohort Study, *J Acquir Immune Defic Syndr* 6 [8], pp. 904-12.
- [38] Letvin, N. L.; Daniel, M. D.; Sehgal, P. K.; Desrosiers, R. C.; Hunt, R. D.; Waldron, L. M.; MacKey, J. J.; Schmidt, D. K.; Chalifoux, L. V. and King, N. W. (1985): Induction of AIDS-like disease in macaque monkeys with T-cell tropic retrovirus STLV-III, *Science* 230 [4721], pp. 71-3.
- [39] Rey-Cuille, M. A.; Berthier, J. L.; Bomsel-Demontoy, M. C.; Chaduc, Y.; Montagnier, L.; Hovanessian, A. G. and Chakrabarti, L. A. (1998): Simian immunodeficiency virus replicates to high levels in sooty mangabeys without inducing disease, *J Virol* 72 [5], pp. 3872-86.
- [40] Silvestri, G.; Sodora, D. L.; Koup, R. A.; Paiardini, M.; O'Neil, S. P.; McClure, H. M.; Staprans, S. I. and Feinberg, M. B. (2003): Nonpathogenic SIV infection of sooty mangabeys is characterized by limited bystander immunopathology despite chronic high-level viremia, *Immunity* 18 [3], pp. 441-52.
- [41] Spina, C. A.; Prince, H. E. and Richman, D. D. (1997): Preferential replication of HIV-1 in the CD45RO memory cell subset of primary CD4 lymphocytes in vitro, *J Clin Invest* 99 [7], pp. 1774-85.
- [42] Gondois-Rey, F.; Biancotto, A.; Pion, M.; Chenine, A. L.; Gluschkof, P.; Horejsi, V.; Tamalet, C.; Vigne, R. and Hirsch, I. (2001): Production of HIV-1 by resting memory T lymphocytes, *Aids* 15 [15], pp. 1931-40.
- [43] Saag, M. S. (2001): The impact of highly active antiretroviral therapy on HIV-specific immune function, *Aids* 15 Suppl 2, pp. S4-10.
- [44] Hazenberg, M. D.; Hamann, D.; Schuitemaker, H. and Miedema, F. (2000): T cell depletion in HIV-1 infection: how CD4+ T cells go out of stock, *Nat Immunol* 1 [4], pp. 285-9.

- [45] Janossy, G.; Borthwick, N.; Lomnitzer, R.; Medina, E.; Squire, S. B.; Phillips, A. N.; Lipman, M.; Johnson, M. A.; Lee, C. and Bofill, M. (1993): Lymphocyte activation in HIV-1 infection. I. Predominant proliferative defects among CD45R0+ cells of the CD4 and CD8 lineages, *Aids* 7 [5], pp. 613-24.
- [46] Gorochov, G.; Neumann, A. U.; Kereveur, A.; Parizot, C.; Li, T.; Katlama, C.; Karmochkine, M.; Raguin, G.; Autran, B. and Debre, P. (1998): Perturbation of CD4+ and CD8+ T-cell repertoires during progression to AIDS and regulation of the CD4+ repertoire during antiviral therapy, *Nat Med* 4 [2], pp. 215-21.
- [47] Clerici, M. and Shearer, G. M. (1993): A TH1-->TH2 switch is a critical step in the etiology of HIV infection, *Immunol Today* 14 [3], pp. 107-11.
- [48] Westby, M.; Manca, F. and Dalgleish, A. G. (1996): The role of host immune responses in determining the outcome of HIV infection, *Immunol Today* 17 [3], pp. 120-6.
- [49] Lucey, D. R.; Melcher, G. P.; Hendrix, C. W.; Zajac, R. A.; Goetz, D. W.; Butzin, C. A.; Clerici, M.; Warner, R. D.; Abbadessa, S.; Hall, K. and et al. (1991): Human immunodeficiency virus infection in the US Air Force: seroconversions, clinical staging, and assessment of a T helper cell functional assay to predict change in CD4+ T cell counts, *J Infect Dis* 164 [4], pp. 631-7.
- [50] Clerici, M. and Shearer, G. M. (1994): The Th1-Th2 hypothesis of HIV infection: new insights, *Immunol Today* 15 [12], pp. 575-81.
- [51] Ramsdell, F.; Seaman, M. S.; Miller, R. E.; Picha, K. S.; Kennedy, M. K. and Lynch, D. H. (1994): Differential ability of Th1 and Th2 T cells to express Fas ligand and to undergo activation-induced cell death, *Int Immunol* 6 [10], pp. 1545-53.
- [52] Varadhachary, A. S.; Perdow, S. N.; Hu, C.; Ramanarayanan, M. and Salgame, P. (1997): Differential ability of T cell subsets to undergo activation-induced cell death, *Proc Natl Acad Sci U S A* 94 [11], pp. 5778-83.
- [53] Maggi, E.; Mazzetti, M.; Ravina, A.; Annunziato, F.; de Carli, M.; Piccinni, M. P.; Manetti, R.; Carbonari, M.; Pesce, A. M.; del Prete, G. and et al. (1994): Ability of HIV to promote a TH1 to TH0 shift and to replicate preferentially in TH2 and TH0 cells, *Science* 265 [5169], pp. 244-8.
- [54] Clerici, M.; Sarin, A.; Coffman, R. L.; Wynn, T. A.; Blatt, S. P.; Hendrix, C. W.; Wolf, S. F.; Shearer, G. M. and Henkart, P. A. (1994): Type 1/type 2 cytokine modulation of T-cell programmed cell death as a model for human immunodeficiency virus pathogenesis, *Proc Natl Acad Sci U S A* 91 [25], pp. 11811-5.
- [55] Clark, D. R.; de Boer, R. J.; Wolthers, K. C. and Miedema, F. (1999): T cell dynamics in HIV-1 infection, *Adv Immunol* 73, pp. 301-27.
- [56] Margolick, J. B.; Munoz, A.; Donnenberg, A. D.; Park, L. P.; Galai, N.; Giorgi, J. V.; O'Gorman, M. R. and Ferbas, J. (1995): Failure of T-cell homeostasis preceding AIDS in HIV-1 infection. The Multicenter AIDS Cohort Study, *Nat Med* 1 [7], pp. 674-80.
- [57] Roederer, M.; Dubs, J. G.; Anderson, M. T.; Raju, P. A. and Herzenberg, L. A. (1995): CD8 naive T cell counts decrease progressively in HIV-infected adults, *J Clin Invest* 95 [5], pp. 2061-6.

- [58] Carcelain, G.; Debre, P. and Autran, B. (2001): Reconstitution of CD4+ T lymphocytes in HIV-infected individuals following antiretroviral therapy, *Curr Opin Immunol* 13 [4], pp. 483-8.
- [59] Brinchmann, J. E. (2000): Differential responses of T cell subsets: possible role in the immunopathogenesis of AIDS, *Aids* 14 [12], pp. 1689-700.
- [60] Ho, D. D.; Neumann, A. U.; Perelson, A. S.; Chen, W.; Leonard, J. M. and Markowitz, M. (1995): Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection, *Nature* 373 [6510], pp. 123-6.
- [61] Wei, X.; Ghosh, S. K.; Taylor, M. E.; Johnson, V. A.; Emini, E. A.; Deutsch, P.; Lifson, J. D.; Bonhoeffer, S.; Nowak, M. A.; Hahn, B. H. and et al. (1995): Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection, *Nature* 373 [6510], pp. 117-22.
- [62] Wolthers, K. C.; Bea, G.; Wisman, A.; Otto, S. A.; de Roda Husman, A. M.; Schaft, N.; de Wolf, F.; Goudsmit, J.; Coutinho, R. A.; van der Zee, A. G.; Meyaard, L. and Miedema, F. (1996): T cell telomere length in HIV-1 infection: no evidence for increased CD4+ T cell turnover, *Science* 274 [5292], pp. 1543-7.
- [63] Hellerstein, M.; Hanley, M. B.; Cesar, D.; Siler, S.; Papageorgopoulos, C.; Wieder, E.; Schmidt, D.; Hoh, R.; Neese, R.; Macallan, D.; Deeks, S. and McCune, J. M. (1999): Directly measured kinetics of circulating T lymphocytes in normal and HIV-1-infected humans, *Nat Med* 5 [1], pp. 83-9.
- [64] Lempicki, R. A.; Kovacs, J. A.; Baseler, M. W.; Adelsberger, J. W.; Dewar, R. L.; Natarajan, V.; Bosche, M. C.; Metcalf, J. A.; Stevens, R. A.; Lambert, L. A.; Alvord, W. G.; Polis, M. A.; Davey, R. T.; Dimitrov, D. S. and Lane, H. C. (2000): Impact of HIV-1 infection and highly active antiretroviral therapy on the kinetics of CD4+ and CD8+ T cell turnover in HIV-infected patients, *Proc Natl Acad Sci U S A* 97 [25], pp. 13778-83.
- [65] Fleury, S.; Rizzardì, G. P.; Chapuis, A.; Tambussi, G.; Knabenhans, C.; Simeoni, E.; Meuwly, J. Y.; Corpataux, J. M.; Lazzarin, A.; Miedema, F. and Pantaleo, G. (2000): Long-term kinetics of T cell production in HIV-infected subjects treated with highly active antiretroviral therapy, *Proc Natl Acad Sci U S A* 97 [10], pp. 5393-8.
- [66] Mackall, C. L.; Hakim, F. T. and Gress, R. E. (1997): Restoration of T-cell homeostasis after T-cell depletion, *Semin Immunol* 9 [6], pp. 339-46.
- [67] Sempowski, G. D. and Haynes, B. F. (2002): Immune reconstitution in patients with HIV infection, *Annu Rev Med* 53, pp. 269-84.
- [68] Mackall, C. L.; Fleisher, T. A.; Brown, M. R.; Andrich, M. P.; Chen, C. C.; Feuerstein, I. M.; Horowitz, M. E.; Magrath, I. T.; Shad, A. T.; Steinberg, S. M. and et al. (1995): Age, thymopoiesis, and CD4+ T-lymphocyte regeneration after intensive chemotherapy, *N Engl J Med* 332 [3], pp. 143-9.
- [69] Schooley, R. T.; Mladenovic, J.; Sevin, A.; Chiu, S.; Miles, S. A.; Pomerantz, R. J.; Campbell, T. B.; Bell, D.; Ambruso, D.; Wong, R.; Landay, A.; Coombs, R. W.; Fox, L.; Kamoun, M. and Jacovini, J. (2000): Reduced mobilization of CD34+ stem cells in advanced human immunodeficiency virus type 1 disease, *J Infect Dis* 181 [1], pp. 148-57.
- [70] Valdez, H. (2002): Immune restoration after treatment of HIV-1 infection with highly active antiretroviral therapy (HAART), *AIDS Rev* 4 [3], pp. 157-64.

- [71] Douek, D. C.; McFarland, R. D.; Keiser, P. H.; Gage, E. A.; Massey, J. M.; Haynes, B. F.; Polis, M. A.; Haase, A. T.; Feinberg, M. B.; Sullivan, J. L.; Jamieson, B. D.; Zack, J. A.; Picker, L. J. and Koup, R. A. (1998): Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection, *Nature* 396 [6712], pp. 690-5.
- [72] Schnittman, S. M.; Denning, S. M.; Greenhouse, J. J.; Justement, J. S.; Baseler, M.; Haynes, B. F. and Fauci, A. S. (1990): Evidence for susceptibility of intrathymic T cell precursors to human immunodeficiency virus infection: a mechanism for T4 (CD4) lymphocyte depletion, *Trans Assoc Am Physicians* 103, pp. 96-101.
- [73] Bonyhadi, M. L.; Rabin, L.; Salimi, S.; Brown, D. A.; Kosek, J.; McCune, J. M. and Kaneshima, H. (1993): HIV induces thymus depletion in vivo, *Nature* 363 [6431], pp. 728-32.
- [74] Haynes, B. F. and Hale, L. P. (1998): The human thymus. A chimeric organ comprised of central and peripheral lymphoid components, *Immunol Res* 18 [3], pp. 175-92.
- [75] Stanley, S. K.; McCune, J. M.; Kaneshima, H.; Justement, J. S.; Sullivan, M.; Boone, E.; Baseler, M.; Adelsberger, J.; Bonyhadi, M.; Orenstein, J. and et al. (1993): Human immunodeficiency virus infection of the human thymus and disruption of the thymic microenvironment in the SCID-hu mouse, *J Exp Med* 178 [4], pp. 1151-63.
- [76] Zhang, L.; Lewin, S. R.; Markowitz, M.; Lin, H. H.; Skulsky, E.; Karanickolas, R.; He, Y.; Jin, X.; Tuttleton, S.; Vesanen, M.; Spiegel, H.; Kost, R.; van Lunzen, J.; Stellbrink, H. J.; Wolinsky, S.; Borkowsky, W.; Palumbo, P.; Kostrikis, L. G. and Ho, D. D. (1999): Measuring recent thymic emigrants in blood of normal and HIV-1-infected individuals before and after effective therapy, *J Exp Med* 190 [5], pp. 725-32.
- [77] McCune, J. M.; Loftus, R.; Schmidt, D. K.; Carroll, P.; Webster, D.; Swor-Yim, L. B.; Francis, I. R.; Gross, B. H. and Grant, R. M. (1998): High prevalence of thymic tissue in adults with human immunodeficiency virus-1 infection, *J Clin Invest* 101 [11], pp. 2301-8.
- [78] Cloyd, M. W.; Chen, J. J. and Wang, I. (2000): How does HIV cause AIDS? The homing theory, *Mol Med Today* 6 [3], pp. 108-11.
- [79] Bucy, R. P.; Hockett, R. D.; Derdeyn, C. A.; Saag, M. S.; Squires, K.; Sillers, M.; Mitsuyasu, R. T. and Kilby, J. M. (1999): Initial increase in blood CD4(+) lymphocytes after HIV antiretroviral therapy reflects redistribution from lymphoid tissues, *J Clin Invest* 103 [10], pp. 1391-8.
- [80] Ullum, H.; Gotzsche, P. C.; Victor, J.; Dickmeiss, E.; Skinhoj, P. and Pedersen, B. K. (1995): Defective natural immunity: an early manifestation of human immunodeficiency virus infection, *J Exp Med* 182 [3], pp. 789-99.
- [81] Goicoa, M. A.; Mariani, A. L.; Palacios, M. F.; Testoni, R. A.; Iannitelli, P. S.; Diez, R. A.; Sen, L. and Estevez, M. E. (1992): Defect of NK regulation in HIV-infected patients, *Arch AIDS Res* 6 [1-2], pp. 15-26.
- [82] Trimble, L. A.; Shankar, P.; Patterson, M.; Daily, J. P. and Lieberman, J. (2000): Human immunodeficiency virus-specific circulating CD8 T lymphocytes have down-modulated CD3zeta and CD28, key signaling molecules for T-cell activation, *J Virol* 74 [16], pp. 7320-30.
- [83] Chiang, C. F.; Tenenbaum, S. A.; Verret, C. R.; Leissinger, C. A. and Garry, R. F. (1996): Activity of granzyme A, a serine protease in the killing granules of cytotoxic T lymphocytes, is reduced in cells from HIV-infected hemophiliacs, *AIDS Res Hum Retroviruses* 12 [3], pp. 235-9.

- [84] Blazevic, V.; Sahgal, N.; Kessler, H. A.; Landay, A. L. and Shearer, G. M. (2000): T cell responses to recall antigens, alloantigen, and mitogen of HIV-infected patients receiving long-term combined antiretroviral therapy, *AIDS Res Hum Retroviruses* 16 [17], pp. 1887-93.
- [85] Gruters, R. A.; Terpstra, F. G.; De Jong, R.; Van Noesel, C. J.; Van Lier, R. A. and Miedema, F. (1990): Selective loss of T cell functions in different stages of HIV infection. Early loss of anti-CD3-induced T cell proliferation followed by decreased anti-CD3-induced cytotoxic T lymphocyte generation in AIDS-related complex and AIDS, *Eur J Immunol* 20 [5], pp. 1039-44.
- [86] Miedema, F.; Petit, A. J.; Terpstra, F. G.; Schattenkerk, J. K.; de Wolf, F.; Al, B. J.; Roos, M.; Lange, J. M.; Danner, S. A.; Goudsmit, J. and et al. (1988): Immunological abnormalities in human immunodeficiency virus (HIV)-infected asymptomatic homosexual men. HIV affects the immune system before CD4+ T helper cell depletion occurs, *J Clin Invest* 82 [6], pp. 1908-14.
- [87] Lane, H. C.; Masur, H.; Edgar, L. C.; Whalen, G.; Rook, A. H. and Fauci, A. S. (1983): Abnormalities of B-cell activation and immunoregulation in patients with the acquired immunodeficiency syndrome, *N Engl J Med* 309 [8], pp. 453-8.
- [88] Abbas, Abul K.; Lichtman, Andrew H. and Pober, Jordan S. (1996): Antigenverarbeitung und Präsentation für T-Lymphozyten., *Immunologie* pp. 145-168, Verl. Hans Huber, Bern.
- [89] Abbas, Abul K.; Lichtman, Andrew H. and Pober, Jordan S. (1996): Molekulare Grundlagen der T-Zell-Antigenerkennung und Aktivierung, *Immunologie* pp. 169-204, Verl. Hans Huber, Bern.
- [90] Pope, M.; Betjes, M. G.; Romani, N.; Hirmand, H.; Cameron, P. U.; Hoffman, L.; Gezelter, S.; Schuler, G. and Steinman, R. M. (1994): Conjugates of dendritic cells and memory T lymphocytes from skin facilitate productive infection with HIV-1, *Cell* 78 [3], pp. 389-98.
- [91] Yoo, J.; Chen, H.; Kraus, T.; Hirsch, D.; Polyak, S.; George, I. and Sperber, K. (1996): Altered cytokine production and accessory cell function after HIV-1 infection, *J Immunol* 157 [3], pp. 1313-20.
- [92] Rich, E. A.; Toossi, Z.; Fujiwara, H.; Hanigosky, R.; Lederman, M. M. and Ellner, J. J. (1988): Defective accessory function of monocytes in human immunodeficiency virus-related disease syndromes, *J Lab Clin Med* 112 [2], pp. 174-81.
- [93] Prince, H. E.; Moody, D. J.; Shubin, B. I. and Fahey, J. L. (1985): Defective monocyte function in acquired immune deficiency syndrome (AIDS): evidence from a monocyte-dependent T-cell proliferative system, *J Clin Immunol* 5 [1], pp. 21-5.
- [94] Petit, A. J.; Tersmette, M.; Terpstra, F. G.; de Goede, R. E.; van Lier, R. A. and Miedema, F. (1988): Decreased accessory cell function by human monocytic cells after infection with HIV, *J Immunol* 140 [5], pp. 1485-9.
- [95] Clerici, M.; Stocks, N. I.; Zajac, R. A.; Boswell, R. N. and Shearer, G. M. (1990): Accessory cell function in asymptomatic human immunodeficiency virus-infected patients, *Clin Immunol Immunopathol* 54 [2], pp. 168-73.
- [96] Polyak, S.; Chen, H.; Hirsch, D.; George, I.; Hershberg, R. and Sperber, K. (1997): Impaired class II expression and antigen uptake in monocytic cells after HIV-1 infection, *J Immunol* 159 [5], pp. 2177-88.

- [97] Dudhane, A.; Conti, B.; Orlikowsky, T.; Wang, Z. Q.; Mangla, N.; Gupta, A.; Wormser, G. P. and Hoffmann, M. K. (1996): Monocytes in HIV type 1-infected individuals lose expression of costimulatory B7 molecules and acquire cytotoxic activity, *AIDS Res Hum Retroviruses* 12 [10], pp. 885-92.
- [98] Badley, A. D.; McElhinny, J. A.; Leibson, P. J.; Lynch, D. H.; Alderson, M. R. and Paya, C. V. (1996): Upregulation of Fas ligand expression by human immunodeficiency virus in human macrophages mediates apoptosis of uninfected T lymphocytes, *J Virol* 70 [1], pp. 199-206.
- [99] Dockrell, D. H.; Badley, A. D.; Villacian, J. S.; Heppelmann, C. J.; Algeciras, A.; Ziesmer, S.; Yagita, H.; Lynch, D. H.; Roche, P. C.; Leibson, P. J. and Paya, C. V. (1998): The expression of Fas Ligand by macrophages and its upregulation by human immunodeficiency virus infection, *J Clin Invest* 101 [11], pp. 2394-405.
- [100] Meyaard, L.; Schuitemaker, H. and Miedema, F. (1993): T-cell dysfunction in HIV infection: anergy due to defective antigen-presenting cell function?, *Immunol Today* 14 [4], pp. 161-4.
- [101] Lane, H. C.; Depper, J. M.; Greene, W. C.; Whalen, G.; Waldmann, T. A. and Fauci, A. S. (1985): Qualitative analysis of immune function in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Evidence for a selective defect in soluble antigen recognition, *N Engl J Med* 313 [2], pp. 79-84.
- [102] Clerici, M.; Stocks, N. I.; Zajac, R. A.; Boswell, R. N.; Lucey, D. R.; Via, C. S. and Shearer, G. M. (1989): Detection of three distinct patterns of T helper cell dysfunction in asymptomatic, human immunodeficiency virus-seropositive patients. Independence of CD4+ cell numbers and clinical staging, *J Clin Invest* 84 [6], pp. 1892-9.
- [103] Giorgi, J. V.; Fahey, J. L.; Smith, D. C.; Hultin, L. E.; Cheng, H. L.; Mitsuyasu, R. T. and Detels, R. (1987): Early effects of HIV on CD4 lymphocytes in vivo, *J Immunol* 138 [11], pp. 3725-30.
- [104] Schnittman, S. M.; Lane, H. C.; Greenhouse, J.; Justement, J. S.; Baseler, M. and Fauci, A. S. (1990): Preferential infection of CD4+ memory T cells by human immunodeficiency virus type 1: evidence for a role in the selective T-cell functional defects observed in infected individuals, *Proc Natl Acad Sci U S A* 87 [16], pp. 6058-62.
- [105] Hofmann, B.; Odum, N.; Platz, P.; Ryder, L. P.; Svejgaard, A. and Neilsen, J. O. (1985): Immunological studies in acquired immunodeficiency syndrome. Functional studies of lymphocyte subpopulations, *Scand J Immunol* 21 [3], pp. 235-43.
- [106] Ridley, D. J.; Houk, R. W.; Reid, M. J. and Boswell, R. N. (1989): Early lymphocyte transformation abnormalities in human immunodeficiency virus infection, *J Clin Immunol* 9 [2], pp. 119-24.
- [107] Petersen, J.; Church, J.; Gomperts, E. and Parkman, R. (1989): Lymphocyte phenotype does not predict immune function in pediatric patients infected with human immunodeficiency virus type 1, *J Pediatr* 115 [6], pp. 944-8.
- [108] Pontesilli, O.; Kerkhof-Garde, S.; Notermans, D. W.; Foudraine, N. A.; Roos, M. T.; Klein, M. R.; Danner, S. A.; Lange, J. M. and Miedema, F. (1999): Functional T cell reconstitution and human immunodeficiency virus-1-specific cell-mediated immunity during highly active antiretroviral therapy, *J Infect Dis* 180 [1], pp. 76-86.
- [109] Gurley, R. J.; Ikeuchi, K.; Byrn, R. A.; Anderson, K. and Groopman, J. E. (1989): CD4+ lymphocyte function with early human immunodeficiency virus infection, *Proc Natl Acad Sci U S A* 86 [6], pp. 1993-7.

- [110] Connors, M.; Kovacs, J. A.; Krevat, S.; Gea-Banacloche, J. C.; Sneller, M. C.; Flanigan, M.; Metcalf, J. A.; Walker, R. E.; Falloon, J.; Baseler, M.; Feuerstein, I.; Masur, H. and Lane, H. C. (1997): HIV infection induces changes in CD4+ T-cell phenotype and depletions within the CD4+ T-cell repertoire that are not immediately restored by antiviral or immune-based therapies, *Nat Med* 3 [5], pp. 533-40.
- [111] Kelleher, A. D.; Carr, A.; Zaunders, J. and Cooper, D. A. (1996): Alterations in the immune response of human immunodeficiency virus (HIV)-infected subjects treated with an HIV-specific protease inhibitor, ritonavir, *J Infect Dis* 173 [2], pp. 321-9.
- [112] van Noesel, C. J.; Gruters, R. A.; Terpstra, F. G.; Schellekens, P. T.; van Lier, R. A. and Miedema, F. (1990): Functional and phenotypic evidence for a selective loss of memory T cells in asymptomatic human immunodeficiency virus-infected men, *J Clin Invest* 86 [1], pp. 293-9.
- [113] Angel, J. B.; Kumar, A.; Parato, K.; Filion, L. G.; Diaz-Mitoma, F.; Daftarian, P.; Pham, B.; Sun, E.; Leonard, J. M. and Cameron, D. W. (1998): Improvement in cell-mediated immune function during potent anti-human immunodeficiency virus therapy with ritonavir plus saquinavir, *J Infect Dis* 177 [4], pp. 898-904.
- [114] Chehimi, J.; Starr, S. E.; Frank, I.; D'Andrea, A.; Ma, X.; MacGregor, R. R.; Sennelier, J. and Trinchieri, G. (1994): Impaired interleukin 12 production in human immunodeficiency virus-infected patients, *J Exp Med* 179 [4], pp. 1361-6.
- [115] Daftarian, M. P.; Diaz-Mitoma, F.; Creery, W. D.; Cameron, W. and Kumar, A. (1995): Dysregulated production of interleukin-10 (IL-10) and IL-12 by peripheral blood lymphocytes from human immunodeficiency virus-infected individuals is associated with altered proliferative responses to recall antigens, *Clin Diagn Lab Immunol* 2 [6], pp. 712-8.
- [116] Landay, A. L.; Clerici, M.; Hashemi, F.; Kessler, H.; Berzofsky, J. A. and Shearer, G. M. (1996): In vitro restoration of T cell immune function in human immunodeficiency virus-positive persons: effects of interleukin (IL)-12 and anti-IL-10, *J Infect Dis* 173 [5], pp. 1085-91.
- [117] Levy, Y.; Capitant, C.; Houhou, S.; Carriere, I.; Viard, J. P.; Goujard, C.; Gastaut, J. A.; Oksenhendler, E.; Boumsell, L.; Gomard, E.; Rabian, C.; Weiss, L.; Guillet, J. G.; Delfraissy, J. F.; Aboulker, J. P. and Seligmann, M. (1999): Comparison of subcutaneous and intravenous interleukin-2 in asymptomatic HIV-1 infection: a randomised controlled trial. ANRS 048 study group, *Lancet* 353 [9168], pp. 1923-9.
- [118] Hofmann, B.; Nishanian, P.; Fahey, J. L.; Esmail, I.; Jackson, A. L.; Detels, R. and Cumberland, W. (1991): Serum increases and lymphoid cell surface losses of IL-2 receptor CD25 in HIV infection: distinctive parameters of HIV-induced change, *Clin Immunol Immunopathol* 61 [2 Pt 1], pp. 212-24.
- [119] Bass, H. Z.; Fahey, J. L.; Nishanian, P.; Detels, R.; Cumberland, W.; Kemeny, M. and Plaeger, S. (1997): Relation of impaired lymphocyte proliferative function to other major human immunodeficiency virus type 1-induced immunological changes, *Clin Diagn Lab Immunol* 4 [1], pp. 64-9.
- [120] Manca, F.; Habeshaw, J. A. and Dalglish, A. G. (1990): HIV envelope glycoprotein, antigen specific T-cell responses, and soluble CD4, *Lancet* 335 [8693], pp. 811-5.
- [121] Luria, S.; Chambers, I. and Berg, P. (1991): Expression of the type 1 human immunodeficiency virus Nef protein in T cells prevents antigen receptor-mediated induction of interleukin 2 mRNA, *Proc Natl Acad Sci U S A* 88 [12], pp. 5326-30.

- [122] Viscidi, R. P.; Mayur, K.; Lederman, H. M. and Frankel, A. D. (1989): Inhibition of antigen-induced lymphocyte proliferation by Tat protein from HIV-1, *Science* 246 [4937], pp. 1606-8.
- [123] (1994): Concorde: MRC/ANRS randomised double-blind controlled trial of immediate and deferred zidovudine in symptom-free HIV infection. Concorde Coordinating Committee, *Lancet* 343 [8902], pp. 871-81.
- [124] (1996): Delta: a randomised double-blind controlled trial comparing combinations of zidovudine plus didanosine or zalcitabine with zidovudine alone in HIV-infected individuals. Delta Coordinating Committee, *Lancet* 348 [9023], pp. 283-91.
- [125] (2002): Deutsch-Österreichische Richtlinien zur Antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion (Stand: Juli 2002), Berlin, Robert Koch-Institut, http://www.rki.de/INFEKT/AIDS_STD/BR_LINIE/BR_LINIE.HTM?RLART0207.HTM&1
- [126] (2003): Antiretrovirale Therapie 2003: Substanzklassen, Medikamentenübersicht, Hoffmann, Christian and Kamps, Bernd Sebastian, HIV.NET 2003 pp. 36-38, Steinhäuser Verlag, Wuppertal-Beyenburg.
- [127] Montaner, J. S. G. and Lange, J. M. A. (1999): Nevirapine, Dolin, Raphael; Masur, Henry and Saag, Michael S., *Aids therapy* p. 864, Churchill Livingstone, New York.
- [128] Flexner, C. (1998): HIV-protease inhibitors, *N Engl J Med* 338 [18], pp. 1281-92.
- [129] Brinkman, K.; Smeitink, J. A.; Romijn, J. A. and Reiss, P. (1999): Mitochondrial toxicity induced by nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors is a key factor in the pathogenesis of antiretroviral-therapy-related lipodystrophy, *Lancet* 354 [9184], pp. 1112-5.
- [130] Heagy, W.; Crumpacker, C.; Lopez, P. A. and Finberg, R. W. (1991): Inhibition of immune functions by antiviral drugs, *J Clin Invest* 87 [6], pp. 1916-24.
- [131] Nokta, M. A. and Pollard, R. B. (1989): Differential reconstitution of zidovudine-induced inhibition of mitogenic responses by interleukin-2 in peripheral blood mononuclear cells from patients with human immunodeficiency virus infection, *Antiviral Res* 11 [4], pp. 191-202.
- [132] McKallip, R. J.; Nagarkatti, M. and Nagarkatti, P. S. (1995): Immunotoxicity of AZT: inhibitory effect on thymocyte differentiation and peripheral T cell responsiveness to gp120 of human immunodeficiency virus, *Toxicol Appl Pharmacol* 131 [1], pp. 53-62.
- [133] Mercure, L.; Lalonde, R.; Phaneuf, D.; Brenner, B. and Wainberg, M. A. (1994): Inhibitory effect of 3'-azido-3'-deoxythymidine on proliferative responsiveness of CD8+ lymphocytes to interleukin-2, *Clin Diagn Lab Immunol* 1 [4], pp. 482-5.
- [134] Shaw, D. R.; Knight, D. R.; Waterman, A. L. and Sommadossi, J. P. (1991): 3'-Azido-3'-deoxythymidine inhibition of human lymphocyte cytolytic function in vitro, *Biochem Pharmacol* 41 [2], pp. 287-91.
- [135] Richman, D. D.; Fischl, M. A.; Grieco, M. H.; Gottlieb, M. S.; Volberding, P. A.; Laskin, O. L.; Leedom, J. M.; Groopman, J. E.; Mildvan, D.; Hirsch, M. S. and et al. (1987): The toxicity of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial, *N Engl J Med* 317 [4], pp. 192-7.
- [136] Dainiak, N.; Worthington, M.; Riordan, M. A.; Kreczko, S. and Goldman, L. (1988): 3'-Azido-3'-deoxythymidine (AZT) inhibits proliferation in vitro of human haematopoietic progenitor cells, *Br J Haematol* 69 [3], pp. 299-304.

- [137] Sommadossi, J. P. and Carlisle, R. (1987): Toxicity of 3'-azido-3'-deoxythymidine and 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanine for normal human hematopoietic progenitor cells in vitro, *Antimicrob Agents Chemother* 31 [3], pp. 452-4.
- [138] Sommadossi, J. P.; Carlisle, R. and Zhou, Z. (1989): Cellular pharmacology of 3'-azido-3'-deoxythymidine with evidence of incorporation into DNA of human bone marrow cells, *Mol Pharmacol* 36 [1], pp. 9-14.
- [139] Lisignoli, G.; Monaco, M. C.; Degrassi, A.; Toneguzzi, S.; Ricchi, E.; Costigliola, P. and Facchini, A. (1993): In vitro immunotoxicity of +/- 2'-deoxy-3'-thiacytidine, a new anti-HIV agent, *Clin Exp Immunol* 92 [3], pp. 455-9.
- [140] Staszewski, S.; Morales-Ramirez, J.; Tashima, K. T.; Rachlis, A.; Skiest, D.; Stanford, J.; Stryker, R.; Johnson, P.; Labriola, D. F.; Farina, D.; Manion, D. J. and Ruiz, N. M. (1999): Efavirenz plus zidovudine and lamivudine, efavirenz plus indinavir, and indinavir plus zidovudine and lamivudine in the treatment of HIV-1 infection in adults. Study 006 Team, *N Engl J Med* 341 [25], pp. 1865-73.
- [141] Cohen Stuart, J. W.; Schuurman, R.; Burger, D. M.; Koopmans, P. P.; Sprenger, H. G.; Juttman, J. R.; Richter, C.; Meenhorst, P. L.; Hoetelmans, R. M.; Kroon, F. P.; Bravenboer, B.; Hamann, D.; Boucher, C. A. and Borleffs, J. C. (1999): Randomized trial comparing saquinavir soft gelatin capsules versus indinavir as part of triple therapy (CHEESE study), *Aids* 13 [7], pp. F53-8.
- [142] Palella, F. J., Jr.; Delaney, K. M.; Moorman, A. C.; Loveless, M. O.; Fuhrer, J.; Satten, G. A.; Aschman, D. J. and Holmberg, S. D. (1998): Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators, *N Engl J Med* 338 [13], pp. 853-60.
- [143] Mocroft, A.; Ledergerber, B.; Katlama, C.; Kirk, O.; Reiss, P.; d'Arminio Monforte, A.; Knysz, B.; Dietrich, M.; Phillips, A. N. and Lundgren, J. D. (2003): Decline in the AIDS and death rates in the EuroSIDA study: an observational study, *Lancet* 362 [9377], pp. 22-9.
- [144] Pakker, N. G.; Notermans, D. W.; de Boer, R. J.; Roos, M. T.; de Wolf, F.; Hill, A.; Leonard, J. M.; Danner, S. A.; Miedema, F. and Schellekens, P. T. (1998): Biphasic kinetics of peripheral blood T cells after triple combination therapy in HIV-1 infection: a composite of redistribution and proliferation, *Nat Med* 4 [2], pp. 208-14.
- [145] Lederman, M. M.; Connick, E.; Landay, A.; Kuritzkes, D. R.; Spritzler, J.; St Clair, M.; Kotzin, B. L.; Fox, L.; Chiozzi, M. H.; Leonard, J. M.; Rousseau, F.; Wade, M.; Roe, J. D.; Martinez, A. and Kessler, H. (1998): Immunologic responses associated with 12 weeks of combination antiretroviral therapy consisting of zidovudine, lamivudine, and ritonavir: results of AIDS Clinical Trials Group Protocol 315, *J Infect Dis* 178 [1], pp. 70-9.
- [146] Autran, B.; Carcelain, G.; Li, T. S.; Blanc, C.; Mathez, D.; Tubiana, R.; Katlama, C.; Debre, P. and Leibowitch, J. (1997): Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease, *Science* 277 [5322], pp. 112-6.
- [147] Kaufmann, G. R.; Bloch, M.; Zaunders, J. J.; Smith, D. and Cooper, D. A. (2000): Long-term immunological response in HIV-1-infected subjects receiving potent antiretroviral therapy, *Aids* 14 [8], pp. 959-69.
- [148] Li, T. S.; Tubiana, R.; Katlama, C.; Calvez, V.; Ait Mohand, H. and Autran, B. (1998): Long-lasting recovery in CD4 T-cell function and viral-load reduction after highly active antiretroviral therapy in advanced HIV-1 disease, *Lancet* 351 [9117], pp. 1682-6.

- [149] Connick, E.; Lederman, M. M.; Kotzin, B. L.; Spritzler, J.; Kuritzkes, D. R.; St Clair, M.; Sevin, A. D.; Fox, L.; Chiozzi, M. H.; Leonard, J. M.; Rousseau, F.; D'Arc Roe, J.; Martinez, A.; Kessler, H. and Landay, A. (2000): Immune reconstitution in the first year of potent antiretroviral therapy and its relationship to virologic response, *J Infect Dis* 181 [1], pp. 358-63.
- [150] Mezzaroma, I.; Carlesimo, M.; Pinter, E.; Alario, C.; Sacco, G.; Muratori, D. S.; Bernardi, M. L.; Paganelli, R. and Aiuti, F. (1999): Long-term evaluation of T-cell subsets and T-cell function after HAART in advanced stage HIV-1 disease, *Aids* 13 [10], pp. 1187-93.
- [151] Al-Harthi, L.; Siegel, J.; Spritzler, J.; Pottage, J.; Agnoli, M. and Landay, A. (2000): Maximum suppression of HIV replication leads to the restoration of HIV-specific responses in early HIV disease, *Aids* 14 [7], pp. 761-70.
- [152] Lederman, M. M.; McKinnis, R.; Kelleher, D.; Cutrell, A.; Mellors, J.; Neisler, M.; Cooney, E.; Haas, D. W.; Haubrich, R.; Stanford, J.; Horton, J.; Landay, A. and Spreen, W. (2000): Cellular restoration in HIV infected persons treated with abacavir and a protease inhibitor: age inversely predicts naive CD4 cell count increase, *Aids* 14 [17], pp. 2635-42.
- [153] Lederman, M. M. (2001): Immune restoration and CD4+ T-cell function with antiretroviral therapies, *Aids* 15 Suppl 2, pp. S11-5.
- [154] Renaud, M.; Katlama, C.; Mallet, A.; Calvez, V.; Carcelain, G.; Tubiana, R.; Jouan, M.; Caumes, E.; Agut, H.; Bricaire, F.; Debre, P. and Autran, B. (1999): Determinants of paradoxical CD4 cell reconstitution after protease inhibitor-containing antiretroviral regimen, *Aids* 13 [6], pp. 669-76.
- [155] Ensoli, F.; Fiorelli, V.; Alario, C.; De Cristofaro, M.; Santini Muratori, D.; Novi, A.; Cunsolo, M. G.; Mazzetta, F.; Giovannetti, A.; Mollicone, B.; Pinter, E. and Aiuti, F. (2000): Decreased T cell apoptosis and T cell recovery during highly active antiretroviral therapy (HAART), *Clin Immunol* 97 [1], pp. 9-20.
- [156] Lange, C. G.; Valdez, H.; Medvik, K.; Asaad, R. and Lederman, M. M. (2002): CD4+ T-lymphocyte nadir and the effect of highly active antiretroviral therapy on phenotypic and functional immune restoration in HIV-1 infection, *Clin Immunol* 102 [2], pp. 154-61.
- [157] Valdez, H.; Smith, K. Y.; Landay, A.; Connick, E.; Kuritzkes, D. R.; Kessler, H.; Fox, L.; Spritzler, J.; Roe, J.; Lederman, M. B.; Lederman, H. M.; Evans, T. G.; Heath-Chiozzi, M. and Lederman, M. M. (2000): Response to immunization with recall and neoantigens after prolonged administration of an HIV-1 protease inhibitor-containing regimen. ACTG 375 team. AIDS Clinical Trials Group, *Aids* 14 [1], pp. 11-21.
- [158] Sloand, E. M.; Kumar, P. N.; Kim, S.; Chaudhuri, A.; Weichold, F. F. and Young, N. S. (1999): Human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor modulates activation of peripheral blood CD4(+) T cells and decreases their susceptibility to apoptosis in vitro and in vivo, *Blood* 94 [3], pp. 1021-7.
- [159] Kostense, S.; Raaphorst, F. M.; Notermans, D. W.; Joling, J.; Hooibrink, B.; Pakker, N. G.; Danner, S. A.; Teale, J. M. and Miedema, F. (1998): Diversity of the T-cell receptor BV repertoire in HIV-1-infected patients reflects the biphasic CD4+ T-cell repopulation kinetics during highly active antiretroviral therapy, *Aids* 12 [18], pp. F235-40.
- [160] Sachsenberg, N.; Perelson, A. S.; Yerly, S.; Schockmel, G. A.; Leduc, D.; Hirschel, B. and Perrin, L. (1998): Turnover of CD4+ and CD8+ T lymphocytes in HIV-1 infection as measured by Ki-67 antigen, *J Exp Med* 187 [8], pp. 1295-303.

- [161] Tenner-Racz, K.; Stellbrink, H. J.; van Lunzen, J.; Schneider, C.; Jacobs, J. P.; Raschdorff, B.; Grosschupff, G.; Steinman, R. M. and Racz, P. (1998): The unenlarged lymph nodes of HIV-1-infected, asymptomatic patients with high CD4 T cell counts are sites for virus replication and CD4 T cell proliferation. The impact of highly active antiretroviral therapy, *J Exp Med* 187 [6], pp. 949-59.
- [162] Smith, K. Y.; Valdez, H.; Landay, A.; Spritzler, J.; Kessler, H. A.; Connick, E.; Kuritzkes, D.; Gross, B.; Francis, I.; McCune, J. M. and Lederman, M. M. (2000): Thymic size and lymphocyte restoration in patients with human immunodeficiency virus infection after 48 weeks of zidovudine, lamivudine, and ritonavir therapy, *J Infect Dis* 181 [1], pp. 141-7.
- [163] Teixeira, L.; Valdez, H.; McCune, J. M.; Koup, R. A.; Badley, A. D.; Hellerstein, M. K.; Napolitano, L. A.; Douek, D. C.; Mbisa, G.; Deeks, S.; Harris, J. M.; Barbour, J. D.; Gross, B. H.; Francis, I. R.; Halvorsen, R.; Asaad, R. and Lederman, M. M. (2001): Poor CD4 T cell restoration after suppression of HIV-1 replication may reflect lower thymic function, *Aids* 15 [14], pp. 1749-56.
- [164] Roger, P. M.; Breitmayer, J. P.; Durant, J.; Sanderson, F.; Ceppi, C.; Brignone, C.; Cua, E.; Clevenbergh, P.; Fuzibet, J. G.; Pesce, A.; Bernard, A. and Dellamonica, P. (2002): Early CD4(+) T cell recovery in human immunodeficiency virus-infected patients receiving effective therapy is related to a down-regulation of apoptosis and not to proliferation, *J Infect Dis* 185 [4], pp. 463-70.
- [165] Pontesilli, O.; Kerkhof-Garde, S.; Pakker, N. G.; Notermans, D. W.; Roos, M. T.; Klein, M. R.; Danner, S. A. and Miedema, F. (1999): Antigen-specific T-lymphocyte proliferative responses during highly active antiretroviral therapy (HAART) of HIV-1 infection, *Immunol Lett* 66 [1-3], pp. 213-7.
- [166] Bart, P. A.; Rizzardi, G. P.; Tambussi, G.; Chave, J. P.; Chapuis, A. G.; Graziosi, C.; Corpataux, J. M.; Halkic, N.; Meuwly, J. Y.; Munoz, M.; Meylan, P.; Spreen, W.; McDade, H.; Yerly, S.; Perrin, L.; Lazzarin, A. and Pantaleo, G. (2000): Immunological and virological responses in HIV-1-infected adults at early stage of established infection treated with highly active antiretroviral therapy, *Aids* 14 [13], pp. 1887-97.
- [167] Hsieh, S. M.; Hung, C. C.; Pan, S. C.; Wang, J. T.; Tsai, H. C.; Chen, M. Y. and Chang, S. C. (2000): Restoration of cellular immunity against tuberculosis in patients coinfecting with HIV-1 and tuberculosis with effective antiretroviral therapy: assessment by determination of CD69 expression on T cells after tuberculin stimulation, *J Acquir Immune Defic Syndr* 25 [3], pp. 212-20.
- [168] Havlir, D. V.; Schrier, R. D.; Torriani, F. J.; Chervenak, K.; Hwang, J. Y. and Boom, W. H. (2000): Effect of potent antiretroviral therapy on immune responses to *Mycobacterium avium* in human immunodeficiency virus-infected subjects, *J Infect Dis* 182 [6], pp. 1658-63.
- [169] Wendland, T.; Furrer, H.; Vernazza, P. L.; Frutiger, K.; Christen, A.; Matter, L.; Malinverni, R. and Pichler, W. J. (1999): HAART in HIV-infected patients: restoration of antigen-specific CD4 T-cell responses in vitro is correlated with CD4 memory T-cell reconstitution, whereas improvement in delayed type hypersensitivity is related to a decrease in viraemia, *Aids* 13 [14], pp. 1857-62.
- [170] Fournier, S.; Rabian, C.; Alberti, C.; Carmagnat, M. V.; Garin, J. F.; Charron, D.; Derouin, F. and Molina, J. M. (2001): Immune recovery under highly active antiretroviral therapy is associated with restoration of lymphocyte proliferation and interferon-gamma production in the presence of *Toxoplasma gondii* antigens, *J Infect Dis* 183 [11], pp. 1586-91.

- [171] Angel, J. B.; Parato, K. G.; Kumar, A.; Kravcik, S.; Badley, A. D.; Fex, C.; Ashby, D.; Sun, E. and Cameron, D. W. (2001): Progressive human immunodeficiency virus-specific immune recovery with prolonged viral suppression, *J Infect Dis* 183 [4], pp. 546-54.
- [172] Weiss, L.; Ancuta, P.; Girard, P. M.; Bouhhal, H.; Roux, A.; Cavaillon, N. H. and Kazatchkine, M. D. (1999): Restoration of normal interleukin-2 production by CD4+ T cells of human immunodeficiency virus-infected patients after 9 months of highly active antiretroviral therapy, *J Infect Dis* 180 [4], pp. 1057-63.
- [173] Redfield, R. R.; Wright, D. C. and Tramont, E. C. (1986): The Walter Reed staging classification for HTLV-III/LAV infection, *N Engl J Med* 314 [2], pp. 131-2.
- [174] O'Brien, W. A.; Hartigan, P. M.; Martin, D.; Esinhart, J.; Hill, A.; Benoit, S.; Rubin, M.; Simberkoff, M. S. and Hamilton, J. D. (1996): Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+ lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS, *N Engl J Med* 334 [7], pp. 426-31.
- [175] Moss, A. R.; Bacchetti, P.; Osmond, D.; Krampf, W.; Chaisson, R. E.; Stites, D.; Wilber, J.; Allain, J. P. and Carlson, J. (1988): Seropositivity for HIV and the development of AIDS or AIDS related condition: three year follow up of the San Francisco General Hospital cohort, *Br Med J (Clin Res Ed)* 296 [6624], pp. 745-50.
- [176] Goedert, J. J.; Kessler, C. M.; Aledort, L. M.; Biggar, R. J.; Andes, W. A.; White, G. C., 2nd; Drummond, J. E.; Vaidya, K.; Mann, D. L.; Eyster, M. E. and et al. (1989): A prospective study of human immunodeficiency virus type 1 infection and the development of AIDS in subjects with hemophilia, *N Engl J Med* 321 [17], pp. 1141-8.
- [177] Polk, B. F.; Fox, R.; Brookmeyer, R.; Kanchanaraks, S.; Kaslow, R.; Visscher, B.; Rinaldo, C. and Phair, J. (1987): Predictors of the acquired immunodeficiency syndrome developing in a cohort of seropositive homosexual men, *N Engl J Med* 316 [2], pp. 61-6.
- [178] Fahey, J. L.; Taylor, J. M.; Detels, R.; Hofmann, B.; Melmed, R.; Nishanian, P. and Giorgi, J. V. (1990): The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type 1, *N Engl J Med* 322 [3], pp. 166-72.
- [179] Masur, H.; Ognibene, F. P.; Yarchoan, R.; Shelhamer, J. H.; Baird, B. F.; Travis, W.; Suffredini, A. F.; Deyton, L.; Kovacs, J. A.; Falloon, J. and et al. (1989): CD4 counts as predictors of opportunistic pneumonias in human immunodeficiency virus (HIV) infection, *Ann Intern Med* 111 [3], pp. 223-31.
- [180] Gebo, K. A.; Gallant, J. E.; Moore, R. D. and Keruly, J. C. (2003): CD4 Percentage vs Absolute CD4 for Predicting Risk of Opportunistic Illnesses, 10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Boston, USA. URL: <http://www.retroconference.org/2003/Abstract/Abstract.aspx?AbstractID=67>
- [181] Egger, M.; May, M.; Chene, G.; Phillips, A. N.; Ledergerber, B.; Dabis, F.; Costagliola, D.; D'Arminio Monforte, A.; de Wolf, F.; Reiss, P.; Lundgren, J. D.; Justice, A. C.; Staszewski, S.; Leport, C.; Hogg, R. S.; Sabin, C. A.; Gill, M. J.; Salzberger, B. and Sterne, J. A. (2002): Prognosis of HIV-1-infected patients starting highly active antiretroviral therapy: a collaborative analysis of prospective studies, *Lancet* 360 [9327], pp. 119-29.
- [182] Mellors, J. W.; Kingsley, L. A.; Rinaldo, C. R., Jr.; Todd, J. A.; Hoo, B. S.; Kokka, R. P. and Gupta, P. (1995): Quantitation of HIV-1 RNA in plasma predicts outcome after seroconversion, *Ann Intern Med* 122 [8], pp. 573-9.

- [183] Mellors, J. W.; Rinaldo, C. R., Jr.; Gupta, P.; White, R. M.; Todd, J. A. and Kingsley, L. A. (1996): Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma, *Science* 272 [5265], pp. 1167-70.
- [184] Sterling, T. R.; Vlahov, D.; Astemborski, J.; Hoover, D. R.; Margolick, J. B. and Quinn, T. C. (2001): Initial plasma HIV-1 RNA levels and progression to AIDS in women and men, *N Engl J Med* 344 [10], pp. 720-5.
- [185] Lyles, R. H.; Munoz, A.; Yamashita, T. E.; Bazmi, H.; Detels, R.; Rinaldo, C. R.; Margolick, J. B.; Phair, J. P. and Mellors, J. W. (2000): Natural history of human immunodeficiency virus type 1 viremia after seroconversion and proximal to AIDS in a large cohort of homosexual men. Multicenter AIDS Cohort Study, *J Infect Dis* 181 [3], pp. 872-80.
- [186] Sabin, C. A.; Devereux, H.; Phillips, A. N.; Hill, A.; Janossy, G.; Lee, C. A. and Loveday, C. (2000): Course of viral load throughout HIV-1 infection, *J Acquir Immune Defic Syndr* 23 [2], pp. 172-7.
- [187] Lyles, R. H.; Chu, C.; Mellors, J. W.; Margolick, J. B.; Detels, R.; Giorgi, J. V.; Al-Shboul, Q. and Phair, J. P. (1999): Prognostic value of plasma HIV RNA in the natural history of *Pneumocystis carinii* pneumonia, cytomegalovirus and *Mycobacterium avium* complex. Multicenter AIDS Cohort Study, *Aids* 13 [3], pp. 341-9.
- [188] Swindells, S.; Evans, S.; Zackin, R.; Goldman, M.; Haubrich, R.; Filler, S. G. and Balfour, H. H., Jr. (2002): Predictive value of HIV-1 viral load on risk for opportunistic infection, *J Acquir Immune Defic Syndr* 30 [2], pp. 154-8.
- [189] Deeks, S. G.; Barbour, J. D.; Martin, J. N.; Swanson, M. S. and Grant, R. M. (2000): Sustained CD4+ T cell response after virologic failure of protease inhibitor-based regimens in patients with human immunodeficiency virus infection, *J Infect Dis* 181 [3], pp. 946-53.
- [190] Kempf, D. J.; Rode, R. A.; Xu, Y.; Sun, E.; Heath-Chiozzi, M. E.; Valdes, J.; Japour, A. J.; Danner, S.; Boucher, C.; Molla, A. and Leonard, J. M. (1998): The duration of viral suppression during protease inhibitor therapy for HIV-1 infection is predicted by plasma HIV-1 RNA at the nadir, *Aids* 12 [5], pp. F9-14.
- [191] Lepri, A. C.; Miller, V.; Phillips, A. N.; Rabenau, H.; Sabin, C. A. and Staszewski, S. (2001): The virological response to highly active antiretroviral therapy over the first 24 weeks of therapy according to the pre-therapy viral load and the weeks 4-8 viral load, *Aids* 15 [1], pp. 47-54.
- [192] Molina, J. M.; Chene, G.; Ferchal, F.; Journot, V.; Pellegrin, I.; Sombardier, M. N.; Rancinan, C.; Cotte, L.; Madelaine, I.; Debord, T. and Decazes, J. M. (1999): The ALBI trial: a randomized controlled trial comparing stavudine plus didanosine with zidovudine plus lamivudine and a regimen alternating both combinations in previously untreated patients infected with human immunodeficiency virus, *J Infect Dis* 180 [2], pp. 351-8.
- [193] Kuritzkes, D. R.; Marschner, I.; Johnson, V. A.; Bassett, R.; Eron, J. J.; Fischl, M. A.; Murphy, R. L.; Fife, K.; Maenza, J.; Rosandich, M. E.; Bell, D.; Wood, K.; Sommadossi, J. P. and Pettinelli, C. (1999): Lamivudine in combination with zidovudine, stavudine, or didanosine in patients with HIV-1 infection. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. National Institute of Allergy and Infectious Disease AIDS Clinical Trials Group Protocol 306 Investigators, *Aids* 13 [6], pp. 685-94.

- [194] Squires, K. E.; Gulick, R.; Tebas, P.; Santana, J.; Mulanovich, V.; Clark, R.; Yangco, B.; Marlowe, S. I.; Wright, D.; Cohen, C.; Cooley, T.; Mauney, J.; Uffelman, K.; Schoellkopf, N.; Grosso, R. and Stevens, M. (2000): A comparison of stavudine plus lamivudine versus zidovudine plus lamivudine in combination with indinavir in antiretroviral naive individuals with HIV infection: selection of thymidine analog regimen therapy (START I), *Aids* 14 [11], pp. 1591-600.
- [195] Eron, J. J., Jr.; Murphy, R. L.; Peterson, D.; Pottage, J.; Parenti, D. M.; Jemsek, J.; Swindells, S.; Sepulveda, G.; Bellos, N.; Rashbaum, B. C.; Esinhart, J.; Schoellkopf, N.; Grosso, R. and Stevens, M. (2000): A comparison of stavudine, didanosine and indinavir with zidovudine, lamivudine and indinavir for the initial treatment of HIV-1 infected individuals: selection of thymidine analog regimen therapy (START II), *Aids* 14 [11], pp. 1601-10.
- [196] Johnson, S. C.; Benson, C. A.; Johnson, D. W. and Weinberg, A. (2001): Recurrences of cytomegalovirus retinitis in a human immunodeficiency virus-infected patient, despite potent antiretroviral therapy and apparent immune reconstitution, *Clin Infect Dis* 32 [5], pp. 815-9.
- [197] Lilleri, D.; Piccinini, G.; Baldanti, F.; Seminari, E.; Galloni, D. and Gerna, G. (2003): Multiple relapses of human cytomegalovirus retinitis during HAART in an AIDS patient with reconstitution of CD4+ T cell count in the absence of HCMV-specific CD4+ T cell response, *J Clin Virol* 26 [1], pp. 95-100.
- [198] Komanduri, K. V.; Feinberg, J.; Hutchins, R. K.; Frame, R. D.; Schmidt, D.; Viswanathan, M. N.; Lalezari, J. P. and McCune, J. M. (2000): Persistent Deficits in Cytomegalovirus (CMV)-Specific CD4+ T Cell Responses in HIV-1-Infected Subjects with Relapsing CMV Retinitis after Successful Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART), 7th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, San Francisco, USA. URL: <http://www.retroconference.org/2000/abstracts/581.htm>
- [199] Valentine, F.; Peiperl, L.; Chiliade, P.; McMeeking, A.; Paolino, A.M. and Gonzales, C. (2000): The Occurrence of Opportunistic Infections (OIs) at Relatively High CD4 Levels Is Associated with an Antigen-Specific Absence of Lymphocyte Proliferative Responses (LPR), 7th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, San Francisco, USA. URL: <http://www.retroconference.org/2000/abstracts/580.htm>
- [200] Bertschy, S.; Opravil, M.; Telenti, A.; Bernasconi, E.; Schiffer, V.; Vernazza, P.; Flepp, M.; Chave, J. P. and Furrer, H. (2002): Discontinuation of Maintenance Therapy against *Toxoplasma* Encephalitis may not be Safe despite Sustained Response to Antiretroviral Combination Therapy, 9th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Seattle, USA. URL: <http://www.retroconference.org/2002/Abstract/13289.htm>
- [201] von Baehr, V.; Mayer, W.; Liebenthal, C.; von Baehr, R.; Bieger, W. and Volk, H. D. (2001): Improving the in vitro antigen specific T cell proliferation assay: the use of interferon-alpha to elicit antigen specific stimulation and decrease bystander proliferation, *J Immunol Methods* 251 [1-2], pp. 63-71.
- [202] Rosenberg, E. S.; LaRosa, L.; Flynn, T.; Robbins, G. and Walker, B. D. (1999): Characterization of HIV-1-specific T-helper cells in acute and chronic infection, *Immunol Lett* 66 [1-3], pp. 89-93.
- [203] Nebe, Thomas (2000): Grundlagen der Durchflußzytometrie (Flowzytometrie), Thomas, Lothar, Labor und Diagnose Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik, 5. erw. Aufl. 2000. ed., pp. 1482-1486, TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main.

- [204] Janeway, Charles A.; Travers, Paul; Walport, Mark and Shlomchik, Mark (2003): *Werkzeuge des Immunologen*, Janeway, Charles A.; Travers, Paul; Walport, Mark and Shlomchik, Mark, Immunologie 5. Auflage pp. 680-683, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- [205] Roos, M. T.; Miedema, F.; Koot, M.; Tersmette, M.; Schaasberg, W. P.; Coutinho, R. A. and Schellekens, P. T. (1995): T cell function in vitro is an independent progression marker for AIDS in human immunodeficiency virus-infected asymptomatic subjects, *J Infect Dis* 171 [3], pp. 531-6.
- [206] Bansal, A. S.; Moran, A.; Potter, M.; Taylor, R.; Haeney, M. R. and Mandal, B. K. (1993): Lymphocyte transformation responses to phytohaemagglutinin and pokeweed mitogen in patients at differing stages of HIV infection: are they worth measuring?, *J Clin Pathol* 46 [9], pp. 846-8.
- [207] Hofmann, B.; Jakobsen, K. D.; Odum, N.; Dickmeiss, E.; Platz, P.; Ryder, L. P.; Pedersen, C.; Mathiesen, L.; Bygbjerg, I. B.; Faber, V. and et al. (1989): HIV-induced immunodeficiency. Relatively preserved phytohemagglutinin as opposed to decreased pokeweed mitogen responses may be due to possibly preserved responses via CD2/phytohemagglutinin pathway, *J Immunol* 142 [6], pp. 1874-80.
- [208] Hofmann, B.; Bygbjerg, I.; Dickmeiss, E.; Faber, V.; Frederiksen, B.; Gaub, J.; Gerstoft, J.; Jakobsen, B. K.; Jakobsen, K. D.; Lindhardt, B. O. and et al. (1989): Prognostic value of immunologic abnormalities and HIV antigenemia in asymptomatic HIV-infected individuals: proposal of immunologic staging, *Scand J Infect Dis* 21 [6], pp. 633-43.
- [209] Hofmann, B.; Lindhardt, B. O.; Gerstoft, J.; Petersen, C. S.; Platz, P.; Ryder, L. P.; Odum, N.; Dickmeiss, E.; Nielsen, P. B.; Ullman, S. and et al. (1987): Lymphocyte transformation response to pokeweed mitogen as a predictive marker for development of AIDS and AIDS related symptoms in homosexual men with HIV antibodies, *Br Med J (Clin Res Ed)* 295 [6593], pp. 293-6.
- [210] Gruters, R. A.; Terpstra, F. G.; Lange, J. M.; Roos, M. T.; Harkema, T.; Mulder, J. W.; De Wolf, F.; Schellekens, P. T. and Miedema, F. (1991): Differences in clinical course in zidovudine-treated asymptomatic HIV-infected men associated with T-cell function at intake, *Aids* 5 [1], pp. 43-7.
- [211] Bindels, P. J.; Krol, A.; Roos, M.; Veenstra, J.; van den Hoek, J. A.; Miedema, F. and Coutinho, R. A. (1995): The predictive value of T cell function in vitro and pre-AIDS zidovudine use for survival after AIDS diagnosis in a cohort of homosexual men in Amsterdam, *J Infect Dis* 172 [1], pp. 97-104.
- [212] Clerici, M.; Roilides, E.; Butler, K. M.; DePalma, L.; Venzon, D.; Shearer, G. M. and Pizzo, P. A. (1992): Changes in T-helper cell function in human immunodeficiency virus-infected children during didanosine therapy as a measure of antiretroviral activity, *Blood* 80 [9], pp. 2196-202.
- [213] Roilides, E.; Clerici, M.; DePalma, L.; Rubin, M.; Pizzo, P. A. and Shearer, G. M. (1991): Helper T-cell responses in children infected with human immunodeficiency virus type 1, *J Pediatr* 118 [5], pp. 724-30.
- [214] Blankson, J. N.; Gallant, J. E. and Siliciano, R. F. (2001): Proliferative responses to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) antigens in HIV-1-infected patients with immune reconstitution, *J Infect Dis* 183 [4], pp. 657-61.

- [215] Rizzardì, G. P.; Tambussi, G.; Bart, P. A.; Chapuis, A. G.; Lazzarin, A. and Pantaleo, G. (2000): Virological and immunological responses to HAART in asymptomatic therapy-naive HIV-1-infected subjects according to CD4 cell count, *Aids* 14 [15], pp. 2257-63.
- [216] Pontesilli, O.; Carlesimo, M.; Varani, A. R.; Ferrara, R.; Guerra, E. C.; Bernardi, M. L.; Ricci, G.; Mazzone, A. M.; D'Offizi, G. and Aiuti, F. (1995): HIV-specific lymphoproliferative responses in asymptomatic HIV-infected individuals, *Clin Exp Immunol* 100 [3], pp. 419-24.
- [217] Zhang, Y.; Huber, M.; Weissbrich, B.; Voss, G.; Langmann, P.; Klinker, H. and Jassoy, C. (2001): Characterization of HIV-specific proliferative T cell responses in HIV-infected persons, *AIDS Res Hum Retroviruses* 17 [7], pp. 623-9.
- [218] Valentine, F. T.; Paolino, A.; Saito, A. and Holzman, R. S. (1998): Lymphocyte-proliferative responses to HIV antigens as a potential measure of immunological reconstitution in HIV disease, *AIDS Res Hum Retroviruses* 14 Suppl 2, pp. S161-6.
- [219] Musey, L. K.; Krieger, J. N.; Hughes, J. P.; Schacker, T. W.; Corey, L. and McElrath, M. J. (1999): Early and persistent human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-specific T helper dysfunction in blood and lymph nodes following acute HIV-1 infection, *J Infect Dis* 180 [2], pp. 278-84.
- [220] Rosenberg, E. S. and Walker, B. D. (1998): HIV type 1-specific helper T cells: a critical host defense, *AIDS Res Hum Retroviruses* 14 Suppl 2, pp. S143-7.
- [221] Autran, B.; Carcelain, G.; Li, T. S.; Gorochoy, G.; Blanc, C.; Renaud, M.; Durali, M.; Mathez, D.; Calvez, V.; Leibowitch, J.; Katlama, C. and Debre, P. (1999): Restoration of the immune system with anti-retroviral therapy, *Immunol Lett* 66 [1-3], pp. 207-11.
- [222] Rosenberg, E. S.; Billingsley, J. M.; Caliendo, A. M.; Boswell, S. L.; Sax, P. E.; Kalams, S. A. and Walker, B. D. (1997): Vigorous HIV-1-specific CD4⁺ T cell responses associated with control of viremia, *Science* 278 [5342], pp. 1447-50.
- [223] Lori, F.; Jessen, H.; Lieberman, J.; Finzi, D.; Rosenberg, E.; Tinelli, C.; Walker, B.; Siliciano, R. F. and Lisziewicz, J. (1999): Treatment of human immunodeficiency virus infection with hydroxyurea, didanosine, and a protease inhibitor before seroconversion is associated with normalized immune parameters and limited viral reservoir, *J Infect Dis* 180 [6], pp. 1827-32.
- [224] Rosenberg, E. S.; Altfeld, M.; Poon, S. H.; Phillips, M. N.; Wilkes, B. M.; Eldridge, R. L.; Robbins, G. K.; D'Aquila, R. T.; Goulder, P. J. and Walker, B. D. (2000): Immune control of HIV-1 after early treatment of acute infection, *Nature* 407 [6803], pp. 523-6.
- [225] Gandhi, R. T. and Walker, B. D. (2002): Immunologic control of HIV-1, *Annu Rev Med* 53, pp. 149-72.
- [226] Kalams, S. A.; Buchbinder, S. P.; Rosenberg, E. S.; Billingsley, J. M.; Colbert, D. S.; Jones, N. G.; Shea, A. K.; Trocha, A. K. and Walker, B. D. (1999): Association between virus-specific cytotoxic T-lymphocyte and helper responses in human immunodeficiency virus type 1 infection, *J Virol* 73 [8], pp. 6715-20.
- [227] Altfeld, M. and Rosenberg, E. S. (2000): The role of CD4(+) T helper cells in the cytotoxic T lymphocyte response to HIV-1, *Curr Opin Immunol* 12 [4], pp. 375-80.
- [228] Kalams, S. A. and Walker, B. D. (1998): The critical need for CD4 help in maintaining effective cytotoxic T lymphocyte responses, *J Exp Med* 188 [12], pp. 2199-204.

- [229] Ogg, G. S.; Jin, X.; Bonhoeffer, S.; Dunbar, P. R.; Nowak, M. A.; Monard, S.; Segal, J. P.; Cao, Y.; Rowland-Jones, S. L.; Cerundolo, V.; Hurley, A.; Markowitz, M.; Ho, D. D.; Nixon, D. F. and McMichael, A. J. (1998): Quantitation of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and plasma load of viral RNA, *Science* 279 [5359], pp. 2103-6.
- [230] Zajac, A. J.; Blattman, J. N.; Murali-Krishna, K.; Sourdive, D. J.; Suresh, M.; Altman, J. D. and Ahmed, R. (1998): Viral immune evasion due to persistence of activated T cells without effector function, *J Exp Med* 188 [12], pp. 2205-13.
- [231] Matloubian, M.; Concepcion, R. J. and Ahmed, R. (1994): CD4+ T cells are required to sustain CD8+ cytotoxic T-cell responses during chronic viral infection, *J Virol* 68 [12], pp. 8056-63.
- [232] Walter, E. A.; Greenberg, P. D.; Gilbert, M. J.; Finch, R. J.; Watanabe, K. S.; Thomas, E. D. and Riddell, S. R. (1995): Reconstitution of cellular immunity against cytomegalovirus in recipients of allogeneic bone marrow by transfer of T-cell clones from the donor, *N Engl J Med* 333 [16], pp. 1038-44.
- [233] Shedlock, D. J. and Shen, H. (2003): Requirement for CD4 T cell help in generating functional CD8 T cell memory, *Science* 300 [5617], pp. 337-9.
- [234] Douek, D.; Brenchley, J.; Betts, M.; Ambrozak, D.; Hill, B.; Okamoto, Y.; Casazza, J.; Kuruppu, J.; Kunstman, K.; Dybul, M.; Oxenius, A.; Price, D.; Connors, M. and Koup, R. (2002): HIV Preferentially Infects HIV-Specific CD4 T Cells, 9th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Seattle, USA. URL: <http://www.retroconference.org/2002/Abstract/14095.htm>
- [235] Pitcher, C. J.; Quittner, C.; Peterson, D. M.; Connors, M.; Koup, R. A.; Maino, V. C. and Picker, L. J. (1999): HIV-1-specific CD4+ T cells are detectable in most individuals with active HIV-1 infection, but decline with prolonged viral suppression, *Nat Med* 5 [5], pp. 518-25.
- [236] McNeil, AC ; Shupert, WL ; Mican, JA and Connors, M (2000): HIV-specific CD4+ T Cells are maintained in untreated patients with or without proliferative responses to HIV antigens., 7th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, San Francisco, USA. URL: www.retroconference.org/2000/abstracts/186.htm
- [237] Wilson, J. D.; Imami, N.; Watkins, A.; Gill, J.; Hay, P.; Gazzard, B.; Westby, M. and Gotch, F. M. (2000): Loss of CD4+ T cell proliferative ability but not loss of human immunodeficiency virus type 1 specificity equates with progression to disease, *J Infect Dis* 182 [3], pp. 792-8.
- [238] Kunkl, A.; Mortara, L.; Valle, M. T.; Fenoglio, D.; Terranova, M. P.; Megiovanni, A. M.; Alessandrini, A.; Li Pira, G.; Mazzarello, G.; Del Bono, V.; Canessa, A.; Bassetti, D. and Manca, F. (1998): Recognition of antigenic clusters of *Candida albicans* by T lymphocytes from human immunodeficiency virus-infected persons, *J Infect Dis* 178 [2], pp. 488-96.
- [239] Cooney, E. L. (2002): Clinical indicators of immune restoration following highly active antiretroviral therapy, *Clin Infect Dis* 34 [2], pp. 224-33.
- [240] Furrer, H.; Opravil, M.; Bernasconi, E.; Telenti, A. and Egger, M. (2000): Stopping primary prophylaxis in HIV-1-infected patients at high risk of toxoplasma encephalitis. Swiss HIV Cohort Study, *Lancet* 355 [9222], pp. 2217-8.

- [241] Mussini, C.; Pezzotti, P.; Govoni, A.; Borghi, V.; Antinori, A.; d'Arminio Monforte, A.; De Luca, A.; Mongiardo, N.; Cerri, M. C.; Chiodo, F.; Concia, E.; Bonazzi, L.; Moroni, M.; Ortona, L.; Esposito, R.; Cossarizza, A. and De Rienzo, B. (2000): Discontinuation of primary prophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia and toxoplasmic encephalitis in human immunodeficiency virus type I-infected patients: the changes in opportunistic prophylaxis study, *J Infect Dis* 181 [5], pp. 1635-42.
- [242] Kirk, O.; Lundgren, J. D.; Pedersen, C.; Nielsen, H. and Gerstoft, J. (1999): Can chemoprophylaxis against opportunistic infections be discontinued after an increase in CD4 cells induced by highly active antiretroviral therapy?, *Aids* 13 [13], pp. 1647-51.
- [243] Derouin, F.; Rabian-Herzog, C. and Ballet, J. J. (1989): Impaired in vitro lymphocyte response to toxoplasma antigen in HIV1 infected patients, *J Clin Lab Immunol* 28 [4], pp. 179-82.
- [244] Miro, J.; Leujeune, M.; Claramonte, X.; Martinez, E.; Ribera, E.; Arrizabalaga, J.; Arribas, J. R.; Domingo, P.; Podzamczar, D.; Crespo, M.; Plana, M.; Valls, M. E.; Garcia, F.; Jacquet, A.; Gatell, J. M.; Sued, O.; Lazzari, E.; Blanco, J. L. and Gallart, T. (2003): Timing of reconstitution of *Toxoplasma gondii*-specific T-cell Responses in AIDS Patients with Acute Toxoplasmic Encephalitis After Starting HAART: A Prospective Multi-center Longitudinal Study, 10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Boston, USA. URL: <http://www.retroconference.org/2003/Abstract/Abstract.aspx?AbstractID=1911>
- [245] Miro, J.; Leujeune, M.; Claramonte, X.; Martinez, E.; Ribera, E.; Arrizabalaga, J.; Arribas, J. R.; Domingo, P.; Ferrer, E.; Plana, M.; Valls, M. E.; Podzamczar, D.; Pumarola, T.; Jacquet, A.; Mallolas, J.; Gallart, T. and Gatell, J. M. (2002): *Toxoplasma gondii*-Specific T-Cell Responses Are Restored in AIDS Patients who Discontinued *Toxoplasma* Encephalitis (TE) Secondary Prophylaxis (SP) after Immunological Reconstitution Due to Potent Antiretroviral Therapy (HAART), 9th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Seattle, USA. URL: <http://www.retroconference.org/2002/Abstract/13266.htm>
- [246] Casciotti, L.; Ely, K. H.; Williams, M. E. and Khan, I. A. (2002): CD8(+)-T-cell immunity against *Toxoplasma gondii* can be induced but not maintained in mice lacking conventional CD4(+) T cells, *Infect Immun* 70 [2], pp. 434-43.
- [247] Suzuki, Y. (2002): Host resistance in the brain against *Toxoplasma gondii*, *J Infect Dis* 185 Suppl 1, pp. S58-65.
- [248] Reusser, P.; Cathomas, G.; Attenhofer, R.; Tamm, M. and Thiel, G. (1999): Cytomegalovirus (CMV)-specific T cell immunity after renal transplantation mediates protection from CMV disease by limiting the systemic virus load, *J Infect Dis* 180 [2], pp. 247-53.
- [249] Reusser, P.; Attenhofer, R.; Hebart, H.; Helg, C.; Chapuis, B. and Einsele, H. (1997): Cytomegalovirus-specific T-cell immunity in recipients of autologous peripheral blood stem cell or bone marrow transplants, *Blood* 89 [10], pp. 3873-9.
- [250] Gamadia, L. E.; Remmerswaal, E. B.; Weel, J. F.; Bemelman, F.; van Lier, R. A. and Ten Berge, I. J. (2003): Primary immune responses to human CMV: a critical role for IFN-gamma-producing CD4+ T cells in protection against CMV disease, *Blood* 101 [7], pp. 2686-92.
- [251] Li, T. S.; Tubiana, R.; Fillet, A. M.; Autran, B. and Katlama, C. (1999): Negative result of cytomegalovirus blood culture with restoration of CD4+ T-cell reactivity to cytomegalovirus after HAART in an HIV-1-infected patient, *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 20 [5], pp. 514-5.

- [252] Torriani, F. J.; Freeman, W. R.; Macdonald, J. C.; Karavellas, M. P.; Durand, D. M.; Jeffrey, D. D.; Meylan, P. R. and Schrier, R. D. (2000): CMV retinitis recurs after stopping treatment in virological and immunological failures of potent antiretroviral therapy, *Aids* 14 [2], pp. 173-80.
- [253] Hsieh, S. M.; Pan, S. C.; Hung, C. C.; Tsai, H. C.; Chen, M. Y. and Chang, S. C. (2001): Association between cytomegalovirus-specific reactivity of T cell subsets and development of cytomegalovirus retinitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome, *J Infect Dis* 184 [11], pp. 1386-91.
- [254] Komanduri, K. V.; Viswanathan, M. N.; Wieder, E. D.; Schmidt, D. K.; Bredt, B. M.; Jacobson, M. A. and McCune, J. M. (1998): Restoration of cytomegalovirus-specific CD4+ T-lymphocyte responses after ganciclovir and highly active antiretroviral therapy in individuals infected with HIV-1, *Nat Med* 4 [8], pp. 953-6.
- [255] Jouan, M.; Saves, M.; Tubiana, R.; Carcelain, G.; Cassoux, N.; Aubron-Olivier, C.; Fillet, A. M.; Nciri, M.; Senechal, B.; Chene, G.; Tural, C.; Lasry, S.; Autran, B. and Katlama, C. (2001): Discontinuation of maintenance therapy for cytomegalovirus retinitis in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy, *Aids* 15 [1], pp. 23-31.
- [256] Jacobson, M. A.; Schrier, R.; McCune, J. M.; Torriani, F. J.; Holland, G. N.; O'Donnell, J. J.; Freeman, W. R. and Bredt, B. M. (2001): Cytomegalovirus (CMV)-specific CD4+ T lymphocyte immune function in long-term survivors of AIDS-related CMV end-organ disease who are receiving potent antiretroviral therapy, *J Infect Dis* 183 [9], pp. 1399-404.
- [257] Tanaka, M.; Yasuoka, C.; Genka, I.; Tachikawa, N.; Kikuchi, Y.; Teruya, K.; Yasuoka, A.; Hirabayashi, Y.; Kimura, S. and Oka, S. (2001): Sustained cytomegalovirus-specific CD4+ T cell response associated with prevention of recurrence of cytomegalovirus retinitis without secondary prophylaxis after highly active antiretroviral therapy in patients with AIDS, *AIDS Res Hum Retroviruses* 17 [18], pp. 1749-56.
- [258] Schrier, R. D.; Freeman, W. R.; Wiley, C. A. and McCutchan, J. A. (1995): Immune predispositions for cytomegalovirus retinitis in AIDS. The HNRC Group, *J Clin Invest* 95 [4], pp. 1741-6.
- [259] Krause, H.; Hebart, H.; Jahn, G.; Muller, C. A. and Einsele, H. (1997): Screening for CMV-specific T cell proliferation to identify patients at risk of developing late onset CMV disease, *Bone Marrow Transplant* 19 [11], pp. 1111-6.
- [260] Weinberg, A.; Wohl, D. A.; Barrett, R. J. and van der Horst, C. (2001): Inconsistent reconstitution of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity in human immunodeficiency virus-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy, *J Infect Dis* 184 [6], pp. 707-12.
- [261] Ellner, J. J. (1997): Review: the immune response in human tuberculosis--implications for tuberculosis control, *J Infect Dis* 176 [5], pp. 1351-9.
- [262] Cooper, A. M. and Flynn, J. L. (1995): The protective immune response to *Mycobacterium tuberculosis*, *Curr Opin Immunol* 7 [4], pp. 512-6.
- [263] Havlir, D. V. and Barnes, P. F. (1999): Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection, *N Engl J Med* 340 [5], pp. 367-73.
- [264] Andersen, P. (1997): Host responses and antigens involved in protective immunity to *Mycobacterium tuberculosis*, *Scand J Immunol* 45 [2], pp. 115-31.

- [265] Schluger, N. W. and Rom, W. N. (1998): The host immune response to tuberculosis, *Am J Respir Crit Care Med* 157 [3 Pt 1], pp. 679-91.
- [266] Pathan, A. A.; Wilkinson, K. A.; Klenerman, P.; McShane, H.; Davidson, R. N.; Pasvol, G.; Hill, A. V. and Lalvani, A. (2001): Direct ex vivo analysis of antigen-specific IFN-gamma-secreting CD4 T cells in Mycobacterium tuberculosis-infected individuals: associations with clinical disease state and effect of treatment, *J Immunol* 167 [9], pp. 5217-25.
- [267] Hengel, R. L.; Allende, M. C.; Dewar, R. L.; Metcalf, J. A.; Mican, J. M. and Lane, H. C. (2002): Increasing CD4+ T cells specific for tuberculosis correlate with improved clinical immunity after highly active antiretroviral therapy, *AIDS Res Hum Retroviruses* 18 [13], pp. 969-75.
- [268] Shen, Y.; Shen, L.; Sehgal, P.; Zhou, D.; Simon, M.; Miller, M.; Enimi, E. A.; Henckler, B.; Chalifoux, L.; Sehgal, N.; Gastron, M.; Letvin, N. L. and Chen, Z. W. (2001): Antiretroviral agents restore Mycobacterium-specific T-cell immune responses and facilitate controlling a fatal tuberculosis-like disease in Macaques coinfecting with simian immunodeficiency virus and Mycobacterium bovis BCG, *J Virol* 75 [18], pp. 8690-6.
- [269] Fidel, P. L., Jr. (2002): Immunity to Candida, *Oral Dis* 8 Suppl 2, pp. 69-75.
- [270] Romani, L. (1999): Immunity to Candida albicans: Th1, Th2 cells and beyond, *Curr Opin Microbiol* 2 [4], pp. 363-7.
- [271] Leigh, J. E.; Barousse, M.; Swoboda, R. K.; Myers, T.; Hager, S.; Wolf, N. A.; Cutright, J. L.; Thompson, J.; Sobel, J. D. and Fidel, P. L., Jr. (2001): Candida-specific systemic cell-mediated immune reactivities in human immunodeficiency virus-positive persons with mucosal candidiasis, *J Infect Dis* 183 [2], pp. 277-285.
- [272] Shearer, G. M. and Clerici, M. (1991): Early T-helper cell defects in HIV infection, *Aids* 5 [3], pp. 245-53.
- [273] Shearer, G. M. and Clerici, M. (1994): In vitro analysis of cell-mediated immunity: clinical relevance, *Clin Chem* 40 [11 Pt 2], pp. 2162-5.
- [274] Dolan, M. J.; Clerici, M.; Blatt, S. P.; Hendrix, C. W.; Melcher, G. P.; Boswell, R. N.; Freeman, T. M.; Ward, W.; Hensley, R. and Shearer, G. M. (1995): In vitro T cell function, delayed-type hypersensitivity skin testing, and CD4+ T cell subset phenotyping independently predict survival time in patients infected with human immunodeficiency virus, *J Infect Dis* 172 [1], pp. 79-87.
- [275] Tortajada, C.; Garcia, F.; Plana, M.; Gallart, T.; Maleno, M. J.; Miro, J. M. and Gatell, J. M. (2000): Comparison of T-cell subsets' reconstitution after 12 months of highly active antiretroviral therapy initiated during early versus advanced states of HIV disease, *J Acquir Immune Defic Syndr* 25 [4], pp. 296-305.
- [276] Lu, W. and Andrieu, J. M. (2000): HIV protease inhibitors restore impaired T-cell proliferative response in vivo and in vitro: a viral-suppression-independent mechanism, *Blood* 96 [1], pp. 250-8.
- [277] Phenix, B. N.; Angel, J. B.; Mandy, F.; Kravcik, S.; Parato, K.; Chambers, K. A.; Gallicano, K.; Hawley-Foss, N.; Cassol, S.; Cameron, D. W. and Badley, A. D. (2000): Decreased HIV-associated T cell apoptosis by HIV protease inhibitors, *AIDS Res Hum Retroviruses* 16 [6], pp. 559-67.

- [278] Barreiro, P.; Soriano, V.; Casas, E. and Gonzalez-Lahoz, J. (2002): Different degree of immune recovery using antiretroviral regimens with protease inhibitors or non-nucleosides, *Aids* 16 [2], pp. 245-9.
- [279] Pakker, N. G.; Roos, M. T.; van Leeuwen, R.; de Jong, M. D.; Koot, M.; Reiss, P.; Lange, J. M.; Miedema, F.; Danner, S. A. and Schellekens, P. T. (1997): Patterns of T-cell repopulation, virus load reduction, and restoration of T-cell function in HIV-infected persons during therapy with different antiretroviral agents, *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 16 [5], pp. 318-26.

6.3 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Tobias Glaunsinger
Anschrift: Czarnikauer Str. 8
10439 Berlin
Geburtsdatum: 27.09.1972
Geburtsort: Berlin
Familienstand: ledig

Schulbildung

09/1979 – 08/1989 Polytechnische Oberschule, Berlin-Prenzlauer Berg
09/1989 – 08/1991 Erweiterte Oberschule (Abitur), Berlin-Prenzlauer Berg

Studium & Approbation

10/1991 – 10/1998 Studium der Humanmedizin an der Humboldt-Universität zu Berlin
20.10.1998 3. Staatsexamen und Abschluss des Studiums
01.06.2000 Approbation als Arzt

Berufstätigkeit

12/1998 – 05/2000 Arzt im Praktikum
in der Schwerpunktpraxis für HIV/AIDS, Hämatologie und
Onkologie: Dr. med. Gerd Bauer & Dr. med. Frank Strohbach,
Ärzte für Innere Medizin/Hämato-Onkologie
06/2000 – 12/2000 Assistenzarzt
in der Schwerpunktpraxis für HIV/AIDS, Hämatologie und
Onkologie: Dr. med. Christoph Mayr, Arzt für Innere Medizin/
& Dr. med. Frank Strohbach, Arzt für Innere Medizin/Hämato-
Onkologie
01/2001 – 12/2001 Assistenzarzt
im Vivantes-Klinikum Prenzlauer Berg,
II. Innere Abteilung/Infektiologie,
Chefärztin: Prof. Dr. med. Renate Baumgarten
06/2002 – 11/2002 Assistenzarzt
im Vivantes-Klinikum im Friedrichshain,
Klinik für Gefäßchirurgie, Klinik für Allgemein- und
Visceralchirurgie, Chirurgische Rettungsstelle
01/2003 – 10/2003 Assistenzarzt
in der Praxis für Allgemeinmedizin und HIV-Schwerpunktpraxis
Dr. med. Heiko Jessen, Motzstraße 19, 10777 Berlin
seit 11/2003 Assistenzarzt
im Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Klinik und Poliklinik
für Innere Medizin, Infektionsambulanz
Chefarzt: Prof. Dr. med. Heiner Greten

6.4 Danksagung

Ganz herzlich möchte ich mich bei meinen Betreuern, Herrn Prof. Dr. Rüdiger von Baehr und Herrn Prof. Dr. Hans-Dieter Volk bedanken.

Besonders Herrn Professor von Baehr gilt mein tief empfundener Dank für die immer freundliche, verbindliche und stets hilfsbereite Betreuung während der gesamten Entstehungszeit dieser Arbeit. Seine äußerst menschliche, verständnisvolle Art, sein exzellentes Fachwissen sowie seine jahrzehntelange Erfahrung in der Anleitung von Doktoranden haben dazu beigetragen, so einige fachliche und persönliche Probleme während des Gesamtprozesses der Dissertation erfolgreich zu überwinden.

Herrn Professor Volk danke ich für die unkomplizierte und äußerst hilfreiche Unterstützung sowie für die freundliche Hilfe bezüglich der Formalitäten des Promotionsverfahrens.

Frau Dr. Bettina Hintsche und Herrn Dr. Christoph Mayr danke ich für ihre Unterstützung bei der Patientenaufklärung, bei der Initiierung der Laboruntersuchungen sowie bei der Bereitstellung von Patientendaten.

Herrn Dr. Volker von Baehr und Frau Nieveling gilt mein Dank für die Unterstützung bei der Zusammentragung der Befunde.

Meinem Vater, Peter Glaunsinger, danke ich für das schnelle und gründliche Aufspüren von „Tipp-“ und Satzfehlern im Manuskript.

Schließlich gilt mein besonderer Dank meinem Freund Mark, der mich mit zahlreichen grafisch-gestalterischen Hinweisen, durch eifriges Umschiffen von Klippen der „neuen“ Rechtschreibung, besonders aber durch viel Verständnis und geduldiges Begleiten des Entstehungsprozesses dieser Arbeit unterstützt hat.

6.5 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, dass ich diese Arbeit selbst und ohne unzulässige Hilfe Dritter verfasst habe. Alle verwendeten Hilfsmittel sowie die Literatur sind vollständig angegeben. Diese Arbeit ist auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten.

Berlin, Januar 2004

Tobias Glaunsinger