

Aus der Medizinischen Poliklinik Innenstadt der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Kommissarischer Vorstand: Prof. Dr. med. M. Reincke

**In vivo-Analyse der hepatischen mitochondrialen
Funktion HIV-infizierter Patienten durch den ^{13}C -
Methionin-Atemtest**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Antje Charlotte Lorenz, geb. Klose

aus

München

2009

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Frank-Detlef Goebel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Josef Eberle

Prof. Dr. Petro E. Petrides

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dr. med. Thomas Sternfeld

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR,
FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 05.02.2009

Glossar

a	Beschleunigung
ABC	Abacavir
ADP	Adenosindiphosphat
AF	Atemfrequenz
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
AP	Alkalische Phosphatase
APE	Atome Percent Excess
ART	Antiretrovirale Therapie
Art. HT	Arterielle Hypertonie
Atom%	Atomprozent
ATP	Adenosintriphosphat
AZT	Zidovudin = Azidothymidin
B	Magnetfeldstärke
BMI	Body-Mass-Index, Körpermassenindex
^{13}C , ^{12}C	Kohlenstoff mit der Masse 13 bzw. 12
C_{gesamt}	Pro Minute abgeatmete Gesamt-Kohlenstoff-Menge
$^{13}\text{C}_{\text{kum}}$	Kumulativer Wert an abgeatmeter ^{13}C -Menge
$^{13}\text{C}_{\text{kum}\%}$	Kumulativer prozentualer Anteil $^{13}\text{C}/\text{TD}$
$^{13}\text{C}_{\text{min}}$	Pro Minute abgeatmete Menge an ^{13}C
$^{13}\text{C}_{\text{min}\%}$	Prozentualer Anteil abgeatmetes $^{13}\text{C}/\text{TD}$ zu jedem Messzeitpunkt
CD	Cluster of Differentiation
CDC	Center of Disease Control
CH_3	Methyl-Gruppe
chron. NI	Chronische Niereninsuffizienz
CO_2	Kohlenstoffdioxid
COX	Cyclooxygenase
cp/ml	Virusgenomkopien pro Milliliter
CRABP I	Cellular Retinoic Acid-binding Protein I
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
CYP	Cytochrom P

δ	Delta, del-Wert (Anreicherung des gesuchten Gas in der Ausatemluft)
ddC	Zalcitabin
ddI	Didanosin
DEXA-Scan	Dual-Energy-X-ray Absortiomtry-Scan Absorbtiometry
DM II	Diabetes mellitus Typ II
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOB, DOB _{max}	(Maximaler) Delta-over-baseline-Wert
d4T	Stavudin
e	Elementarladung eines Elektrons
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetra-Acetat
EMG	Elektromyogramm
F	Kraft
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorter
FTC	Emtricitabin
G	Körpergröße
GGT (γ GT)	Gamma-Glutamyltransferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HAART	Highly Active Antiretroviral Therapy
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCV	Hepatitis-C-Virus
HDL	High-Density Lipoprotein
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HI-VL	Viruslast des HIV
HLÄ	Hyperlipidämie
H ₂ O	Wasser
HypoTH	Hypothyreose
IRMS	Isotope Ratio Mass Spectrometry
i.v.	intravenös
KG	Körpergewicht
KOF	Körperoberfläche
kum120	Kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten
LAV	Lymphadenopathievirus

LDL	Low-Density Lipoprotein
LPS	Leberparenchymschaden
m	Masse
M	Methionindosis in mg
μ	Mittelwert
MAT	S-Adenosylmethionin-Transferase = Methioninadenosyltransferase
MCV	Mean Cellular Volume = mittleres Erythrozytenvolumen
mtDNA	Mitochondriale DNA
MW	Molekulargewicht
N	Eingesetzte Methioninmenge in mmol
$\text{NAD}^+/\text{NADH}+\text{H}^+$	Nikotin-Adenin-Dinucleotid
NH_3	Ammoniak
NNRTI	Nicht-Nukleosidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitor
NRTI	Nukleosidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitor
$^{17}\text{O}, ^{18}\text{O}$	Sauerstoffisotop mit der Masse 17 bzw. 18
p	Signifikanz
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDB	Pee-Dee-Belemnite
PI	Proteaseinhibitor
PK	Perason'scher Korrelationskoeffizient
PNP	Polyneuropathie
PPAR α bzw. γ	Peroxisome Proliferator-activated Receptor α bzw. γ
PTPC	Permeability Transition Pore Complex
r	Radius
R^2	Bestimmtheitsmaß
r_p, r_r	Isotopenverhältnis (Ratio) im Proben- bzw. Referenzgas
RNA	Ribonukleinsäure
RR syst. (diast.)	Systolischer (diastolischer) Blutdruck
RT	Reverse Transkriptase
RXR	Retinoid X Receptor
σ	Standardabweichung
SH	Sulfhydryl-Gruppe

SIV	Simian Immunodeficiency Virus
SREBP 1	Sterol Regulatory Enhancer-binding Protein 1
Tab.	Tabelle
T20	Enfuvirtid
3TC	Lamivudin
TD	Eingesetzte Tracerdosis
TDF	Tenofovir
TPZ	Thromboplastinzeit = Quick-Wert
T_{real}	Real als Tracer wirksamer ^{13}C -Anteil der Tracerdosis
TSH	Thyreoidea-stimulierendes Hormon
U	Beschleunigungsspannung
v	Geschwindigkeit
VLDL	Very-Low-Density Lipoprotein
VTH	Vortherapie
$\text{Zeit}_{\text{DOBmax}}$	Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max}

Inhalt

1	Einleitung	12
1.1	Die Geschichte der HIV-Infektion	12
1.2	Zielsetzung der Arbeit	14
2	HIV-Therapie	15
2.1	Therapieprinzipien der HIV-Infektion.....	15
2.1.1	Substanzklassen und Wirkungsweisen	15
2.1.1.1	Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Hemmer	15
2.1.1.2	Nicht-nukleosidische Reverse-Transkriptase-Hemmer	16
2.1.1.3	Protease-Inhibitoren.....	17
2.1.1.4	Entry-Inhibitoren	17
2.2	Nebenwirkungen der nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren und ihre biochemischen Grundlagen	18
2.2.1	Mitochondriale Funktion	18
2.2.2	Mitochondriale Funktionsstörungen unter HIV und ART	19
2.2.2.1	Die Polymerase- γ Hypothese.....	20
2.2.2.2	Andere Hypothesen zur mitochondrialen Toxizität.....	22
2.2.3	Klinische Erscheinungsformen.....	23
2.2.3.1	Hyperlaktämie und Laktatazidose	23
2.2.3.2	Lipodystrophie-Syndrom.....	24
2.2.3.2.1	Ursachen und molekulare Mechanismen.....	25
2.2.3.2.2	Lipoatrophie.....	26
2.2.3.2.3	Lipoakkumulation.....	27
2.2.3.2.4	Begleitende metabolische Störungen.....	27
2.2.3.2.5	Mögliche Therapieoptionen.....	28
2.2.3.3	Polyneuropathie	28

2.2.3.3.1	HIV-bedingte Polyneuropathie.....	28
2.2.3.3.2	NRTI-assoziierte Polyneuropathie	29
2.2.3.3.3	Therapiemöglichkeiten	30
2.2.3.4	Myopathie.....	31
2.2.3.5	Hämatologische Veränderungen.....	32
2.2.3.5.1	Pathogenese	32
2.2.3.5.2	Therapie	33
2.2.3.6	Pankreatitis	33
3	Material und Methoden	35
3.1	Studiendesign.....	35
3.1.1	Reproduzierbarkeit der Atemtests	36
3.2	Versuchsaufbau	37
3.2.1	Der ¹³ C-Methionin-Atemtest	38
3.2.1.1	Methionin-Stoffwechsel	38
3.2.1.2	Materialien.....	40
3.2.1.2.1	¹³ C-Methionin.....	40
3.2.1.2.2	Sammelsystem für Atemproben	41
3.2.1.3	Ablauf des Tests	41
3.2.2	Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (Isotope Ratio Mass Spectrometry, IRMS)	42
3.2.2.1	Technische Daten und Funktion	43
3.2.2.2	Ergebnisberechnung	45
3.3	Statistik	47
4	Ergebnisse.....	49
4.1	Studienpopulation.....	49
4.1.1	Gruppenzusammensetzung.....	49

4.1.2	Polyneuropathie	50
4.1.3	Lipodystrophie.....	51
4.1.4	Sonographische Untersuchung der Leber.....	51
4.1.5	Hepatitis-Co-Infektion.....	51
4.1.6	Serumlaktat.....	52
4.2	Test auf Normalverteilung.....	52
4.3	Vergleich der Atemtestergebnisse zu jedem Messzeitpunkt	52
4.4	Maximale DOB-Werte, Zeit bis zum Erreichen von DOB _{max} und kumulative Wiederfindungsrate nach 120 min.....	53
4.5	Verschiedene antiretrovirale Kombinationen im Vergleich.....	54
4.6	Atemtest vor und nach Therapieeinstellung	54
4.7	Einfluss von nichtnukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren und Proteaseinhibitoren auf den Atemtest.....	55
4.8	Atemtest bei Lipodystrophie	55
4.9	Atemtest bei Polyneuropathie.....	55
4.10	Atemtestergebnisse und Serumlaktatspiegel	56
4.11	Einfluss einer Hepatitis-Co-Infektion auf den Atemtest	56
4.12	Zusammenhang laborchemischer und klinischer Variablen mit den Ergebnissen des Atemtests.....	57
4.12.1	Korrelation mit dem Alter	57
4.12.2	Sonographischer Befund der Leber	57
4.12.3	Korrelation mit der Höhe der Transaminasen	58
4.12.4	Korrelation mit dem Körpermassenindex.....	58
4.12.5	Korrelation mit den Serumlipidwerten	58
4.12.6	Korrelation mit dem mittleren Erythrozytenvolumen	59
4.12.7	Multivariate Regressionsanalyse	60
5	Diskussion	62

5.1	Vergleich der Atemtestergebnisse zwischen den Studiengruppen	62
5.1.1	Einfluss von antiretroviraler Therapie und Nebenwirkungen der HAART	62
5.1.2	Hat die HIV-Infektion einen messbaren Einfluss auf die hepatische mitochondriale Funktion?	66
5.2	Verschiedene antiretrovirale Kombinationen im Vergleich	67
5.3	Atemtest vor und nach Beginn einer antiretroviralen Therapie	70
5.4	Einfluss von Proteaseinhibitoren und nicht-nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren auf das Ergebnis des Methionin-Atemtests	71
5.5	Atemtest bei Lipodystrophie	72
5.6	Atemtest bei Polyneuropathie	73
5.7	Atemtestergebnisse und Serumlaktatspiegel	74
5.8	Einfluss einer Hepatitis-Co-Infektion auf den Atemtest	76
5.9	Zusammenhang laborchemischer und klinischer Variablen mit den Ergebnissen des Atemtests	78
5.9.1	Korrelation mit dem Alter	78
5.9.2	Sonographischer Befund der Leber	79
5.9.3	Korrelation mit der Höhe der Transaminasen	80
5.9.4	Korrelation mit dem Körpermassenindex	81
5.9.5	Korrelation mit den Serumlipidwerten	82
5.9.6	Korrelation mit dem mittleren Erythrozytenvolumen	84
5.10	Wertung des ¹³ C-Methionin-Atemtests	85
6	Zusammenfassung	88
	Literaturverzeichnis	91
	Anhang	108
A	Tabellen	108
B	Liste der untersuchten Laborparameter	117
C	Sportfragebogen	118

Danksagung	119
Lebenslauf	120

1 Einleitung

24 Jahre nach der Isolierung des AIDS-Erregers am Institut Pasteur in Paris hat HIV durch den unglaublichen Fortschritt in den Behandlungsmöglichkeiten in den westlichen Industrienationen viel von seinem Schrecken verloren. Dennoch sind HIV und AIDS angesichts der hohen Prävalenzraten in Ländern Afrikas, Südamerikas, Osteuropas und Asiens sowie neuerdings wieder steigender Neuinfektionsraten in Deutschland nicht minder aktuell (Seedat et al., epidemiologisches Bulletin 2007).

Des Weiteren schaffen bessere Behandlungsmöglichkeiten neue, bis vor kurzem unbekannte Probleme hinsichtlich Nebenwirkungen, und leider eine geringere Akzeptanz von Prävention in der Bevölkerung.

Darum sind auch zukünftig Bemühungen um Aufklärung und Prävention, Forschung und Schaffung von Zugangsmöglichkeiten zu effektiver Behandlung für mehr Menschen unabdingbare Voraussetzungen dafür, dass die wissenschaftliche Erfolgsgeschichte HIV auch zu einem humanitären Erfolg werden kann.

1.1 Die Geschichte der HIV-Infektion

HIV entstand vermutlich durch eine Übertragung des Simian Immunodeficiency Virus (SIV) vom Affen auf den Menschen (Kanki et al., 1986).

Anfang der 80er Jahre des vergangenen Jahrhunderts wurde in den USA erstmalig über eine Häufung sonst selten beobachteter Erkrankungen bei jungen, bis dato gesunden homosexuellen Männern berichtet (CDC 1982a; 1982b). Sehr schnell wurde als Ursache eine erworbene Immunschwäche definiert, die den Namen Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) erhielt. Darunter wurden seltene, lebensbedrohliche Infektionen durch Erreger, die beim Gesunden keine Symptome hervorrufen, zusammengefasst. Bald zeigten sich auch Fälle bei i.v.-Drogenabhängigen (CDC 1982f) und Patienten, die wiederholt Fremdblutprodukte (CDC 1982c; CDC 1982d) erhalten hatten, was den Verdacht nahe legte, die Immunschwäche würde von einem durch Blut- und Sexualkontakte übertragbaren infektiösen Agens ausgelöst.

1983 gelang einer Forschungsgruppe am Institut Pasteur in Paris die Isolation des Erregers, der damals als Lymphadenopathievirus (LAV) bezeichnet wurde. Kurz darauf ließ sich der Zusammenhang zwischen LAV (HIV) und AIDS nachweisen. AIDS war damit als Infektionskrankheit identifiziert (Barré-Sinoussi et al., 1983).

Nach der Einführung der ersten HIV-Tests zeigte sich, dass viele Menschen Virus-Antikörper, jedoch keinerlei Symptome haben (Pitchenik et al., 1983). Die Entdeckung, dass zwischen Infektion und Ausbruch der Erkrankung Jahre liegen können, in denen ein Krankheitsträger die Erkrankung nichtsahnend weitergibt, führte zu überhöhten Infektionsratenhochrechnungen – man rechnete mit einer jährlichen Verdoppelung der Anzahl der AIDS-Fälle, die es faktisch in Deutschland nur bis 1987 gab (Kamps, 2005). Die apokalyptische Stimmungslage wurde noch dadurch verstärkt, dass HIV zunehmend auch bei Personen gefunden wurde, die nicht aus den klassischen Risikogruppen (männliche Homosexuelle, i.v.-Drogenabhängige und Empfänger von Blutprodukten) stammten (CDC 1982e; Cowan et al., 1984; Piot et al., 1984). Man erkannte, dass die Übertragungsraten bei heterosexuellem Geschlechtsverkehr deutlich höher sind als bis dato angenommen.

1987 wurde der nukleosidische Reverse-Transkriptase-Hemmer Azidothymidin (Zidovudin) als erstes HIV-Medikament eingesetzt. Die anfängliche Euphorie (Fischl et al., 1990; Volberding et al., 1990), endlich eine antiretrovirale Therapie (ART) gefunden zu haben, dämpfte sich allerdings bald angesichts mangelnden Behandlungserfolges der Monotherapie. Die Therapieresultate wurden auch durch die Einführung von Zalcitabin, Didanosin und Stavudin oder durch Zweifachkombination nicht oder nur vorübergehend verbessert (Hamilton et al., 1992; Volberding et al., 1995; Delta Coordinating Committee, 1996).

Eine Kombinationstherapie mit verschiedenen Substanzklassen wurde schon früh als erfolgversprechende Strategie diskutiert (Ho, 1995). Den Durchbruch erbrachte die Einführung der Protease-Inhibitoren ab 1995 (Ho et al., 1995; Cameron et al., 1998) und der nicht-nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Hemmer ab 1996, welche die „Highly-Active Antiretroviral Therapy“ (Hochaktive, antiretrovirale Therapie, HAART als dreifach-Kombinationstherapie aus meist zwei NRTI und einem PI oder NNRTI) möglich machten (Kamps, 2005).

In der Freude darüber, endlich eine auch längerfristig wirksame HIV-Therapie gefunden zu haben, spielten Themen wie unerwünschte Wirkungen der neuen Medikamente, Anzahl der täglich einzunehmenden Therapeutika und Complianceprobleme anfangs eine untergeordnete Rolle.

Da HIV jedoch, anders als zu Beginn der „HAART-Ära“ vermutet, auch nach langjähriger Behandlung weiter latent in Zellen vorhanden ist, muss man die HIV-Therapie heute als lebenslange Behandlung einer chronischen Erkrankung betrachten. Patientenmotivation,

Therapievereinfachung (z.B. durch Verminderung der Tablettenzahl), Behandlung und vor allem Prophylaxe von Nebenwirkungen stehen heute im Mittelpunkt.

1.2 Zielsetzung der Arbeit

Vielen Nebenwirkungen der antiretroviralen Therapie liegt einer heute allgemein anerkannten Hypothese nach eine mitochondriale Funktionsstörung zugrunde (Chen et al., 1991; Chen und Cheng, 1992; Brinkmann et al., 1999). Leider gibt es bisher noch keinen für die klinische Routine tauglichen Test zur Funktionsprüfung von Mitochondrien. Ein solcher Test sollte neben einer möglichst hohen Sensitivität und Spezifität auch einfach durchzuführen und für den Patienten möglichst risikoarm sein.

Der ^{13}C -Methionin-Atemtest könnte sich als geeignete Methode erweisen, da mit ihm über den mitochondrialen Methionin-Stoffwechsel nicht-invasiv die Funktion der hepatischen Mitochondrien überprüft wird. Zudem wird als Tracer-Substanz eine nicht-radiokativ-markierte essentielle Aminosäure eingesetzt, durch deren Aufnahme für die Probanden keine gesundheitliche Beeinträchtigung zu erwarten ist.

Ziel dieser Arbeit ist es, zu überprüfen, ob der ^{13}C -Methionin-Atemtest geeignet ist, mitochondriale Funktionsstörungen, hervorgerufen durch NRTI, zu diagnostizieren und zu überwachen, noch ehe klinisch sichtbare Nebenwirkungen auftreten, um gegebenenfalls frühzeitig therapeutisch intervenieren zu können.

Ermutigende Studien mit dem Atemtest bei HIV-Patienten an kleinen Kollektiven mit ausgewählten Probanden liegen bereits vor (Banasch et al., 2005; Milazzo et al., 2005). Ob der Atemtest im Falle eines hinsichtlich Begleiterkrankungen und -medikationen geringer selektierten Kollektivs, das der typischen Klientel einer infektiologischen Ambulanz entspricht, ein geeignetes Diagnostikum darstellt, soll in der vorliegenden Arbeit untersucht werden. Zudem sollen die Einflüsse verschiedener klinischer und laborchemischer Variablen auf den ^{13}C -Methionin-Atemtest untersucht werden, um die Testergebnisse besser interpretieren und einordnen zu können.

2 HIV-Therapie

2.1 Therapieprinzipien der HIV-Infektion

Grundsätzlich wird zur möglichst vollständigen Suppression der Virusneubildung heutzutage immer mit einer Mehrfachkombination von meist drei Medikamenten aus mindestens zwei unterschiedlichen Gruppen behandelt (Yeni, 2006). Diese „Highly-Active Antiretroviral Therapy“ (HAART) besteht üblicherweise aus der Kombination von zwei nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI) mit einem nicht-nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitor (NNRTI) oder einem oder zwei Protease-Inhibitoren (PI).

Die Indikation zur Therapie einer HIV-Infektion wird wegen der Nebenwirkungen (siehe unten), von denen während der jahrelangen Behandlung immer mehr Patienten betroffen sind, zunehmend strenger gestellt und ergibt sich aus klinischen und laborchemischen (Viruslast, CD4-Zellzahl) Faktoren (Yeni, 2006).

Die Therapie erfordert zur Erhaltung des Behandlungserfolges vom Patienten ein hohes Maß an Compliance, das v.a. durch frühe Aufklärung und enge Zusammenarbeit mit dem Arzt erreichbar ist. U.a. versucht man, die Tablettenzahl mittels Einsatz von geeigneten Kombinationspräparaten zu verringern, um die Einnahmetreue zu verbessern.

2.1.1 Substanzklassen und Wirkungsweisen

Die heute verfügbaren antiretroviralen Medikamente verfolgen alle das Ziel, die Replikation des Virus zu verhindern. Dabei gibt es die Möglichkeit, die reverse Transskription des Virus-Genoms zu verhindern, in die Proteinmodifizierung einzugreifen oder das Eindringen des Virus in die Zelle unmöglich zu machen.

2.1.1.1 Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Hemmer

Die nukleosidischen und nukleotidischen Reverse-Transkriptase-Hemmer (NRTI) stellen die älteste Substanzklasse unter den antiretroviralen Medikamenten dar. Nach wie vor bilden sie die Basis fast jeder antiretroviralen Therapie (White, 2001; Yeni, 2006).

Ihrer chemischen Struktur nach ähneln sie den Bestandteilen der DNA und RNA, also Purinen und Pyrimidinen. Von den natürlichen Nukleosiden und Nukleotiden unterscheiden sie sich durch Modifikationen am Zuckerbestandteil, der Ribose (Hoffmann, 2005) oder an der Purin-

oder Pyrimidinbase (Kakuda, 2000). Sie sind Prodrugs, werden also erst im Körper zu ihrer Wirkform aktiviert. Dies erfolgt in der Zelle durch mehrfache Phosphorylierung durch, je nach Substanz unterschiedliche, zelleigene Kinasen (Kakuda, 2000; Walker, 2002).

Sie bewirken bei der reversen Transkription des HI-Virus-Genoms, also der Umschrift der Virus-RNA in DNA, die dann in das Genom der Wirtszelle aufgenommen wird, einen Kettenabbruch. Dieser beruht darauf, dass ihnen an Position 3' eine freie Hydroxylgruppe fehlt, die zur Bildung einer glykosidischen Bindung mit der 5'-Phosphatgruppe eines weiteren Nukleotids nötig wäre (Brinkmann et al., 1998). Die reverse Transkription kann nicht fortgesetzt, und damit können letztendlich keine neuen Viruspartikel gebildet werden.

Die nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren werden nach hepatischer Metabolisierung hauptsächlich renal ausgeschieden (Lemberg et al., 2002).

Ein großes Problem bei der Anwendung dieser Substanzen, abgesehen von den Langzeitnebenwirkungen, auf die ich später eingehen werde, stellen mögliche Kreuzresistenzen dar (Hoffmann, 2005).

2.1.1.2 Nicht-nukleosidische Reverse-Transkriptase-Hemmer

Die nicht-nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Hemmer (NNRTI) sind seit Anfang der 1990er Jahre verfügbar.

Angriffspunkt ist, wie bei den NRTI, das virale Enzym Reverse Transkriptase (RT). Im Gegensatz zu den NRTI stellen die NNRTI aber keine fehlerhaften DNA-Bausteine dar. Stattdessen inhibieren sie das Enzym durch nicht-kompetitive Bindung in der Nähe der Substratbindungsstelle für Nukleotide. Der hierbei entstehende Komplex stört die Bindung von Nukleotiden an das aktive Zentrum, so dass die reverse Transkription erheblich verlangsamt wird. NNRTI sind keine Prodrugs, sondern in der Zelle sofort aktiv (Hoffmann, 2005).

Die Verstoffwechslung erfolgt hepatisch über das Cytochrom-P-450-System, wobei Interaktionen mit zahlreichen Medikamenten vorkommen (Lemberg et al., 2002).

Bei dieser Substanzklasse stellen Kreuzresistenzen ein großes therapeutisches Problem dar. Es genügt eine bestimmte Punktmutation an der Bindungsstelle für die NNRTI, um das Virus unempfindlich für die gesamte Substanzklasse zu machen (Hoffmann, 2005).

Dennoch stellen die NNRTI insgesamt eine sehr wirkungsvolle antiretrovirale Therapie dar, die zudem auch noch verhältnismäßig gut verträglich ist. Nebenwirkungen treten substanzspezifisch mit unterschiedlicher Häufigkeit auf und bestehen in (z.T. schweren) zentralnervösen Störungen, Leberschäden, Dyslipidämie, Gynäkomastie und allergischen Exanthenen (Lemberg et al., 2002).

2.1.1.3 Protease-Inhibitoren

Protease-Inhibitoren (PI) sind ebenfalls seit den 1990er Jahren Bestandteil der HIV-Therapie geworden. Auch sie benötigen keine Aktivierung, sondern entfalten ihre Wirkung unmittelbar nach Aufnahme in die Zelle (Hoffmann, 2005).

Ihr Angriffspunkt ist die HIV-eigene virale Protease, die für die Ausreifung der Vorläufer-Virus-Proteine GAG und GAG-POL zuständig ist. Die reifen Proteine sind Bestandteile von Matrix, Capsid, Nukleokapsid oder viralen Enzymen. Für die Bindung und proteolytische Spaltung der Vorläuferproteine durch die HIV-Protease sind bestimmte Aminosäure-Sequenzen (Asparagin – Phenylalanin – Prolin oder Asparagin – Tyrosin – Prolin) notwendig, die unempfindlich gegenüber Proteasen der Wirtszelle sind (Vigouroux et al., 1999). Proteaseinhibitoren sind speziell so aufgebaut, dass sie an das aktive Zentrum gebunden werden, ohne dass eine hydrolytische Spaltung erfolgt. Dadurch wird das Enzym kompetitiv gehemmt und die Bildung infektiöser Viruspartikel verhindert (Hoffmann, 2005; Vigouroux et al., 1999).

Abgebaut werden alle PI hepatisch. Sie sind allesamt Inhibitoren des CYP3A4-Systems, so dass entsprechende Interaktionen mit anderen Medikamenten zu beachten sind (Lemberg et al., 2002).

Auch bei Proteaseinhibitoren bestehen ausgeprägte Kreuzresistenzen, welche die Therapie ebenso erschweren können wie die Nebenwirkungen. Die wichtigsten unerwünschten Effekte bestehen in Dyslipidämie, Lipodystrophie und gastrointestinalen Störungen. Außerdem gibt es Hinweise auf durch PI verursachte sexuelle Dysfunktion (Hoffmann, 2005; Petit et al., 2005).

2.1.1.4 Entry-Inhibitoren

Eine neue Errungenschaft in der antiretroviralen Therapie stellt die Klasse der Entry-Inhibitoren dar.

HIV benötigt für seinen Eintritt in eine Wirtszelle Rezeptoren (CD4) und zusätzlich verschiedene Co-Rezeptoren wie CXCR-4 und CCR-5. Durch Bindung an diese wird die Fusion der Virushülle mit der Zellmembran ermöglicht (Vigouroux et al., 1999). Die Gruppe der Entry-Inhibitoren beinhaltet Medikamente, die entweder die Bindung an Rezeptoren, an Co-Rezeptoren oder die Fusion von Virus und Wirtszelle hemmen. In Europa sind bislang nur ein CCR-5-Rezeptorantagonist und T-20 zugelassen. T-20 ist ein Peptid, das durch Bindung an das virale Glykoprotein 41 die Verschmelzung von Virus- und Zellmembran verhindert (Hoffmann, 2005; Höschele, 2006).

Auch hier reichen bereits Punktmutationen im Virusgenom für die Resistenzbildung aus, jedoch scheinen die betreffenden Veränderungen die Replikationsfähigkeit des Virus zu beeinträchtigen. Die Verträglichkeit ist relativ gut, jedoch traten unter Therapie mit T-20 vermehrt Lymphadenopathien, bakterielle Pneumonien und Septikämien auf. Das wird mit einer Wirkung von T-20 auf die Granulozyten erklärt (Hoffmann, 2005).

T-20 ist nur als Therapie bei Patienten zugelassen, bei denen Resistenzen gegen mehrere andere HIV-Medikamente vorliegen.

2.2 Nebenwirkungen der nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren und ihre biochemischen Grundlagen

Die nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Hemmer haben eine Reihe von Nebenwirkungen, die auf eine Störung der mitochondrialen Funktion zurückgeführt werden (Chen et al., 1991; Chen und Cheng, 1992; Brinkmann et al., 1998; Kakuda, 2000; Moyle, 2000; Foli et al., 2001; Lafeuillade et al., 2001; Walker und Brinkmann, 2001; Walker et al., 2002; White, 2001; Côté et al., 2002; Lemberg et al., 2002; Lewis, 2003; Nolan et al., 2003; Cosarriza und Moyle., 2004; Fleischer et al., 2004; Montaner et al., 2004).

2.2.1 Mitochondriale Funktion

Mitochondrien sind Bestandteile aller menschlichen Zellen mit Ausnahme der Erythrozyten. Sie sind Organellen mit Doppelmembran, eigener doppelsträngiger zirkulärer DNA mit 16 569 Basenpaaren und mitochondrienspezifischer Transkription, Translation und eigenem Proteinstoffwechsel (Kakuda, 2000; Cossarizza und Moyle, 2004). Das unterstützt die

Hypothese, dass es sich bei ihnen ursprünglich um Mikroorganismen handelt, die mit eukaryonten Zellen in symbiontische Beziehung traten (Kakuda, 2000).

Gesunde Mitochondrien erfüllen eine Reihe von Funktionen. An erster Stelle steht die Gewinnung von Energie in Form von ATP durch den oxidativen Stoffwechsel von Fettsäuren und Glukose. Darüber hinaus haben sie wichtige Aufgaben bei der Apoptose (Kakuda, 2000; Basañez und Zimmerberg, 2001; Pollack und Leeuwenburgh, 2001). Ihre mitochondriale DNA kodiert u.a. für einen Bestandteil des Proteinkomplexes, der für die oxidative Phosphorylierung zuständig ist (Cossarizza und Moyle, 2004). Außerdem findet hier die Synthese von Häm, Gallensäuren, Östrogen und Testosteron statt sowie auch die Ammoniakentgiftung, der Cholesterin- und Ethanol-Stoffwechsel. Auch bei der Regulierung des Calciumhaushalts der Zelle sind Mitochondrien beteiligt (Kakuda, 2000).

Mitochondrien werden fast ausschließlich maternal vererbt. Ihre DNA kodiert für 13 Proteine, 22 Transfer-RNAs und zwei ribosomale RNA-Moleküle (12S und 16S-Ribosomen) und macht etwa 2% des gesamten DNA-Gehalts einer Zelle aus (White, 2001). Mitochondriale DNA (mtDNA) enthält, anders als zelluläre DNA, kaum Introns, und wird nicht von Histonen geschützt. Ihre Replikation erfolgt unter Mithilfe verschiedener nukleär kodierter Proteine durch die Polymerase γ (Kakuda, 2000; Cossarizza und Moyle, 2004). Dabei handelt es sich um ein Enzym, das von nukleärer DNA kodiert wird und wesentlich anfälliger für Replikationsfehler ist als die Polymerasen, die die Vermehrung der nukleären DNA steuern. Es verfügt auch nicht über die gleichen ausgefeilten Reparaturmechanismen. So entstehen bei der Replikation der mitochondrialen DNA etwa zehnmal so viele Mutationen wie bei der Replikation zellulärer DNA, und in einer Zelle können mtDNA-Moleküle in verschiedenen Varianten vorliegen (Heteroplasmie) (Kakuda, 2000).

2.2.2 Mitochondriale Funktionsstörungen unter HIV und ART

Die mitochondriale Funktion kann durch viele verschiedene Faktoren beeinträchtigt werden. So gaben zum Beispiel erbliche Krankheiten, deren klinische Ausprägung auf der gestörten Funktion der Mitochondrien beruht, den ersten Einblick in die Konsequenzen mitochondrialer Dysfunktion.

Im Folgenden sollen Störungen, die durch externe Noxen, nämlich einerseits antiretrovirale Medikamente (insbesondere NRTI), andererseits aber auch durch das humane

Immundefizienzvirus selbst verursacht werden können, mit den Hypothesen, die zu ihren Entstehungsmechanismen existieren, beschrieben werden.

2.2.2.1 Die Polymerase- γ Hypothese

Heute wird die Inhibition der Polymerase γ durch nukleosidische Reverse-Transkriptase-Hemmer als entscheidender Pathomechanismus zur NRTI-induzierten mitochondrialen Toxizität angesehen.

In eukaryonten Zellen gibt es fünf verschiedene Polymerasen, die für die Bildung neuer DNA-Stränge verantwortlich sind. Sie werden mit den griechischen Buchstaben α , β , γ , δ und ϵ klassifiziert. Für die Transkription der zellulären DNA sind vor allem Polymerase α und ϵ zuständig, Polymerase β und δ fungieren als Reparatur- und Korrekturenzyme (Kakuda, 2000).

Mitochondriale DNA wird von der Polymerase γ repliziert, einer DNA-abhängigen DNA-Polymerase mit einer 5'-3'-Polymerase-Aktivität und einer 3'-5'-Exonuklease-Aktivität (Lee et al., 2003). Sie weist eine deutlich höhere Fehlerquote auf als die für die Replikation der zellulären DNA verantwortlichen Enzyme, und ihre Korrekturfähigkeit ist geringer (White, 2001), so dass Mutationen, die durch „Lesefehler“ der Polymerase entstehen, mit geringerer Wahrscheinlichkeit behoben werden und somit eher zu Funktionsbeeinträchtigung führen als bei nukleärer DNA.

In verschiedenen Studien hat sich gezeigt, dass nukleosidische Reverse-Transkriptase-Hemmer nicht nur die Reverse Transkriptase, sondern *in vitro* auch Polymerase β und γ (und in sehr geringen Ausmaß auch α und ϵ) kompetitiv hemmen (Huang et al., 1990 und 1992; Parker et al., 1991; Gray et al., 1995). Ob der Inhibition der Polymerase β eine klinische Bedeutung zukommt, ist noch unklar. Neben der kompetitiven Hemmung der Polymerase γ werden als mögliche Mechanismen ein fälschlicher Einbau von Nucleosidanaloga in die mitochondriale DNA mit resultierenden Kettenabbrüchen und eine Beeinträchtigung der Replikations-Zuverlässigkeit und der Korrekturmechanismen (durch Hemmung der Exonuklease-Aktivität der Polymerase γ) mit Persistenz der Nucleosidanaloga in der mitochondrialen DNA diskutiert (Lewis et al., 2003; Bienstock und Copeland, 2004; Kohler und Lewis, 2006). Einer oder eine Kombination mehrerer dieser Mechanismen führt zu einer Verminderung des Gehalts an mitochondrialer DNA in den Zellen und damit zu Störungen

der mitochondrialen Funktion, vor allem einer Hemmung der Atmungskette (Brinkmann et al., 1998 und 1999; Kakuda, 2000; Dalakas et al., 2001; Foli et al., 2001; Lafeuillade et al., 2001; Walker und Brinkmann., 2001; Walker et al., 2002; White, 2001; Côté et al., 2002; Joly et al., 2002; Nolan et al., 2002; Dieterich, 2003; Lewis, 2003; Cossarizza und Moyle, 2004). Aufgrund dieser Erkenntnisse nimmt man auch *in vivo* die Störung der Funktion der Polymerase γ als Ursache für vielfältige, mitochondrial verursachte Nebenwirkungen der NRTI an.

Nicht alle NRTI hemmen die Polymerase γ in gleichem Maße. Vor allem für die sogenannten „d-drugs“ Zalcitabin, Didanosin und Stavudin hat sich eine ausgeprägte Wirkung auf das Replikationsenzym gezeigt. Für Lamivudin, Zidovudin, Abacavir und Tenofovir besitzt die Polymerase γ eine deutlich geringere Affinität. (Chen et al, 1991; Parker et al., 1991; Gray et al., 1995; Kakuda, 2000; Birkus et al., 2002; Walker, 2002). Zalcitabin, Didanosin und Stavudin werden somit mit höherer Wahrscheinlichkeit in die mitochondriale DNA inkorporiert als Lamivudin, Zidovudin, Abacavir und Tenofovir. Lamivudin und Tenofovir werden (anders als Zidovudin und Abacavir) zudem auch leicht durch die Exonuklease-Aktivität der Polymerase γ erkannt und entfernt (Gray et al., 1995; Lewis et al., 2003; Bienstock und Copeland, 2004; Kohler und Lewis, 2006).

Darüber hinaus sind auch nicht alle Gewebe gleichermaßen anfällig für die Inhibition der Polymerase γ . Es spielen Unterschiede in der Gewebspermeabilität, zellspezifischen Aktivierung und Deaktivierung, Aufnahme in die Mitochondrien, die gewebesabhängige Menge an gespeicherten Nukleotiden, gewebsspezifische Polymorphismen in der mitochondrialen DNA-Polymerase γ und vor allem das Maß der Abhängigkeit eines Gewebes vom oxidativen Stoffwechsel eine Rolle (Chen et al., 1991; Kakuda, 2000; Cherry et al., 2006; Höschele, 2006).

Auch scheint eine gewisse genetische Prädisposition für die Empfindlichkeit für mitochondriale Toxizität durch NRTI zu bestehen (Lewis et al., 2003).

Die Verminderung der mitochondrialen DNA ist außerdem von der Höhe der Dosis und der Anzahl der eingesetzten verschiedenen NRTI abhängig. Höhere NRTI-Dosen führen zu einer deutlicheren Abnahme an mtDNA. Wird mehr als ein NRTI eingesetzt, können sich die toxischen Wirkungen addieren und verstärken (Walker et al., 2002; Reiss et al., 2004). Auch

eine Behandlung mit Ribavirin oder eine Hepatitis-Co-Infektion führen zu einer gesteigerten mitochondrialen Toxizität (Lafeuillade et al., 2001; Fleischer et al., 2004).

2.2.2.2 Andere Hypothesen zur mitochondrialen Toxizität

Neben der Polymerase γ -Hypothese werden auch alternative Pathomechanismen zur Entstehung der mitochondrialen Toxizität diskutiert.

Oxidativer Stress durch vermehrte Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, wie Superoxid, Wasserstoffperoxid, Lipidperoxide, Hydroxylradikale und Peroxynitrit, während der oxidativen Phosphorylierung unter Behandlung mit NRTI, führt zu DNA-Schäden (de la Asunción et al., 1998; Szabados et al., 1999; Kakuda, 2000; Lewis, 2003; Kohler und Lewis, 2006). Bereits die HIV-Infektion an sich bedingt vermehrten oxidativen Stress (Lewis et al., 2003). Durch Sauerstoffradikale verursachte Mutationen sind an der mitochondrialen DNA ausgeprägter und bleiben länger erhalten als an der nukleären DNA, was bei dauerndem oxidativen Stress zu einer Depletion an funktionsfähigen Mitochondrien und damit einer Störung der mitochondrialen Funktion führen kann (Yakes et al., 1997).

Es konnte außerdem gezeigt werden, dass auch andere Enzyme, nicht nur die DNA-Polymerasen, von nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Hemmern inhibiert werden können, z.B. die Adenylatzyklase und der mitochondriale ATP-ADP-Austauscher (Barile et al., 1994 und 1997).

Auch eine Entkoppelung der Elektronen-Transportkette von der ATP-Synthese bei der oxidativen Phosphorylierung wird als Mechanismus diskutiert (Modica-Napolitano, 1993).

Aber auch das humane Immundefizienzvirus selbst ist eine mitochondriale Noxe und kann über eine Zerstörung der Mitochondrien den programmierten Zelltod virusbefallener Zellen auslösen. Das virale Protein R steigert in hohen Konzentrationen entweder über Interaktionen mit dem Permeability Transition Pore Complex (PTPC), der aus einem spannungsabhängigen Anionen-Kanal in der äußeren Mitochondrienmembran und dem Adenin-Nukleotid-Austauscher der inneren Membran besteht (Jacotot et al., 2001), oder durch direkte Interaktionen mit der Lipid-Doppelschicht (Basañez und Zimmerberg, 2001) die Permeabilität der Mitochondrienmembranen. Das führt zur Entkoppelung des ATP-Transports von der Atmungskette, zu Matrixschwellung und letztendlich Apoptose. Man nimmt an, dass hierdurch eine zu schnelle Virusausbreitung, zu rasche Krankheitsprogression und ein zu

früher Tod des Wirtsorganismus verhindert werden sollen, da das parasitäre Virus alleine nicht infektiös- und vermehrungsfähig ist.

2.2.3 Klinische Erscheinungsformen

Die vielfältigen Symptome und krankhaften Zustände, die durch mitochondriale Noxen ausgelöst werden können, entstehen selten akut. Meist handelt es sich um Folgen einer chronischen Exposition. Für die unterschiedlichen klinischen Bilder bestehen Assoziationen mit bestimmten Medikamenten.

2.2.3.1 Hyperlaktatämie und Laktatazidose

Eine Erhöhung des Laktatspiegels im Blut ohne Symptome ist eine relativ häufige Nebenwirkung der Therapie mit Nukleosid-Analoga. Die akute und lebensgefährliche Laktatazidose ist dagegen selten (Moyle, 2000; Boubaker et al., 2001; White, 2001; ter Hofstede et al., 2003; Walker, 2002; Dieterich, 2003; Cossarizza und Moyle., 2004; Montaner et al., 2004). Häufig sind Laktaterhöhungen unter NRTI-Therapie mit Steatosis hepatis und einem Anstieg der Leberenzyme assoziiert (Dagan et al., 2002). Selten wird auch ein akutes Leberversagen beobachtet. Das Risiko steigt mit einer Hepatitis-Co-Infektion und hepatotoxischer Begleitmedikation (Dieterich, 2003).

Es konnte gezeigt werden, dass eine Erhöhung des peripheren Laktat-Spiegels im Blut mit einer Verminderung des Verhältnisses von mitochondrialer zu nukleärer DNA assoziiert ist, was für eine mitochondrial bedingte Genese spricht (Montaner et al., 2004). Durch die Störung des oxidativen Stoffwechsels und die Verminderung der funktionsfähigen Mitochondrien wird Pyruvat vermehrt durch anaerobe Glykolyse zu Laktat abgebaut.

Laktat wird im gesunden Organismus über die Leber und die Nieren ausgeschieden und wird normalerweise im Bereich von etwa 0,6-2,4 mmol/L konstant gehalten (Dagan, et al., 2002). Eine bestehende Leberfunktionsstörung oder Niereninsuffizienz begünstigt die Entstehung einer Hyperlaktatämie und Laktatazidose (White, 2001; Murphy et al., 2003). Als weitere Risikofaktoren sind beschrieben: Therapie mit Stavudin (Boubaker et al., 2001; John et al., 2001; White, 2001), Hepatitis-Co-Infektion, körperliche Anstrengung und andere mitochondrial verursachte Nebenwirkungen, v.a. ein begleitendes Lipodystrophiesyndrom. Als weitere Risikofaktoren werden darüber hinaus auch Adipositas, weibliches Geschlecht

und Schwangerschaft angeführt. Hierüber existieren allerdings keine eindeutigen Daten. (Moyle, 2000; Dieterich, 2003).

Die Symptome der Laktatazidose sind unspezifisch: Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen, Müdigkeit und Gewichtsverlust. Die Leber kann vergrößert und druckempfindlich sein. Im weiteren Verlauf finden sich mit zunehmender Azidose Atemnot, Tachypnoe, Hyperventilation, Leber – und/oder Nierenversagen, Störungen der Blutgerinnung, epileptische Anfälle und Herzrhythmusstörungen. Ein tödlicher Ausgang ist nicht selten (Moyle, 2000; Dagan et al., 2002).

Die Therapie einer NRTI-induzierten Laktatazidose besteht v.a. im Aussetzen der Nukleosidanaloga, Ausgleich des Säure-Basenhaushalts und ggf. Hämofiltration. Nicht gesichert ist der Nutzen von Antioxidantien und Co-Faktoren der oxidativen Phosphorylierung wie Riboflavin, Thiamin, Carnitin, Coenzym Q, Dichloroacetat, Biotin, Pyridoxin und vielen anderen mehr, jedoch werden sie aufgrund der grundsätzlich begrenzten therapeutischen Möglichkeiten und ihrer geringen Nebenwirkungen versuchsweise eingesetzt (Moyle, 2000; Dieterich, 2003).

2.2.3.2 Lipodystrophie-Syndrom

Die Lipodystrophie ist eine klinisch sichtbare Fettverteilungsstörung, die gehäuft bei HIV-Patienten unter HAART auftritt und mit metabolischen Veränderungen assoziiert ist. Typisch ist eine Lipoatrophie an den Extremitäten und im Gesicht und eine Lipoakkumulation am Stamm und im Nacken. Lipoatrophie und Lipoakkumulation können kombiniert oder isoliert voneinander auftreten, und werden in der Literatur häufig als zwei verschiedene Entitäten betrachtet (Saint-Marc et al., 2000). Die beschriebene Fettumverteilung wurde zuerst im Zusammenhang mit Protease-Inhibitoren beschrieben, doch gibt es inzwischen viele Hinweise auf eine Assoziation von Therapie mit NRTI und dem Lipodystrophiesyndrom, auch unabhängig von PI-Therapie (Brinkmann et al., 1999; Saint-Marc et al., 1999 und 2000; Carr et al., 2000; Mallal et al., 2000; van der Valk et al., 2001; Walker und Brinkmann, 2001; Nolan et al., 2003; Grinspoon und Carr, 2005).

Das Lipodystrophiesyndrom tritt meist bei Patienten unter HAART auf und korreliert nicht mit der HI-Viruslast, so dass eine Assoziation mit der HIV-Infektion an sich unwahrscheinlich ist (ter Hofstede et al., 2003).

Die Diagnose des Lipodystrophiesyndroms kann heute anhand des Lipodystrophy Case Definition Score validiert werden. Aus den Parametern Geschlecht, Infektionsdauer, HIV-Stadium, Verhältnis von Taillen- zu Hüftumfang, der Anionenlücke, dem HDL-Cholesteroll-Level, dem Verhältnis von Körperstammfett zu peripherem Fett (gemessen mit DEXA-Scan), dem Beinfettprozentanteil (mit DEXA-Scan) und dem Verhältnis von intra- zu extra-abdominellem Fett (mit CT-ermittelt) ergibt sich ein Punktwert, der einen objektiven Maßstab für das Vorliegen eines Lipodystrophiesyndroms darstellt (Carr et al., 2003). Dieses Verfahren ist jedoch sehr aufwendig, weshalb die Diagnose in den meisten Fällen klinisch gestellt wird.

Zur Frühdiagnose gibt es Versuche, Veränderungen im Stoffwechsel der Adipozyten und ihrer mitochondrialen DNA durch Inkorporation von Deuterium mittels Massenspektrometrie zu erfassen, um noch vor Entstehung klinischer Symptome therapeutisch eingreifen zu können (Hellerstein, 2003).

2.2.3.2.1 Ursachen und molekulare Mechanismen

Als Ursache für die Protease-Inhibitor-induzierte Lipodystrophie ist eine Inhibition von Regulationsproteinen der Adipozytendifferenzierung vorgeschlagen worden, die eine partielle Homologie mit dem aktiven Zentrum der HIV-1-Protease aufweisen, an das alle Proteaseinhibitoren binden. PI könnten so die durch das Cellular Retinoic Acid-binding Protein I (CRABP I) modifizierte und durch Cytochrom P450-3A-vermittelte Synthese von Retinoid X Receptor (RXR) und Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ (PPAR- γ) hemmen. Diese Inhibition führt zu erhöhter Apoptose-Rate bei Adipozyten und geringerer Fettzellausreifung, verbunden mit vermehrter Lipidfreisetzung (Carr et al, 1998; ter Hofstede et al., 2003). Bindung von Proteaseinhibitoren an Low-density Lipoprotein Receptor-related Protein würde zu verminderter hepatischer Chylomikronen-Aufnahme und endothelialer Triglyzerid-Clearance, und damit zu Hyperlipidämie und Insulinresistenz führen (Carr et al., 1998; ter Hofstede et al., 2003). Durch Proteaseinhibitor-Therapie verminderte Expression des Sterol Regulatory Enhancer-binding Protein 1 (SREBP-1) führt *in vitro* zur Behinderung von Lipogenese und Differenzierung von Fettzellen (Brinkmann et al., 1999; Bastard et al., 2002; Grinspoon und Carr, 2005).

Auch Einflüsse des autonomen Nervensystems auf das Fettgewebe werden diskutiert, da parasymphatische Stimulation des Fettgewebes zur Aufnahme von Glukose und freien Fettsäuren, und damit zu Fettgewebiszunahme führt (Kreier et al., 2002).

Es gibt viele Hinweise dafür, dass nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren Lipodystrophie durch ihre Wirkung auf die Mitochondrien verursachen. In Proben aus dem subkutanen Fettgewebe von Patienten unter NRTI-Therapie zeigte sich eine statistisch signifikante Verminderung der Anzahl an Kopien der mitochondrialen DNA verglichen mit seronegativen und therapienaiven, seropositiven Kontrollpersonen. Dabei hatten Patienten unter Stavudin-Therapie gegenüber Patienten unter Zidovudin einen signifikant geringeren mitochondrialen DNA-Gehalt (Nolan et al., 2003; Buffet et al., 2005), aber als Ausdruck einer reaktiv-verstärkten mitochondrialen Proliferation eine erhöhte mitochondriale Masse (Nolan et al., 2003). Eine klinische Ähnlichkeit mit den beiden Typen des Madelung-Syndroms (multiple symmetrische Lipomatose), das durch Defekte der Atmungskette aufgrund von Mutationen in der mitochondrialen DNA verursacht wird, spricht ebenfalls für eine mitochondriale Genese (Brinkmann et al., 1999; Walker und Brinkmann, 2001; White, 2001).

Mitochondriale Toxizität führt in der Folge zur Apoptose vor allem der peripheren weißen Fettzellen, die nur eine verhältnismäßig geringe Menge an Mitochondrien und einen relativ langsamen Stoffwechsel haben, und in der Folge zur vermehrten viszeralen Fettansammlung, da die viszeralen Adipozyten einen höheren Mitochondrien-Gehalt aufweisen (Moyle, 2000).

Die Ausprägung von Lipoakkumulation oder -atrophie mag auch von unterschiedlichem Sauerstoffgehalt im Gewebe abhängen. In mit NRTI behandelten Präadipozyten und Adipozyten ließ sich eine signifikante Verringerung des Gehalts an mitochondrialer DNA unter Normoxie nachweisen, die unter hypoxischen Bedingungen nicht auftrat. Die Ausreifung der Präadipozyten war unter Hypoxie gestört, nicht jedoch die Fähigkeit zur Adipogenese, wie das in mit NRTI unbehandelten Zellen der Fall war. Hypoxie führte folglich in mit NRTI-behandelten Zellen zu Lipoakkumulation, Normoxie zu Verminderung des Gehalts an mitochondrialer DNA (Gentil et al., 2006).

2.2.3.2.2 Lipoatrophie

Eine Verminderung des subkutanen Fettgewebes vor allem im Gesicht bis hin zu kachektischem Aussehen, an den Extremitäten mit stärkerem Hervortreten der subkutan gelegenen Venen, am Gesäß, gelegentlich aber auch am Stamm, kennzeichnet die atrophe

Form des Lipodystrophiesyndroms. Es tritt sowohl unter Therapie mit Protease-Inhibitoren, als auch unter PI-freien Therapieregimen auf (Brinkmann et al., 1999; Vigouroux et al., 1999; Mallal et al., 2000; Grinspoon und Carr, 2005). Vor allem durch die faziale Atrophie kann die lipoatrophe Form des Lipodystrophie-Syndroms an das AIDS-assoziierte Wasting-Syndrom erinnern.

Unter den nukleosidischen Reverse- Transkriptase- Hemmern stellen Zidovudin, Didanosin und vor allem Stavudin die größten Risikofaktoren für die Entwicklung einer Lipodystrophie dar (Saint-Marc et al., 1999; Mallal et al., 2000; Nolan et al., 2002; Buffet et al., 2005). Heute nehmen einige Autoren an, dass diese NRTI eine größere Rolle für die Entwicklung einer Lipoatrophie spielen als die Proteaseinhibitoren (Sternfeld, 2005).

Risikofaktoren für die Entstehung einer Lipoatrophie sind nach heutigen Erkenntnissen lange Therapiedauer, höheres Lebensalter, geringes Körpergewicht bei Therapiebeginn, Therapiedauer, AIDS-definierende Erkrankungen, niedriger CD4-Nadir, hohe HI-Viruslast, Exposition gegenüber Stavudin und Co-Infektion mit Hepatitis C (Grinspoon und Carr, 2005; Lichtenstein, 2005; Sternfeld, 2005).

Histologisch ist das Lipoatrophiesyndrom gekennzeichnet durch starke Variabilität der Fettzellgröße mit Vermehrung kleiner Adipozyten, lipid-beladene Makrophagen, Adipozytenverlust mit erhaltenem Stroma und vermehrter Vaskularisation (Nolan et al., 2003).

2.2.3.2.3 Lipoakkumulation

Vermehrte Anhäufung von Fettgewebe unter HAART tritt intraabdominal, dorsocervical über der Wirbelsäule als sogenannter „Buffalo-hump“ und in Form einer Gynäkomastie bei Männern oder Makromastie bei Frauen auf (Grinspoon und Carr, 2005).

Risikofaktoren hierfür sind weibliches Geschlecht, Alkoholabusus, Therapiedauer, CD4-Count, HI-Viruslast, Alter und Therapie mit Protease-Inhibitoren (Dieterich, 2003; Grinspoon und Carr, 2005; Liechtenstein et al., 2005; Sternfeld, 2005).

2.2.3.2.4 Begleitende metabolische Störungen

Im Rahmen des Lipodystrophiesyndroms, aber auch isoliert davon, treten bei HIV-Patienten unter HAART häufig metabolische Störungen auf. Ähnlich, wie beim metabolischen

Syndrom, kommt es zu verminderter Glukosetoleranz, Insulinresistenz, Diabetes mellitus Typ II und Fettstoffwechselstörungen im Sinne einer Hypercholesterinämie mit erhöhten LDL- und verminderten HDL-Spiegeln, und einer Hypertriglyzeridämie (Vigouroux et al., 1999; Cohan, 2000; Moyle, 2000; White, 2001; Cossarizza und Moyle, 2004; Grinspoon und Carr, 2005). Diese metabolischen Veränderungen treten sowohl unter Therapie mit bestimmten Protease-Inhibitoren (Ritonavir, Indinavir), als auch unter NRTI-Therapie (speziell mit Stavudin und Lamivudin) auf (Moyle, 2000).

Aufgrund dieser metabolischen Störungen steigt das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse für Patienten unter HAART beträchtlich (Ball, 2003; Grinspoon et al., 2005).

2.2.3.2.5 Mögliche Therapieoptionen

Ein eventuelles Umsetzen von Stavudin auf alternative NRTI kann von Nutzen sein (Dieterich, 2003; Cossarizza und Moyle, 2004). Therapie mit Wachstumshormon führt zu einer Verminderung des viszeralen, jedoch auch des peripheren subkutanen Fettes (Grinspoon und Carr, 2005). Bei Lipoakkumulation ist Metformin eine Möglichkeit (Sternfeld, 2005). Die mitochondriale Funktionsstörung per se wird versuchsweise mit Uridin-Präparaten behandelt (Conolly und Duley, 1999). Zudem muss eine suffiziente Therapie der metabolischen Komplikationen wie üblich erfolgen.

2.2.3.3 Polyneuropathie

Im Zusammenhang mit HIV-Infektion und hochaktiver antiretroviraler Therapie werden verschiedene Formen von Polyneuropathie beobachtet. Guillain-Barré-Syndrom, chronische, inflammatorische demyelinisierende Neuropathie, Mononeuropathia multiplex und Polyradikulopathie kommen vor, am häufigsten ist jedoch die distale sensorische periphere Polyneuropathie (Luciano et al, 2003). Sie wird sowohl unter HIV allein, als auch unter antiretroviraler Therapie mit Nukleosidanaloga beschrieben.

2.2.3.3.1 HIV-bedingte Polyneuropathie

Im Rahmen einer Infektion mit dem HI-Virus tritt häufig eine sensorische periphere Polyneuropathie auf. Die Inzidenz nimmt mit dem Grad der Immunsuppression zu (White, 2001).

Untersuchungen, bei denen HIV-Genom im Nervus peroneus betroffener Patienten gefunden wurde, aus dem rekombinante Viruspartikel hergestellt werden konnten, die im Experiment Stoffwechselprozesse in Nervenzellen signifikant nachweisbar behinderten, bekräftigen die Hypothese, dass das Virus selbst Einfluss auf die peripheren Nerven nimmt (Jones et al., 2005).

Eine pathophysiologische Rolle in diesem Prozess scheint dem viralen Glykoprotein 120 zuzukommen, das sich in picomolaren Dosen als toxisch für speziell sensible Nervenzellen erwiesen hat (Keswani et al. 2003).

Klinisch zeigen sich vor allem Taubheitsgefühle, Parästhesien und Dysästhesien, die sich von distal nach proximal an den Beinen beginnend ausbreiten. In fortgeschrittenen Stadien können die Reflexe abgeschwächt und auch die oberen Extremitäten betroffen sein (Wulff und Simpson, 1999).

2.2.3.3.2 NRTI-assoziierte Polyneuropathie

Die durch neurotoxische Effekte von NRTI bedingte periphere symmetrische Polyneuropathie (PNP) kann häufig schon nach wenigen Wochen Behandlung auftreten. Ihre Inzidenz steigt in Abhängigkeit von der Dosis (Moyle, 2000; Dalakas et al., 2001; White, 2001; Cossarizza und Moyle, 2004).

Nicht alle NRTI haben sich als gleichermaßen neurotoxisch erwiesen. Klinisch sind vor allem Zalcitabin und Didanosin mit einer Neurotoxizität assoziiert. Für Zidovudin, Lamivudin und Abacavir lässt sich eine Assoziation mit Polyneuropathie nicht konsistent nachweisen (Moyle, 2000; Dalakas, 2001).

Auch hier nimmt man als Ursache die mitochondriale Toxizität der Nukleosidanaloga an (Moyle, 2000; Dalakas, 2001; Cossarizza und Moyle, 2004). Bei Patienten mit PNP unter NRTI-Therapie wird eine Depletion an Acetyl-L-Carnitin beobachtet, das eine wichtige Rolle in der mitochondrialen β -Oxidation spielt, und dadurch, dass es die Freisetzung von Nerve Growth Factor nach Verletzung peripherer Nerven fördert, einen neuroprotektiven Effekt hat (Hart et al., 2004).

In Biopsien aus peripheren Nerven von NRTI-behandelten Patienten lassen sich eine Verminderung an mitochondrialer DNA und morphologisch degenerative Veränderungen der Nervenzellen und der Mitochondrien nachweisen (Dalakas et al., 2001).

Klinisch äußert sich die NRTI-bedingte PNP durch ein symmetrisch auftretendes Taubheitsgefühl, Hyperästhesie oder Dysästhesie in Form von brennenden Missempfindungen und einschießenden Schmerzen und Krämpfen. Auch Temperatur- und Vibrationsempfinden können betroffen sein, eventuell treten Gangschwierigkeiten aufgrund eines Propriozeptionsverlusts auf. Der Achillessehnenreflex kann abgeschwächt oder ausgefallen sein, auch eine geringe Muskelschwäche in den Zehenextensoren wird beschrieben (Moyle, 2000; Dalakas, 2001).

Eine klare Unterscheidung zwischen NRTI- und HIV-bedingter PNP ist anhand dieser Symptome nicht möglich. Richtungsweisend für die NRTI-bedingte periphere Neuropathie können ein abrupter Beginn oder eine Verschlechterung nach Therapiebeginn, eine schnelle Symptomprogression und Schmerzen sein, die bei HIV-bedingter PNP seltener auftreten (Moyle, 2000; Dalakas, 2001; White, 2001; Dieterich, 2003; Cossarizza und Moyle, 2004). Eine klare Zuordnung kann nur durch Symptomverbesserung meist innerhalb der ersten 6-8 Wochen nach Dosisreduktion, Therapieumstellung oder NRTI-Pause erfolgen, wobei es typischerweise in den ersten zwei bis acht Wochen zum sogenannten „coasting“, einer Symptomverschlechterung, kommt (Dalakas, 2001; Dieterich, 2003).

Risikofaktoren, die das Auftreten einer peripheren Polyneuropathie bei HIV-Patienten unter HAART begünstigen sind: Therapiedauer, Anzahl der eingenommenen antiretroviralen Medikamente, niedrige CD4-Zell-Werte, höhere HI-Viruslast, höheres Alter, vorbestehende PNP anderer Ätiologie, herabgesetzte Kreatinin-Clearance, Mangelerscheinungen, Begleiterkrankungen, wie Diabetes, Vaskulitiden oder Alkoholismus und neurotoxische Begleitmedikation (Moyle, 2000; Dalakas, 2001; White, 2001; Luciano et al., 2003).

2.2.3.3.3 Therapiemöglichkeiten

Die kausale Therapie der HIV-bedingten PNP besteht in der antiretroviralen Therapie, wohingegen die NRTI-bedingte PNP mit HAART-Pause, oder – weil meist nicht möglich – mit Therapieumstellung behandelt wird (Moyle, 2000; Dalakas, 2001; White, 2001).

Als neuroprotektiv, teils auch neuroregenerativ und effektiv symptomlindernd haben sich Erythropoetin (Keswani et al., 2004; McArthur, 2004), Acetyl-L-Carnitin (Hart et al., 2004) und rekombinanter Human Nerve Growth Factor (Dalakas, 2001; Dieterich, 2003) erwiesen.

Als effektiv analgetisch haben sich Lokalanästhetika und topisch angewandte Acetylsalicylsäure in Kombination mit Diäthyläther (White, 2001; Dieterich, 2003), trizyklische Antidepressiva, Antikonvulsiva (v.a. Lamotrigin) erwiesen (Moyle, 2000; White, 2001; Dieterich, 2004). Zudem gibt es Versuche mit Capsaicin, Marihuana (McArthur, 2004), Mexiletin (Dalakas, 2001) und Peptid T (Dieterich, 2003).

2.2.3.4 Myopathie

Eine Myopathie kann sowohl durch die HIV-Infektion, als auch durch HAART auftreten, wobei beide Formen sich klinisch nicht unterscheiden (Dalakas et al., 1990; White, 2001).

Die NRTI-bedingte Myopathie ist dosisabhängig, nach Therapieende meist reversibel und betrifft primär die Skelettmuskulatur. Vor allem Zidovudin hat sich als myotoxisch erwiesen (Moyle, 2000; White, 2001; Cossarizza und Moyle, 2004)

Klinisch äußert sich die Myopathie in Myalgien, proximaler Muskelschwäche, Ermüdung sowie Muskelatrophien, die mit einer erhöhten Serum-Kreatinkinaseaktivität einhergehen und in seltenen Fällen bis zur Rhabdomyolyse führen können. Das Herz kann in Form einer hypertrophen Kardiomyopathie mitbetroffen sein (Szabados et al., 1999). Im EMG zeigt sich eine geringere Fibrillationsdichte (Moyle, 2000).

Histologisch findet man in den Skelettmuskelzellen „ragged red fibers“ und abnorme Mitochondrien mit parakristallinen Einschlusskörperchen, sowie einen Verlust an mitochondrialer DNA (Dalakas et al., 1990; Arnaudo et al., 1991).

Aufgrund dieser Befunde könnte man auch hier die Ursache in der Inhibition der Polymerase γ vermuten. Allerdings besitzt Zidovudin ein höheres myotoxisches Potential als Stavudin oder Zalcitabin, obwohl diese die Polymerase γ *in vitro* deutlich stärker inhibieren. Stattdessen konnte gezeigt werden, dass Zidovudin eine muskelspezifische Toxizität aufweist. Hier spielen wohl Interaktionen mit dem Succinattransport (Modica-Napolitano, 1993; Pereira et al., 1998), der Cytochrom-c-Oxidaseaktivität (McCurdy und Kennedy, 1998) und der Cytochrom-c-Reduktaseaktivität (Modica-Napolitano, 1993), Inhibition der Adenylatkinase (Barile et al., 1994) und der NADH-Oxidase (Pereira et al., 1998), Carnitinverlust, Lipidakkumulation in den Muskelfasern (Dalakas et al., 1994) und oxidativer Stress (de la Asuncion et al., 1998) eine größere Rolle.

Therapeutisch wird in erster Linie eine HAART-Umstellung durchgeführt, zusätzlich können versuchsweise Antioxidantien wie Vitamin C und E (de la Asuncion et al., 1998) oder L-Carnitin (Semino-Mora et al., 1994 a, b) eingesetzt werden. Persistierende Beschwerden sprechen auf Prednisolon an (Moyle, 2000).

2.2.3.5 Hämatologische Veränderungen

In vitro konnten toxische Wirkungen von Zidovudin, Zalcitabin, Didanosin und Stavudin auf hämatopoetische Stammzellen beobachtet werden (Lutton et al., 1990; Faraj et al., 1994; Dornsife und Averett, 1996; Fowler et al., 1996). Nicht alle Medikamente verursachen jedoch die gleichen klinischen Bilder.

So wird Thrombozytopenie als Folge von Therapie mit Zidovudin (Luster et al., 1991), Zalcitabin (Chen und Cheng, 1989; Luster et al., 1991) und Didanosin (Lor und Liu, 1993) beobachtet, Neutropenie tritt unter Therapie mit Zidovudin und Zalcitabin auf (Volberding et al., 1990; Luster et al., 1991; Brinkmann et al., 1998).

Fast immer kommt es unter ART insbesondere mit Stavudin und Zidovudin zur Makrozytose der roten Blutkörperchen, wohl durch Hemmung der Zellteilung der Vorgängerzellen (Eyer-Silva et al., 2001; Volberding et al., 1990; Volberding et al., 1995). Makrozytäre Anämie ist eine Nebenwirkung der Therapie mit Zidovudin und Zalcitabin (Luster et al., 1991). Deswegen wurde vorgeschlagen, das Mean Cellular Volume als Compliance-Marker zu verwenden (Romanelli et al., 2002).

2.2.3.5.1 Pathogenese

Die Pathomechanismen hinter Neutropenie, Thrombozytopenie und Makrozytose sind unklar, man vermutete für Zidovudin einen Einbau in die DNA der unreifen Blutzellen (Sommadossi et al., 1989).

Eine Vielzahl verschiedener Mechanismen ist für Pathogenese der Anämie vorgeschlagen worden. Zidovudin und seine in der Leber gebildeten Metaboliten sind myelotoxisch (Cretton et al., 1991) durch Hemmung der Hämoglobinsynthese (Weidner et al., 1992), einerseits durch Behinderung der Hämsynthese durch Inhibition der α -Aminolävulinsäure-Synthetase (Lutton et al., 1990), andererseits durch Störung der β -Globin-Synthese (Spiga et al. 1999). Darüber hinaus wird Zidovudin direkt in die DNA von Knochenmarkszellen eingebaut (Sommadossi

et al., 1989). Auch eine Down-Regulation von Erythropoetinrezeptoren und eine Inhibition der Proteinkinase konnten in vitro festgestellt werden (Gogu et al., 1995). In Friend Murine Erythroleukämischen Zellen konnte auch eine Verminderung an mitochondrialer DNA und eine Störung der oxidativen Phosphorylierung festgestellt werden. Letzteres geschah aber schon nach so kurzer Zeit (drei Stunden), dass eine Inhibition der Polymerase γ als Ursache wohl nicht in Frage kommt (Hobbs et al., 1995).

Neben den medikamentös bedingten Formen gibt es andere für die HIV-Infektion typische Ursachen: Anämie im Rahmen der chronischen Erkrankung (HIV-Infektion), in Folge von Knochenmarksinfektionen (Parvovirus B 19, Zytomegalievirus, Mykobakterium avium, Cryptococcus neoformans) und von Neoplasien, Malnutrition und Malabsorption, Histiozytose, Myelofibrose, Myelodysplasie und Hämolyse (Moyle, 2002; Volberding et al., 2004).

2.2.3.5.2 Therapie

Anämie stellt bei HIV-Patienten einen unabhängigen prognostischen Marker und einen wichtigen Faktor für die Lebensqualität dar (Moyle, 2002; Volberding et al., 2004). Zuerst sollten behandelbare Anämieursachen (z.B. Eisenmangel, Folsäure- oder Vitamin-B12-Mangel) ausgeschlossen und behandelt werden. Liegen solche nicht vor, ist bei Patienten ohne antiretrovirale Behandlung der Beginn einer HAART angezeigt. Bei Patienten unter HAART mit Hämoglobin < 13 g/dl (Männer) oder < 12 g/dl (Frauen) kann bis zur Normalisierung des Hämoglobins mit Erythropoetin behandelt werden (Volberding et al., 2004). Werden Transfusionen nötig, ist zu beachten, dass sie möglicherweise die HIV-Expression vermehren und die Immunsuppression dadurch verstärken können (Moyle, 2002).

2.2.3.6 Pankreatitis

Eine Pankreatitis bei HIV-Patienten wird meist durch unerwünschte Wirkungen von Medikamenten verursacht. Auch hier spielen die NRTI eine bedeutende Rolle, eine Assoziation besteht vor allem mit Didanosin. Die Letalität ist hoch (Foli et al., 2001; White, 2001; Dieterich, 2003).

Weitere Risikofaktoren sind erhöhte Triglyzeridwerte und pankreatotoxische Begleitmedikation (z.B. Pentamidin, Ribavirin) (White, 2001; Dieterich, 2003).

Im Gegensatz zur akuten Pankreatitis, die ein seltenes Ereignis ist, finden sich bei asymptomatischen Patienten häufig eine erhöhte Lipase und Amylase, die kontrolliert werden sollten (White, 2001).

Auch hier liegt möglicherweise eine mitochondriale Funktionsstörung zugrunde. An mit Didanosin behandelten pankreatischen Zelllinien lässt sich mit Flow Cytometry eine dosisabhängige Abnahme funktionsfähiger Mitochondrien feststellen (Foli et al., 2001).

Die wichtigste therapeutische und prophylaktische Maßnahme ist das Absetzen von Didanosin (Fauci und Lane, 2005).

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Im Zeitraum zwischen April 2003 und Juni 2005 wurden 61 Personen über 18 Jahre für die Studie nach mündlicher und schriftlicher Aufklärung über den Zweck und den Ablauf der Versuche rekrutiert. Die Studie war von der Ethik-Kommission der Ludwig-Maximilians-Universität München geprüft und genehmigt worden. Die Tests fanden in der Infektionsambulanz der Medizinischen Poliklinik Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München statt.

Absolute Ausschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie waren Alkoholabusus, um eine ethanolbedingte Veränderung des Methionin-Stoffwechsels auszuschließen (Mato et al., 1997), eine schwere akute Erkrankung, Einnahme von Mais – und Zuckerrohrprodukten oder Alkohol 24 Stunden vor der Untersuchung, sowie Sport oder Krafttraining 24 Stunden vor der Untersuchung. Bestimmte Pflanzen, wie Mais und Zuckerrohr, können Stoffe mit erhöhtem ¹³C-Gehalt synthetisieren (Ravussin et al., 1979), so dass die Aufnahme solcher Nahrungsmittel das Testergebnis verändert. Körperliche Belastung führt zu vermehrten Fluktuationen im ¹³C-Gehalt der Expirationsluft, so dass physische Ruhe auch während des Tests gewahrt wurde (Schoeller et al., 1977) .

Patienten mit schweren Lebererkrankungen, hepatotoxischer Begleitmedikation oder vorbekannter Erhöhung der Transaminasen über das Zweifache des Referenzwerts sollten auch nicht in die Studie aufgenommen werden, da anderweitig verursachte Leberfunktionsstörungen das Ergebnis des ¹³C-Methionin-Atemtest verfälschen können (Ishii et al., 2001; Spahr et al., 2001 und 2003; Neupert, 2002; DiCampli et al., 2003).

Trotzdem wurden fünf Patienten mit einer chronischen Hepatitis B, davon ein HIV-positiver Patient ohne antiretrovirale Therapie und vier seit mindestens 6 Monaten mit einer stabilen ART behandelte Patienten, sowie drei Patienten mit chronischer Hepatitis C, einer wiederum HIV-positiv ohne ART und zwei seit längerem mit antiretroviralen Medikamenten behandelte Personen, untersucht. Bei diesen Patienten betrug die GOT im Mittel $54 \text{ U/l} \pm 20,1 \text{ U/l}$ (Referenzbereich $<33 \text{ U/l}$), die GPT $78,1 \text{ U/l} \pm 48,1 \text{ U/l}$ (Referenzbereich $<35 \text{ U/l}$) und die γ GT $49,6 \text{ U/l} \pm 30,0 \text{ U/l}$ (Referenzbereich $<38 \text{ U/l}$). Es lagen zum Zeitpunkt der Studie keinerlei Anzeichen für eine Entzündungsaktivität vor. Das C-reaktive Protein und die Leukozyten lagen bei allen diesen Patienten im Normbereich. Das CRP betrug im Mittel $0,18$

mg/dl \pm 0,17 mg/dl (Minimum 0,0 mg/dl, Maximum 0,4 mg/dl, Referenzbereich $<0,5$ mg/dl), die Leukozyten 5,96 G/l \pm 1,40G/l (Minimum 4G/l, Maximum 9G/l, Referenzbereich 4-11 G/l). Der relative Anteil der Lymphozyten betrug im Mittel 37,8% \pm 11,5% (Minimum 23%, Maximum 55%, Referenzbereich 25-40%).

Zusätzlich zum Atemtest wurden verschiedene Laborparameter ermittelt, u.a. Elektrolyte, Leberenzyme, Retentionswerte, Blutfette, Differenzialblutbild und Laktat (vollständige Liste im Anhang 1). Außerdem wurde eine Bestimmung der CD4+-Lymphozyten mittels FACS, der HI-Viruslast mittels PCR und eine Hepatitis-Serologie (falls nicht in den letzten 12 Monaten erfolgt) durchgeführt.

Zur Ermittlung von Lebergröße und Leberstruktur wurde eine Abdomensonographie durchgeführt.

Um einen Eindruck von der regelmäßigen körperlichen Aktivität der Probanden zu bekommen, wurde von jedem Probanden ein Sportfragebogen ausgefüllt (siehe Anhang 2).

Die 61 Studienteilnehmer wurden in vier Gruppen unterteilt:

- 1) HIV-negative Probanden (Gruppe I, n = 8)
- 2) HIV-infizierte, antiretroviral therapienaive Patienten (Gruppe II, n = 7)
- 3) HIV-infizierte Patienten vor und drei Monate nach Neueinstellung auf eine antiretrovirale Therapie (Gruppe III, n = 6)
- 4) HIV-infizierte Patienten mit der gleichen antiretroviralen Therapie seit mindestens sechs Monaten (Gruppe IV, n = 40)

Gruppe IV wurde anhand der verschiedenen Therapieregimes weiter unterteilt in:

- IVa: Kombinationsbehandlung mit Stavudin und Didanosin (d4T/ddI, n = 6)
- IVb: Kombinationbehandlung mit NRTI ohne Stavudin, Didanosin, Zalcitabin (n = 20)
- IVc: Kombination von Stavudin und Lamivudin (d4T/3TC, n = 6)
- IVd: Kombination von Tenofovir und Didanosin (TDF/ddI, n = 8)

3.1.1 Reproduzierbarkeit der Atemtests

Die intraindividuelle Reproduzierbarkeit des Atemtests wurde an Stichproben aus den Gruppen, in denen keine Therapieneueinstellung erfolgte, überprüft. Dazu wurde der ¹³C-Methionin-Atemtest an vier Personen aus Gruppe I, drei Personen aus Gruppe II und sechs Personen aus Gruppe IV im Abstand von drei Monaten zweimal durchgeführt.

Im Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben ergab sich für keine der drei Gruppen ein signifikanter Unterschied (beim üblichen Signifikanzniveau von 0,05) im Zeitverlauf hinsichtlich der kumulativen Dosis des wieder abgeatmeten ^{13}C -Methionins nach 120 Minuten (kum120), des punktuell maximal-abgeatmeten Methionins (DOB_{max}) oder des Zeitintervalls bis zum Erreichen des DOB_{max} (Tab. 1) (Abb. 1).

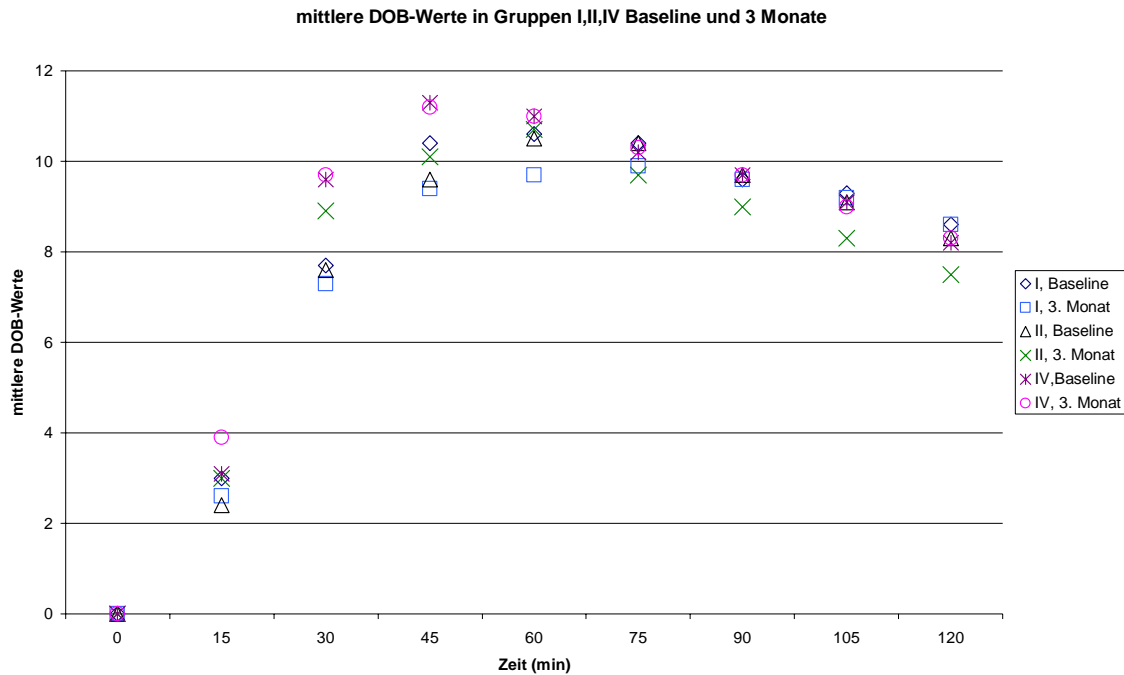


Abb. 1: Darstellung der gemittelten DOB-Kurven der Stichproben aus Gruppe I, II und IV at Baseline und nach drei Monaten.

Diese gute intraindividuelle Reproduzierbarkeit ermöglichte es, in den Gruppen I, II und IV auf die generelle Nachuntersuchung zu verzichten. Bei den Patienten in Gruppe III, die neu auf eine antiretrovirale Therapie eingestellt wurden, wurde der Atemtest nach drei Monaten wiederholt, um zu überprüfen, ob der Effekt der neuen antiretroviralen Therapie durch diesen Test erfasst werden kann.

3.2 Versuchsaufbau

Zur Durchführung der Versuche stellten sich die Patienten nüchtern (d.h. nach einer Fastenperiode von mindestens acht Stunden) vor, da Nahrungsaufnahme den ^{13}C -Gehalt des ausgeatmeten CO_2 verändert (Schoeller et al., 1977). Es erfolgte die Blutentnahme und, nach einstündiger Ruhephase, der ^{13}C -Methionin-Atemtest. Die gewonnenen Atemproben wurden per Massenspektrometrie gemessen. Der ganze Test wurde in der Gruppe der Patienten, die

erstmalig auf eine antiretrovirale Therapie eingestellt wurden, drei Monate nach Therapiebeginn wiederholt.

3.2.1 Der ¹³C-Methionin-Atemtest

Der ¹³C-Methionin-Atemtest soll auf nichtinvasivem Weg Aufschluss über die oxidative Funktion der Mitochondrien in den Hepatozyten geben, dem Hauptort des Methionin-Stoffwechsels (Mato et al., 1997). Dazu wird oral als Marker-Substanz ¹³C-Methionin verabreicht, welches hauptsächlich in der Leber verstoffwechselt wird (Corrales et al., 2002). Das schwere, aber stabile Kohlenstoffisotop ¹³C des Tracers erscheint nach Metabolisierung als ¹³CO₂ in der Ausatemluft, wo es beim Menschen normalerweise nur in äußerst geringen Mengen vorkommt (Wolfe, 1992; Neupert, 2002; Braden et al., 2003; Banasch et al., 2005). Die Anreicherung von ¹³CO₂ in der Expirationsluft nach Verabreichung von ¹³C-Methionin, die infrarotmassenspektrometrisch bestimmt werden kann, hängt von der Funktion der Mitochondrien ab, da sich dort das geschwindigkeitsbestimmende Enzym des Methionin-Stoffwechsels befindet (Spahr et al., 2003).

3.2.1.1 Methionin-Stoffwechsel

Methionin ist eine essentielle, schwefelhaltige, neutrale, glukogene Aminosäure mit einem Molekulargewicht von 149, 2 g/mol (Bremer et al., 1981; Müller et al., 1998; Berg et al., 2002). Im Stoffwechsel spielt sie vor allem in ihrer aktivierten Form S-Adenosyl-Methionin eine wichtige Rolle als Methylgruppendonator, z.B. bei der Bildung von Kreatin, Melatonin oder Adrenalin. Deshalb finden sich die Enzyme des Methionin-Abbaus auch außerhalb der Leber (Petrides, 1998).

Der Hauptabbauweg von Methionin beginnt mit der Aktivierung von Methionin zu S-Adenosylmethionin (Mato et al., 1997; Müller et al., 1998). Hierbei wird der Adenosylrest von ATP auf das Schwefelatom von Methionin übertragen. Dabei werden ein anorganisches Phosphat und Pyrophosphat frei, welches noch in zwei Phosphatreste gespalten wird. Diesen Schritt katalysiert die S-Adosylmethionin-Transferase oder auch Methioninadenosyltransferase (MAT), deren Isoformen auch außerhalb der Leber vorkommen (Corrales et al., 2002).

Bei Übertragung einer CH₃-Gruppe auf einen Akzeptor entsteht S-Adosylhomocystein, welches zu Adenosin und Homocystein hydrolysiert wird. Aus Homocystein lässt sich, neben

dem weiteren Abbau, unter Katalyse durch die Methioninsynthetase (mit Hilfe von Tetrahydrofolsäure als Methylgruppendonator und Cobalamin) oder durch die Betain-Homocystein-Methylase wieder Methionin bilden (Petrides, 1998).

Der weitere Abbau von Homocystein erfordert eine Transsulfurierung. Die SH-Gruppe von Homocystein kondensiert mit Hilfe von Pyridoxalphosphat mit Serin zu Cystathionin, welches durch die ebenfalls Vitamin B₆-abhängige Cystathionase in Cystein und Homoserin aufgespalten wird. Der vollständige Abbau des Methionin kann also nur erfolgen, wenn in ausreichenden Mengen Serin vorhanden ist (Mato et al., 1997).

Cystein wird auf verschiedenen Wegen letztlich zu Pyruvat abgebaut, L-Homoserin wird zu α -Ketobutyrat desaminiert. Die Aminogruppe wird in den Harnstoffzyklus eingeschleust (Mato et al., 1997, Petrides, 1998).

Der Abbau von α -Ketobutyrat erfolgt in der Leber hauptsächlich durch die mitochondriale α -Ketobutyrat-Decarboxylase unter Reduktion von NAD⁺ zu NADH + H⁺ und unter Aktivierung mit Acetyl-Coenzym A zu Propionyl-CoA. Dabei wird CO₂ frei. Diese Reaktion stellt den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt des Methionin-Abbaus in der Leber dar (Spahr et al., 2003; Candelli et al., 2004). Das Enzym α -Ketobutyrat-Decarboxylase findet sich extrahepatisch nicht, so dass hier anstelle der Decarboxylation eine Transaminierung zu α -Aminobutyrat stattfindet (Petrides, 1998).

Bei einem Überangebot von Methionin erfolgt der Abbau zusätzlich über Transaminierung zu α -Methylthio- β -Ketobutyrat und nachfolgende Decarboxylierung zu α -Methylthiopropionyl-CoA. Dieser Nebenweg ist leberspezifisch, erfolgt aber nur unter pathologischen Bedingungen (Spahr et al., 2003; Candelli et al., 2004) (Abb. 2).

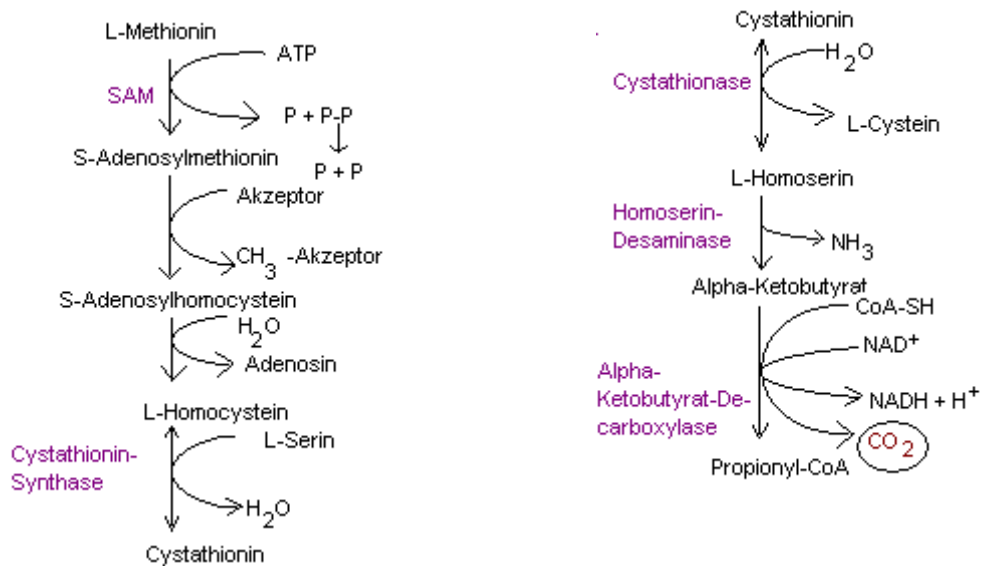


Abb. 2: Methioninstoffwechsel. CO₂ eingeht.

3.2.1.2 Materialien

3.2.1.2.1 ¹³C-Methionin

Die Tracer-Substanz für den ¹³C-Methionin-Atemtest ist an Position 1 mit ¹³C markiertes Methionin (Strukturformel siehe Abb. 3) in >99%iger Anreicherung (Cambridge Isotope Laboratories, Andover, Massachusetts, USA).

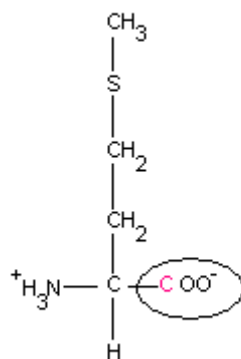


Abb. 3: Strukturformel von Methionin, C₁ eingeht.

¹³C ist ein seltenes, stabiles, d.h. nicht-radioaktives Isotop des Kohlenstoffs (Wolfe, 1992; Neupert, 2002; Braden et al., 2003; Banasch et al., 2005). Für die Probanden besteht bei dem Test somit keine Strahlenexposition.

3.2.1.2.2 Sammelsystem für Atemproben

Zur Gewinnung der Atemproben verwendeten wir GaSampler™-Sets der Firma Quintron, Milwaukee, USA. Die Atemproben der Probanden wurden über an ein T-förmiges Zwischenelement angeschlossene Mundstücke in wiederverwertbare Collection bags (Sammelbeutel) aus Metallfolie mit einem Volumen von 250 ml abgegeben. Im senkrechten Teil des T-Elements befindet sich ein Ventil, das verhindert, dass einmal im Sammelbeutel befindliches Gas wieder austritt. Am dritten freien Anschluß des T-Verbindungsstücks ist ein Plastikbeutel angeschossen, der das Totraumvolumen der Expirationsluft aufnimmt. Seiner Füllung steht ein geringerer Widerstand entgegen als der des Collection bags, so dass er automatisch zuerst aufgeblasen wird, wenn der Proband eine Atemprobe in das Mundstück abgibt. Die Füllung des Sammelbeutels erfordert keine große Anstrengung. Aus den Collection bags wurde dann die Probe mittels eines Vakuumsystems (Vacutainer®) entnommen (Abb. 4).

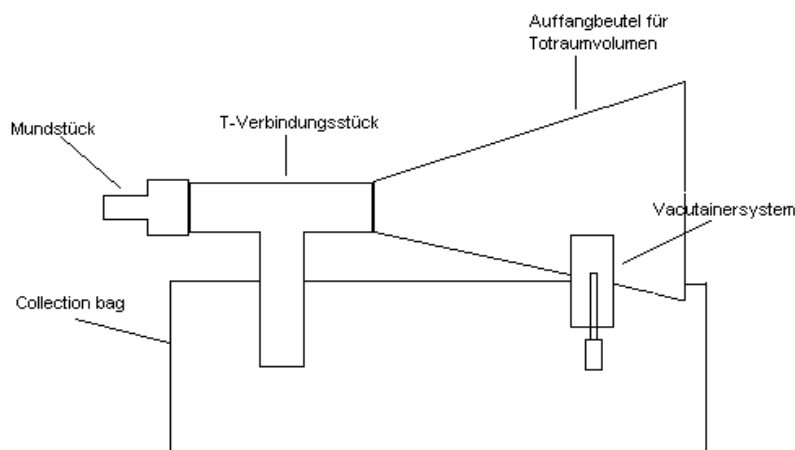


Abb. 4: Sammelsystem für Ausatemluft.

3.2.1.3 Ablauf des Tests

Vor Beginn des Tests wurden die Versuchspersonen gewogen. Das Gewicht bestimmte die Menge an verabreichtem Methionin. Mit einer Feinwaage der Firma Sartorius® wurden zwei Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht von ¹³C-Methionin abgewogen und in 100 ml Leitungswasser gelöst (Armuzzi et al., 2000; Di Campli et al., 2003; Milazzo et al. 2004). Die Probanden befanden sich während des ganzen Versuchs in körperlicher Ruhe.

Vor Verabreichung der in H₂O gelösten Aminosäure (zum Zeitpunkt 0) wurde mit Hilfe des oben beschriebenen Gassammelbeutels, die Pre-Dose-Atemprobe gewonnen. Dies diente

dazu, den für die jeweilige Testperson typischen Anteil von $^{13}\text{CO}_2$ am ausgeatmeten Kohlenstoffdioxid zu ermitteln, der als Basiswert für die Bestimmung der Anreicherung von ^{13}C in der Expirationsluft dient. Danach tranken die Probanden zügig die Methionin-Lösung.

In den folgenden zwei Stunden wurden in Abständen von 15 Minuten (also zu den Zeitpunkten 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 und 120 Minuten) acht weitere Atemproben der Versuchspersonen gewonnen. Die jeweils verwendeten Probenröhrchen wurden mit Zeitpunkt und Nummer der Probenentnahme, Datum, dem Vermerk, ob es sich um die erste Durchführung des Tests (Baseline) oder eine Wiederholungsmessung nach drei Monaten handelte, und dem individuellen Code des Probanden markiert.

Zu Beginn der Untersuchung wurde bei den Versuchspersonen einmalig Blutdruck, Puls und Atemfrequenz bestimmt. Außerdem füllten die Testpersonen den Fragebogen zur Evaluation der körperlichen Aktivität aus. Inklusiv Blutabnahme, darauffolgender Ruhephase und anschließender Durchführung des ^{13}C -Methionin-Atemtests betrug der Zeitaufwand für die Versuchspersonen etwa drei Stunden (Abb. 5).



Abb. 5: Gewinnung der Atemprobe mit Hilfe des Gassammelbeutels.

3.2.2 Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (Isotope Ratio Mass Spectrometry, IRMS)

Die Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie dient zur Analyse der Konzentrationen verschiedener Isotope in einem Stoffgemisch. Mit dieser Methode können z.B. Drogen identifiziert, der Aufbau unbekannter Moleküle erschlossen, Umweltgifte detektiert oder, wie im Fall des ^{13}C -Methionin-Atemtests, nach Gabe von stabilen Tracern die Anreicherung bestimmter Isotope in der Ausatemluft bestimmt werden (Wolfe, 1992).

3.2.2.1 Technische Daten und Funktion

Bei der IRMS wird immer ein Probengas analysiert und mit einem Standardreferenzgas verglichen (Wolfe, 1992). Im vorliegenden Fall wurde der PDB-Standard für das Verhältnis von ^{12}C zu ^{13}C verwendet. Der PDB-Standard beruht auf dem Verhältnis von $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in einem fossilen Kalzium-Carbonat aus der PeeDee-Gebirgsformation in South Carolina, USA (Craig, 1957).

Ein Isotopenverhältnis-Massenspektrometer ist folgendermaßen aufgebaut (Wolfe, 1992): Die zu analysierende Probe und ebenso ein Referenzgas befinden sich zuerst in getrennten Aufbewahrungskammern im Einlassbereich. Hier können Druckunterschiede zwischen Probe und Referenz ausgeglichen werden, um sie als Fehlerquelle auszuschließen. Von hier aus werden die beiden Gase kontinuierlich über Kapillarleitungen in eine Vakuumkammer weitergeleitet.

In der Vakuumkammer werden die ursprünglich vorhandenen Gasmoleküle ionisiert. Das geschieht durch Beschuss mit Elektronen. Die resultierenden positiv geladenen Ionen werden nun mit Hilfe abstoßender, weil ebenfalls positiv geladener Elektroden in den Massen-Analysator oder -Filter geschickt. Durch unterschiedliche Ablenkung in einem Magnetfeld werden die Ionen je nach ihrem Masse/Ladungs-Verhältnis (m/e) in verschiedene Gruppen aufgeteilt. Masse und Ladung sind in der IRMS nicht getrennt voneinander messbar. Da in unserem Fall die Ladung aber gleich 1 zu setzen ist, stellt die Ermittlung von m/e de facto eine Massenbestimmung dar.

Die Differenzierung und Identifizierung der ionisierten Isotope erfolgt nach ihrem Masse/Ladungs-Verhältnis nach folgendem Prinzip: Auf die Ionen wirkt die Kraft F , die sich als Produkt von Masse m und Beschleunigung a ergibt (Hammer und Hammer, 1992; Wolfe, 1992):

$$F = m \cdot a \quad (1)$$

Die Kraft F , die im magnetischen Feld auf die geladenen Teilchen wirkt und sie ablenkt, ist beschreibbar als:

$$F = e \cdot v \cdot B, \quad (2)$$

wobei e die Ladung, und B die Magnetfeldstärke bezeichnen (Hammer und Hammer, 1992; Wolfe, 1992). Die Beschleunigung a ergibt sich als:

$$a = v^2/r. \quad (3)$$

Hier bezeichnet r den Radius der Ablenkung im Magnetfeld, v die Geschwindigkeit (Hammer und Hammer, 1992; Wolfe, 1992). Aus Gleichung (1),(2) und (3) ergibt sich:

$$evB = m \cdot (v^2 / r), \quad (4)$$

die sich folgendermaßen umformen lässt:

$$r = m \cdot v / e \cdot B. \quad (5)$$

Nach dieser Formel ist der Radius der Ablenkung also direkt proportional zur Masse und Geschwindigkeit der Ionen und indirekt proportional zu Ihrer Ladung und der Magnetfeldstärke. Die kinetische Energie des Ions lässt sich folgendermaßen berechnen (Wolfe, 1992):

$$\frac{1}{2} m \cdot v^2 = eU, \quad (6)$$

wobei U die Beschleunigungsspannung bezeichnet. Eliminiert man nun mit Hilfe von Gleichung (3) v und löst nach m/e auf, ergibt sich die Berechnungsmöglichkeit des Masse/Ladung-Verhältnis nach der Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie:

$$m/e = r^2 \cdot B^2 / 2 \cdot U. \quad (7)$$

Nach der so erfolgten Differenzierung werden die Isotopen-Gruppen in den Detektor weitergeleitet. Hier treffen sie (im einfachsten Fall) auf eine Metallplatte, an der sie sich entladen und somit einen messbaren Elektronenfluss erzeugen. Die Genauigkeit ist hierbei so groß, dass einzelne Ionen detektiert werden können. Die Anzahl der auftreffenden Ionen ist direkt proportional zur Größe des erzeugten Stroms (Wolfe, 1992).

Das Verhältnis zweier Isotope zueinander lässt sich durch zwei separate Detektoren bestimmen. Auf jede Detektorplatte trifft ein Ionenstrahl und erzeugt jeweils einen Stromfluss. Das Verhältnis dieser beiden Stromstärken erlaubt einen direkten Rückschluss auf das Verhältnis der verschiedenen Isotope zueinander (Wolfe, 1992).

Das verwendete Massenspektrometer des Typs delta S der Firma Finnigan Mat arbeitet mit einer Beschleunigungsspannung von 3keV. Die Isotopen werden in einem sektorförmigen elektromagnetischen Feld abgelenkt und von Faraday-Kollektoren aufgefangen, die als Detektoren fungieren. Primär wird das Verhältnis von $^{13}\text{CO}_2$ (MW 45) zu $^{12}\text{CO}_2$ (MW 44)

gemessen. Da ein CO₂ mit einer Masse von 45 auch durch Beteiligung eines schweren Sauerstoffisotops mit der Masse 17 (statt, wie meist, 16) zustande kommen kann, wird der Anteil dieses CO₂ indirekt über die Bestimmung von ¹⁸O, welcher in einem bestimmten, bekannten Verhältnis zu ¹⁷O steht, herausgerechnet.

3.2.2.2 Ergebnisberechnung

Isotopenverhältnisse im Probengas (r_p) und im Referenzgas (r_r) sind, wie oben dargelegt, das Ergebnis der Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie. Die Anreicherung des gesuchten Gases in der Ausatemluft (in unserem Fall ¹³CO₂) lässt sich aus dem Unterschied dieser beiden Verhältnisse als der gegen den PDB-Standard normalisierte Delta oder del -Wert (parts per thousand, parts per mil, ‰) berechnen (Schoeller et al., 1977; Wolfe, 1992):

$$\delta (\text{‰}) = 1000 \text{‰} \cdot (r_p - r_r) / r_r. \quad (8)$$

Mit dem Isotopenverhältnis-Massenspektrometer misst man üblicherweise ¹³C-Gehalte von -100 bis +100 ‰, also ¹³C-Gehalte der Ausatemluft von ca. 1,0 – 1,2‰ (Wolfe, 1992).

Um den Anstieg der ¹³CO₂ Anreicherung in der Atemluft nach Aufnahme des Tracers ¹³C-Methionin beurteilen zu können, berechnet man den sogenannten DOB-Wert (delta over base), indem man δ zum Zeitpunkt 0 min (also den „Basiswert“, vor Gabe des Methionins) jeweils vom δ -Wert zu jedem folgenden Messzeitpunkt subtrahiert (Wolfe, 1992):

$$\text{DOB} = \delta (\text{‰})_{\text{Zeitpunkt } x} - \delta (\text{per mil})_{\text{base}}. \quad (9)$$

Die Berechnung der kumulativen Dosis erfordert einige Zwischenschritte. Als erstes wird der Anteil des ¹³C am gesamten Kohlenstoff in der Ausatemluft bestimmt und als Atomprozent ausgedrückt (Ravussin et al., 1979):

$$\text{Atom\%} = {}^{13}\text{C} / ({}^{12}\text{C} + {}^{13}\text{C}) \quad (10)$$

Da gilt:

$$r_p = {}^{13}\text{C} / {}^{12}\text{C}, \quad (11)$$

und für den Kohlenstoffgehalt der Ausatemluft annäherungsweise

$${}^{13}\text{C} + {}^{12}\text{C} = 1, \quad (12)$$

ergibt sich aus Gleichung (10), (11) und (12):

$$\text{Atom}\% = r_p / (1 + r_p). \quad (13)$$

Hiermit kann man, genau wie mit dem δ -Wert, die Anreicherung von ^{13}C in der Ausatemluft angeben, indem man den Basalwert (vor Gabe des Methionins) von jedem folgenden Wert zu jedem Zeitpunkt x subtrahiert. So erhält man den Atom Percent Excess (APE) (Ravussin et al., 1979).

$$\text{APE} = \text{Atom}\%_{\text{Zeitpunkt } x} - \text{Atom}\%_{\text{base}} \quad (14)$$

Die pro Minute abgeatmete Tracer-Menge $^{13}\text{C}_{\text{min}}$ [μmol] ergibt sich als Produkt aus APE und pro Minute abgeatmeter Gesamt-Kohlenstoff-Menge C_{gesamt} :

$$^{13}\text{C}_{\text{min}} = \text{APE} / 100 \cdot C_{\text{gesamt}}. \quad (15)$$

C_{gesamt} lässt sich errechnen aus der geschätzten CO_2 -Abatmung (300 $\text{mmol}/\text{m}^2\text{KOF}/\text{h}$; Ghoois et al., 1988; Braden et al., 2003) und der Körperoberfläche KOF:

$$C_{\text{gesamt}} = \text{KOF} \cdot 300 \text{ mmol}/\text{m}^2\text{KOF}/\text{h}. \quad (16)$$

Für die Bestimmung der Körperoberfläche wurde die Formel nach Haycock (Haycock et al., 1978) benutzt. Aus Körpergewicht KG und Größe G der Probanden ergibt sich die Körperoberfläche als

$$\text{KOF} = 0,024265 \cdot G^{0,3964} \cdot \text{KG}^{0,5378}. \quad (17)$$

Der kumulative Wert an abgeatmeter ^{13}C -Menge $^{13}\text{C}_{\text{kum}}$ errechnet sich als die Summe der zu jedem Messzeitpunkt (0 – 9) abgeatmeten Tracer-Menge $^{13}\text{C}_{\text{min}}$ multipliziert mit dem seit dem letzten Messwert vergangenen Zeitintervall Δt (immer 15 Minuten).

$$^{13}\text{C}_{\text{kum}} = \sum_{n=0}^9 (^{13}\text{C}_{\text{min}} \cdot \Delta t) \quad (18)$$

Um vergleichen zu können, wieviel des eingesetzten Tracers tatsächlich abgeatmet wird, wird die abgeatmetete ^{13}C -Menge zu jedem Zeitpunkt $^{13}\text{C}_{\text{min}}$ als Prozentsatz $^{13}\text{C}_{\text{min}\%}$ der eingesetzten Tracerdosis TD [μmol] angegeben.

$$^{13}\text{C}_{\text{min}\%} = ^{13}\text{C}_{\text{min}} / \text{TD} \quad (19)$$

Für die Berechnung von TD braucht man die Menge an eingesetzten Methionin N [μmol], die man aus dem MW von Methionin = 149,2 mg/mmol (Bremer et al., 1981) und der gewichtsabhängig bemessenen Dosis von Methionin M erhält:

$$N [\mu\text{mol}] = 1000 \cdot M [\text{mg}] / 149,21 \text{ mg/mmol.} \quad (20)$$

TD ergibt sich als Produkt von N und des wirklich als Tracer wirksamen Anteils am ^{13}C T_{real}

$$\text{TD} [\mu\text{mol}] = N \cdot T_{\text{real}} / 100, \quad (21)$$

Wobei sich T_{real} aus Differenz der Anreicherung von ^{13}C -Methionin im Tracer-Methionin (mindestens 99%) und dem Atomprozentwert zum Zeitpunkt 0 (vor Methioningabe) ergibt, da ja auch ohne Tracergabe diese (geringe) Menge ^{13}C in der Ausatemluft vorhanden ist.

Aus den so berechneten einzelnen Prozent/Dosis $^{13}\text{C}_{\text{min}\%}$ zu jedem Messzeitpunkt lässt sich analog zur kumulativen Dosis $^{13}\text{C}_{\text{kum}}$ die kumulative Dosis in Prozent $^{13}\text{C}_{\text{kum}\%}$ errechnen:

$$^{13}\text{C}_{\text{kum}\%} = \sum_{n=0}^9 (^{13}\text{C}_{\text{min}\%} \cdot \Delta t) \quad (22)$$

3.3 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Programms SPSS[®], Version 11.5 für Windows[®]. Die Fallzahlschätzung erfolgte mit Power and Sample Size Calculation[®], Version 2.1.31.

Die Fallzahl ergab sich nach einer Fallzahlschätzung aus den Mittelwerten der Kontrollgruppe für den maximalen DOB-Wert (DOB_{max}). Bei einem Signifikanzniveau von 0,05 und einer Power von 0,8 sollte jede Gruppe mindestens sechs Teilnehmer umfassen.

Um zu bestimmen, ob Normalverteilung vorlag, wurden P-P-Plots angelegt.

Zur Untersuchung von Unterschieden in der Lage der Verteilungen (und damit der Mittelwerte) der Testwerte im Zeitverlauf innerhalb einer Gruppe wurde der Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben verwendet (Voß et al., 2004).

Zum Mittelwertsvergleich der Atemtestergebnisse vor und nach Ablauf von drei Monaten wurde der t-Test für verbundene Stichproben angewandt (Voß et al., 2004).

Zum Vergleich von immer zwei Studiengruppen hinsichtlich der Lage der Verteilung der Atemtestergebnisse wurde der Wilcoxon-Test für unverbundene Stichproben angewendet (Voß et al., 2004).

Mittelwertsvergleiche zwischen zwei Studiengruppen wurden mit dem t-Test für unverbundene Stichproben angestellt (Voß et al. 2004).

Ob sich alle Stichproben in ihrer Verteilung (und damit wieder in den Mittelwerten ihrer Testergebnisse) unterscheiden, wurde mit dem Kruskal-Wallis-Test überprüft. Dieser Test gehört zu den verteilungsfreien Verfahren, setzt also keine Normalverteilung voraus (Voß et al., 2004).

Korrelationen zwischen Atemtestergebnissen und stetigen Merkmalen (wie beispielsweise Laborwerte, Alter etc.) wurden mit dem Korrelationskoeffizienten nach Pearson untersucht und auf Signifikanz überprüft (Voß et al., 2004).

Zur Überprüfung der Unabhängigkeit zweier Variablen voneinander, wurden Vierfelder-Chi-Quadrat-Tests durchgeführt.

Einflüsse klinischer oder laborchemischer dichotom-verteilter Variablen auf den Atemtest wurden mit Hilfe von bivariaten Regressionsanalysen untersucht (Voß et al., 2004).

Ergab sich in Korrelationen oder bivariaten Regressionsanalysen ein signifikanter Zusammenhang mit dem Atemtest, wurden multivariate Regressionanalysen durchgeführt, um entscheidende Einflussfaktoren zu eruieren (Voß et al., 2004).

Ausreißer wurden mit Hilfe von Scatterplots identifiziert und von statistischen Analysen ausgeschlossen.

4 Ergebnisse

4.1 Studienpopulation

4.1.1 Gruppenzusammensetzung

Es wurden 61 Probanden untersucht, 49 Männer und zwölf Frauen. Das durchschnittliche Alter aller Studienteilnehmer betrug 43 Jahre (\pm 11 Jahre, min. 21, max. 73) (Tab. 2). Acht Teilnehmer der Studie waren HIV-negativ und bildeten die Kontrollgruppe. Von den 53 HIV-infizierten Probanden wurden 40 Patienten mit einer ART behandelt und 13 erhielten bisher keine antiretrovirale Therapie. Von den 13 Patienten ohne antiretrovirale Therapie wurde bei sechs nach der Anfangsuntersuchung mit dem ^{13}C -Methionin-Atemtest erstmals mit einer antiretroviralen Behandlung begonnen.

Die Gruppe der HIV-negativen Versuchspersonen bestand aus sechs Männern und zwei Frauen. Das Durchschnittsalter hier betrug 35 Jahre (\pm 15 Jahre, minimal 21, maximal 64 Jahre) (Tab. 2). Bei einem der Probanden bestand eine medikamentös behandelte arterielle Hypertonie und Hyperlipidämie, die mit Hydrochlorothiazid 25 mg, Ramipril 10 mg und Pravastatin 20 mg behandelt wurden. Weitere Vorerkrankungen waren in dieser Gruppe nicht bekannt.

Unter den HIV-positiven, bislang nicht antiretroviral therapierten Patienten befanden sich zwölf Männer und eine Frau. Der Altersmittelwert lag bei 42 Jahren (\pm 8 Jahren, 29-56 Jahre). Ihre HIV-Infektion war im Mittel seit 73 Monaten (\pm 86 Monaten, 0-239 Monaten) bekannt. Die niedrigste, je ermittelte CD4-Zellzahl (CD4-Nadir) betrug durchschnittlich 179 Zellen/ μl (\pm 110 Zellen/ μl , 1-379 Zellen/ μl). Zu Studienbeginn wurde eine durchschnittliche CD4-Zellzahl von 253 Zellen/ μl (\pm 133 Zellen/ μl , 14-460 Zellen/ μl) und eine mittlere HI-Viruslast von 100127 cp/ml (\pm 164891 cp/ml, Minimum 178, Maximum 501187 cp/ml) gemessen (Tab. 2). Sechs dieser Patienten (fünf Männer und eine Frau) wurden während der Studie erstmalig auf eine antiretrovirale Therapie eingestellt.

In der Gruppe der HIV-Patienten unter stabiler antiretroviraler Therapie waren 31 Männer und neun Frauen. Im Mittel betrug das Alter 45 Jahre (\pm 11 Jahre, Minimum 24, Maximum 73). Damit waren sie signifikant älter als die Kontrollgruppe ($p = 0,035$). Ihre mittlere bekannte Infektionsdauer betrug 149 Monate (\pm 51 Monate, 37-251 Monate) und war signifikant länger als die der HIV-Patienten ohne antiretrovirale Behandlung ($p = 0,007$). Der

CD4-Nadir-Wert lag im Mittel bei 200 Zellen/ μ l (\pm 141 Zellen/ μ l, 4-616 Zellen/ μ l). Zu Studienbeginn wurde eine mittlere CD4-Zellzahl von 498 Zellen/ μ l (\pm 214 Zellen/ μ l, minimal 58, maximal 919 Zellen/ μ l) festgestellt, die signifikant höher war als bei den HIV-positiven Studienteilnehmern ohne antiretrovirale Therapie ($p = 0,001$). Bei 32 Patienten (80%) lag die Viruslast bei der Anfangsuntersuchung unter der Nachweisgrenze des verwendeten Verfahrens von 50 cp/ml. Bei den Patienten mit Viruslasten über der Nachweisgrenze lag die durchschnittliche Viruslast bei 14214 cp/ml (\pm 31926 cp/ml, 58-92000 cp/ml), und damit signifikant niedriger als bei den therapienaiven HIV-Patienten ($p = 0,016$). Die mittlere Therapiedauer lag bei 84 Monaten (\pm 48 Monaten, Minimum 6, Maximum 227 Monaten) (Tab. 2).

23 (58%) der Patienten wurden mit einer Kombination aus Nukleosidischen oder Nukleotidischen Reverse-Transkriptase-Hemmern und Proteaseinhibitoren behandelt, eine Kombination aus nukleosidischen oder nukleotidischen und nicht-nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren erhielten zwölf Patienten (30%). Drei Patienten (8%) wurden mit einem reinen NRTI-Regime behandelt, zwei Patienten (5%) erhielten eine Kombination aus NRTI, NNRTI und PI.

20 Studienteilnehmer (50% der Teilnehmer mit ART) wurden zum Zeitpunkt der Studie mit Stavudin und/oder Didanosin behandelt. In der Vorgeschichte hatten 16 Patienten, die aktuell mit keinem dieser Medikamente behandelt wurden, entweder Didanosin und/oder Stavudin erhalten. Insgesamt gab es 29 Patienten, die entweder während der Studie mit Didanosin und/oder Stavudin behandelt wurden, oder früher behandelt worden waren (Tab. 3).

Daten über Begleiterkrankungen und Begleitmedikationen aller HIV-Patienten wurden erhoben (Tab. 4 und 5).

4.1.2 Polyneuropathie

Insgesamt 14 HIV-positiv Studienteilnehmer beschrieben Symptome einer Polyneuropathie mit Kribbelparästhesien, einschließenden, lanzinierenden Schmerzen oder Gangunsicherheit. 13 dieser Patienten erhielten eine stabile antiretrovirale Therapie, eine bislang therapienaive Patientin war seit mehreren Jahren an Diabetes mellitus II erkrankt. Alkoholabusus war bei keinem der Patienten bekannt, ebenso wenig eine Therapie mit anderen neurotoxischen Medikamenten als den NRTI. Acht der Patienten mit neuropathischen Beschwerden (57%) hatten noch nie eine Therapie mit einem der als besonders neurotoxisch geltenden NRTI

Didanosin, Stavudin oder Zalcitabin erhalten. Didanosin nahmen aktuell zwei Patienten ein, Stavudin und Zalcitabin keiner. In der Vorgeschichte war bei vier Patienten eine Vorbehandlung mit Stavudin, bei einem eine mit Didanosin bekannt (Tab. 6).

4.1.3 Lipodystrophie

Eine Lipodystrophie hatten 22 der HIV-positiven Probanden unter stabiler antiretroviraler Therapie, davon zeigten zehn Patienten eine faziale, periphere oder kombinierte Lipoatrophie, drei eine stammbetonte Lipoakkumulation und neun sowohl Zeichen der Lipoatrophie als auch der Lipoakkumulation (Tab 7).

Bezüglich der Risikofaktoren Alter, Gesamttherapiedauer, Dauer der Therapie mit Stavudin, Zidovudin oder einem Proteaseinhibitor, HI-Viruslast und CD4-Status gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen.

4.1.4 Sonographische Untersuchung der Leber

Eine sonographisch diagnostizierte Steatosis hepatis (eine histologische Untersuchung der Leber wurde nicht durchgeführt) hatten insgesamt vier HIV-positive Studienteilnehmer, darunter eine ART-naive Patientin (die an Diabetes mellitus Typ II erkrankt war) und drei unter antiretroviraler Therapie, darunter ein Fall mit chronischer Hepatitis B-Co-Infektion. Eine HCV-Infektion hatte keiner dieser Patienten (Tab. 8).

4.1.5 Hepatitis-Co-Infektion

Acht HIV-positive Probanden hatten eine bekannte chronische Hepatitis B oder C, davon zwei ohne antiretrovirale Therapie und sechs unter stabiler Therapie (Studiengruppe IV). Drei der Hepatitis-Patienten aus Gruppe IV hatten sonographische Auffälligkeiten im Sinne eines diffusen Leberparenchymschadens, einer eine Steatosis hepatis. Alle Patienten mit sonographischen Auffälligkeiten waren an einer chronischen Hepatitis B erkrankt (Tab. 9).

Transaminasenerhöhungen über den zweifachen Normbereich wiesen vier der Patienten mit chronischer Hepatitis auf, davon waren drei zusätzlich mit Hepatitis B infiziert, einer mit Hepatitis C. Alle waren antiretroviral behandelt. Milde Transaminasenanstiege (unterhalb des zweifachen Normbereichs) zeigten auch die beiden anderen Hepatitis-infizierten HAART-Patienten. Die Transaminasen der ART-naiven Patienten mit Hepatitis-Co-Infektion lagen im Referenzbereich.

4.1.6 Serumlaktat

Eine Laktaterhöhung, definiert als Serumlaktat $>2,2$ mmol/l, wurde bei insgesamt acht Probanden festgestellt. Davon war einer HIV-positiv ohne Therapie (Serumlaktat 2,3 mmol/l) und sieben HIV-positiv unter HAART. Drei erhielten aktuell eine Therapie mit Stavudin und/oder Didanosin.

4.2 Test auf Normalverteilung

Hinsichtlich der Atemtestdaten ergab sich für alle Gruppen Normalverteilung nach den angefertigten P-P-Plots.

4.3 Vergleich der Atemtestergebnisse zu jedem Messzeitpunkt

Für den Delta-over-Baseline-Wert (DOB) und die kumulative Wiederfindungsrate zu jedem Messzeitpunkt bei HIV-negativen Probanden, HIV-positiven, therapienaive Patienten und HIV-Patienten unter ART ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bei einem Signifikanzniveau von 0,05. (Abb. 6 und 7)

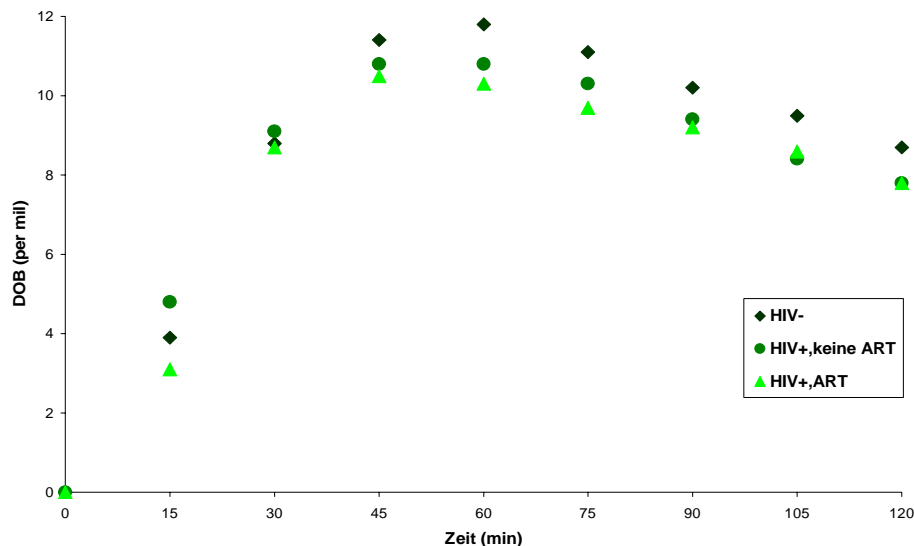


Abb. 6: Mittelwertskurven des DOB-Werts bei HIV-negativen (HIV-), HIV-positiven therapienaiven (HIV+, ART-) und HIV-positiven therapierten Probanden (HIV+, ART+).

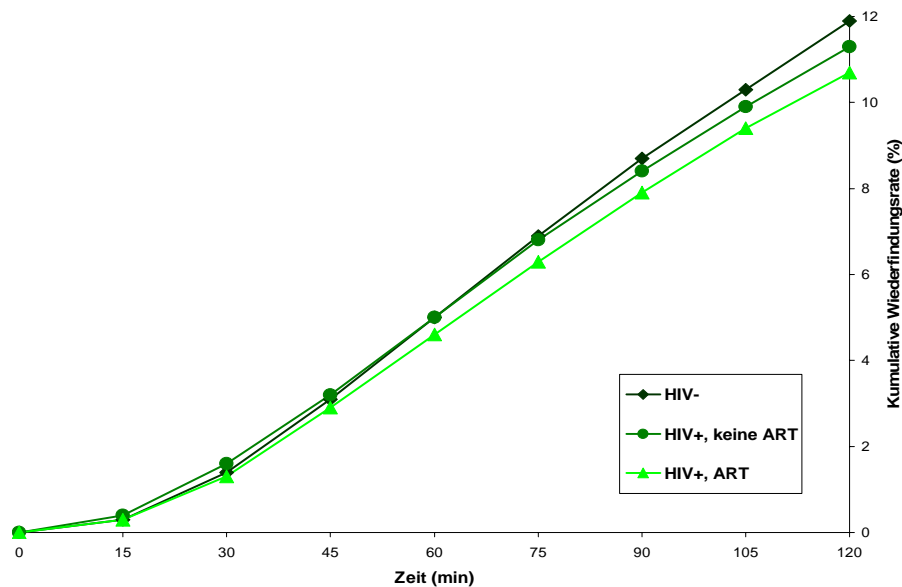


Abb. 7: Mittelwertskurven der kumulativen Wiederfindungsrate bei HIV-negativen (HIV-), HIV-positiven therapienaiven (HIV+, ART-) und HIV-positiven therapierten Probanden (HIV+, ART+).

4.4 Maximale DOB-Werte, Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} und kumulative Wiederfindungsrate nach 120 min

Die Probanden wurden als Maß für die mitochondriale Funktion der Hepatozyten hinsichtlich der Mittelwerte des maximalen DOB-Werts, des Zeitpunkts von DOB_{max} und ihrer kumulativen Wiederfindungsrate nach 120 Minuten verglichen. Hierbei ergab sich zwar ein Trend (der maximale DOB-Wert und die kumulative Wiederfindungsrate sind in der HIV-negativen Kontrollgruppe am höchsten und die Zeit bis zum Erreichen des maximalen DOB-Werts am geringsten, die mitochondriale Funktion der Hepatozyten am besten, Abb. 8), bei einem Signifikanzniveau von 0,05 jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen HIV-negativen Probanden und HIV-positiven Versuchspersonen ohne antiretrovirale Therapie, therapienaiven HIV-Patienten und Patienten unter ART (Tab. 10).

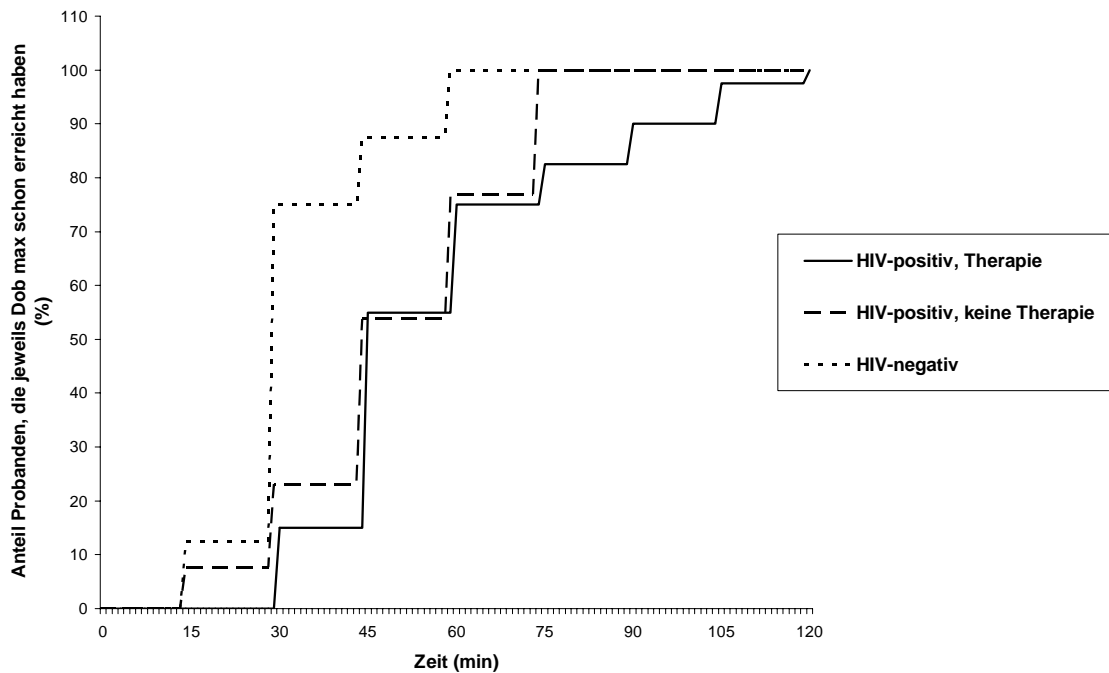


Abb. 8: Prozentualer Anteil der Probanden in jeder Gruppe, die zu jedem Meßzeitpunkt bereits DOB_{max} erreicht haben.

4.5 Verschiedene antiretrovirale Kombinationen im Vergleich

Innerhalb der Gruppe der therapierten Patienten ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit verschiedenen definierten Therapieformen. Es fiel jedoch auf, dass die Gruppe der Patienten unter ART ohne Stavudin oder Didanosin den höchsten mittleren DOB-Wert und die höchste kumulative Wiederfindungsrate hatte (Tab. 11).

Es ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen mit Stavudin (d4T) und/oder Didanosin (ddI) behandelten HIV-Patienten und Probanden unter beliebiger anderer ART (Tab. 12).

Ebenso wenig zeigte sich ein Mittelwerts- oder Verteilungsunterschied zwischen HIV-Patienten, die aktuell oder in ihrer Vorgeschichte mit Stavudin oder Didanosin behandelt wurden, und solchen mit anderer ART (Tab. 13).

4.6 Atemtest vor und nach Therapieeinstellung

In Gruppe III zeigte sich nach drei Monaten eine signifikant längere Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} ($p = 0,045$; Tab.14) gegenüber der Messung vor Therapiebeginn. Hinsichtlich

DOB_{max} und der kumulativen Wiederfindungsrate nach 120 Minuten ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (Tab. 14).

4.7 Einfluss von nichtnukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren und Proteaseinhibitoren auf den Atemtest

Um den Einfluss von Proteaseinhibitoren und nichtnukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren auf den Atemtest zu untersuchen, wurden Patienten unter antiretroviraler Therapie mit einem oder mehreren Proteaseinhibitoren bzw. einem oder mehreren NNRTI mit Patienten unter Proteasehemmer-, bzw. NNRTI-freien Therapieregimes hinsichtlich DOB_{max}, kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten und Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} verglichen. Es gab keine signifikanten Unterschiede (Tab. 15).

4.8 Atemtest bei Lipodystrophie

Patienten mit isolierter Lipoakkumulation wiesen einen signifikant niedrigeren maximalen Delta-over-Base-Wert auf als antiretroviral-behandelte HIV-positive Studienteilnehmer ohne Lipoakkumulation (9,84 vs. 11,98; $p = 0,042$). Allerdings konnten nur drei Patienten mit isolierter Lipoakkumulation untersucht werden.

Keine Unterschiede ergaben sich im Vergleich mit therapienaiven HIV-Patienten, der gesunden Kontrollgruppe oder Patienten mit Lipoatrophie.

Patienten mit Lipoatrophie zeigten keine signifikant anderen Atemtestergebnisse als HIV-Patienten mit und ohne ART ohne Lipoatrophie oder die gesunde Kontrollgruppe.

4.9 Atemtest bei Polyneuropathie

Die Studienteilnehmer mit einer Polyneuropathie (14 HIV-Patienten, einer davon therapienaiv) zeigten keine signifikanten Unterschiede bezüglich DOB_{max}, der Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} oder der kumulativen Wiederfindungsrate nach 120 Minuten gegenüber HIV-Patienten ohne Polyneuropathie.

4.10 Atemtestergebnisse und Serumlaktatspiegel

Die Patienten mit einer Hyperlaktatämie ($n = 7$, Laktat $> 2,2$ mmol/l) unter antiretroviraler Therapie zeigten keine signifikant unterschiedlichen Ergebnisse im Atemtest verglichen mit HIV-Patienten unter HAART ohne Laktaterhöhung. Diese Patienten hatten jedoch eine im Vergleich mit der gesunden Kontrollgruppe signifikant verminderte kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten ($p = 0,038$) sowie eine signifikant längere Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} ($p = 0,048$).

Zwischen dem Serumlaktatspiegel und DOB_{max} sowie der kumulativen Wiederfindungsrate nach 120 min stellte man im Gesamtkollektiv eine signifikante, schwache negative Korrelation fest (Tab. 16).

Ebenso zeigte sich ein signifikanter, negativer Zusammenhang zwischen DOB_{max} und kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten und Serumlaktatlevel in der Gruppe aller HIV-positiver Probanden (Tab. 16).

In der Gruppe der antiretroviral ohne Stavudin oder Didanosin behandelten Patienten ergab sich eine signifikante negative Korrelation zwischen kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten und Laktatlevel im Serum (Tab. 16).

4.11 Einfluss einer Hepatitis-Co-Infektion auf den Atemtest

Im Vergleich mit den HIV-positiven und HIV-negativen Studienteilnehmern ohne chronische Hepatitis-Co-Infektion zeigten die Patienten mit einer chronischen Hepatitis eine signifikant verlängerte Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} (77 ± 19 Minuten vs. 52 ± 21 Minuten; $p = 0,003$).

Eine Hepatitis-Co-Infektion zeigte zudem einen signifikanten positiven Einfluss auf die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} im Gesamtkollektiv (Steigungskoeffizient 25,08; Bestimmtheitsmaß $R^2 = 0,155$; $p = 0,002$), in der Gruppe aller HIV-Patienten (Steigungskoeffizient 24,54; $R^2 = 0,154$, $p = 0,004$), sowie in der Gruppe aller Patienten unter antiretroviraler Therapie (Steigungskoeffizient 26,18; $R^2 = 0,160$; $p = 0,11$).

Patienten mit chronischer Hepatitis und stark (über das Zweifache des oberen Referenzwerts) erhöhten Transaminasen zeigten keine signifikant unterschiedlichen Ergebnisse im Atemtest

verglichen mit HIV-Patienten mit Hepatitis-Co-Infektion ohne oder mit nur geringer Transaminasenerhöhung.

Auch Patienten mit chronischer Hepatitis und sonographischen Veränderungen im Sinne eines diffusen Leberparenchymschadens oder einer Steatosis hepatis zeigten keine signifikanten Unterschiede in den Atemtestergebnissen verglichen mit Patienten mit chronischer Hepatitis ohne sonographisch veränderter Leber.

Da die Atemtest-Ergebnisse von Patienten mit Hepatitis-Co-Infektion sich signifikant von den Ergebnissen der anderen Studienteilnehmer unterschieden, wurden alle Analysen unter Ausschluss der Hepatitispatienten wiederholt. Die Ergebnisse blieben in der Aussage gleich.

4.12 Zusammenhang laborchemischer und klinischer Variablen mit den Ergebnissen des Atemtests

Es wurden Korrelationen und uni- und multivariate Regressionsanalysen zwischen den Ergebnissen des Atemtests (DOB_{max} , kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten und Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max}) und verschiedenen klinischen und laborchemischen Variablen untersucht.

Kein statistisch signifikanter Zusammenhang mit dem Atemtest ergab sich für CD4-Zellzahl zu Studienbeginn, CD4-Nadir, Viruslast, Infektionsdauer, Therapiedauer, Bewegungsverhalten und Serumglukose.

4.12.1 Korrelation mit dem Alter

Bezogen auf das ganze Kollektiv bestand eine signifikante, aber schwache negative Korrelation zwischen der kumulativen Wiederfindungsrate nach 120 Minuten und dem Alter der Probanden (Korrelationskoeffizient nach Pearson $PK = -0,27$; $p = 0,043$).

4.12.2 Sonographischer Befund der Leber

Eine sonographisch beschriebene Steatosis hepatis zeigte im Gesamtkollektiv einen signifikanten negativen Einfluss auf DOB_{max} (Steigungskoeffizient $-3,51$; Bestimmtheitsmaß $R^2 = 0,067$; $p = 0,045$) und die kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten (Steigungskoeffizient $-3,69$; $R^2 = 0,080$; $p = 0,028$).

4.12.3 Korrelation mit der Höhe der Transaminasen

Im Gesamtkollektiv zeigte die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} eine statistisch signifikante positive Korrelation mit GOT (Pearson'scher Korrelationskoeffizient 0,37; $p = 0,004$) und GPT (Pearson-Koeffizient 0,40; $p = 0,002$).

Dieser Zusammenhang konnte bei der statistischen Analyse in den einzelnen Untergruppen (HIV-negative Probanden, therapienaive HIV-Patienten, HIV-Patienten unter antiretroviraler Therapie) nicht festgestellt werden.

4.12.4 Korrelation mit dem Körpermassenindex

Im Gesamtkollektiv ergab sich eine schwache negative Korrelation zwischen der kumulativen Wiederfindungsrate und dem BMI, sowie eine schwache positive Korrelation zwischen Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} und dem Body-Mass-Index (Tab. 17).

Bei Untersuchung aller HIV-positiven Patienten zeigte sich ebenfalls eine negative Korrelation zwischen BMI und der kumulativen Wiederfindungsrate nach 120 Minuten, sowie eine positive Korrelation zwischen der Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} und dem BMI (Tab. 17).

In der Gruppe aller therapierten HIV-Patienten zeigte sich eine schwache positive Korrelation zwischen der Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} und dem Body-Mass-Index (Tab. 17).

Eine signifikante positive Korrelation von BMI und der Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} bestand auch in der Gruppe aller Patienten, die aktuell mit Stavudin oder Didanosin behandelt wurden, und bei allen Patienten, die jemals (aktuell oder zu einem früheren Zeitpunkt) Stavudin oder Didanosin erhalten hatten (Tab. 17).

Keine signifikanten Korrelationen zeigten sich bei den HIV-negativen Probanden und in der Gruppe der HIV-Patienten ohne antiretrovirale Therapie.

4.12.5 Korrelation mit den Serumlipidwerten

Im Gesamtkollektiv und in der Gruppe aller HIV-Patienten bestand eine signifikante negative Korrelation zwischen kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten und Triglyzeridspiegel, sowie eine signifikante positive Korrelation zwischen Triglyzeridspiegel und Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} (Tab. 18).

In der Gruppe aller HIV-Patienten zeigte sich eine signifikante negative Korrelation zwischen Triglyzeridlevel und kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten (Tab. 18).

Ein signifikanter negativer Zusammenhang zwischen Triglyzeridspiegel und kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten bestand auch in der Gruppe aller noch nie antiretroviral behandelter HIV-Patienten (Tab. 18).

Keine Korrelationen oder signifikante Einflüsse bestanden zwischen Ergebnissen des Atemtests und dem Triglyzeridlevel bei HIV-negativen Studienteilnehmern und bei HIV-Patienten unter antiretroviraler Therapie.

Gesamtcholesterin, LDL und HDL zeigten keine Korrelationen mit dem ^{13}C -Methionin-Atemtest.

4.12.6 Korrelation mit dem mittleren Erythrozytenvolumen

Im Gesamtkollektiv zeigten sich signifikante negative Korrelationen zwischen DOB_{max} und kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten und dem Mean Cellular Volume (MCV), sowie eine signifikante positive Korrelation zwischen MCV und der Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} (Tab. 19).

In der Gruppe aller HIV-Patienten gab es signifikante negative Korrelationen zwischen MCV und DOB_{max} und der kumulativen Wiederfindungsrate nach 120 Minuten (Tab. 19).

Bei allen HIV-positiven Studienteilnehmern unter antiretroviraler Behandlung zeigte sich ebenfalls eine signifikante negative Korrelation zwischen MCV und maximalem Delta-over-Baseline-Wert und kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten (Tab. 19).

Ein ähnlicher Zusammenhang zeigte sich auch bei allen HIV-Patienten, die früher mit Zidovudin behandelt worden waren. Die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} korrelierte signifikant positiv mit dem MCV (Tab. 19).

Bei Patienten, die zum Zeitpunkt der Untersuchung mit Stavudin behandelt wurden, zeigte sich ebenfalls eine signifikante negative Korrelationen zwischen Mean Cellular Volume und DOB_{max} sowie der kumulativen Wiederfindungsrate nach 120 Minuten (Tab. 19).

Kein Zusammenhang zwischen MCV und Atemtestergebnissen zeigte sich in der HIV-negativen Kontrollgruppe, bei therapienaiven HIV-Patienten, bei Patienten unter aktueller Therapie mit Zidovudin und bei HIV-Patienten die früher Stavudin erhalten hatten.

Studienteilnehmer mit erhöhtem Mean Cellular Volume ($MCV \geq 99$ fl) zeigten eine signifikant niedrigere kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten als Studienteilnehmer mit normalem oder niedrigem MCV ($9,7 \text{ fl} \pm 2,5 \text{ fl}$ vs. $11,4 \text{ fl} \pm 3,3 \text{ fl}$; $p = 0,030$).

Patienten unter Therapie mit Stavudin hatten ein signifikant höheres Mean Cellular Volume als Patienten unter anderer antiretroviraler Therapie ($94 \text{ fl} \pm 6 \text{ fl}$ vs. $102 \text{ fl} \pm 11 \text{ fl}$; $p = 0,032$).

4.12.7 Multivariate Regressionsanalyse

In einem multivariaten Regressionsmodell wurden Alter, Body-Mass-Index, Steatosis hepatis, Laktat, GPT, GOT, Triglyzeride, Hepatitis-Co-Infektion und Mean Cellular Volume untersucht.

Im Gesamtkollektiv beeinflussten diese Faktoren insgesamt signifikant die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{\max} ($p < 0,001$) und die kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten ($p = 0,004$), nicht jedoch den maximalen DOB-Wert ($p = 0,059$). Als unabhängige Einflussfaktoren erwiesen sich für die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{\max} die Triglyzeride ($p_{TG} = 0,007$), der BMI ($p_{BMI} = 0,040$) und eine Hepatitis-Co-Infektion ($p_{HEP} = 0,004$), für die kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten das Mean Cellular Volume ($p_{MCV} = 0,027$).

In der Gruppe aller HIV-Patienten hatte dieses Regressionsmodell einen signifikanten Einfluss auf DOB_{\max} ($p = 0,035$), die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{\max} ($p = 0,001$) und die kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten ($p = 0,002$). Auch hier war das MCV der einzige unabhängige Einflussfaktor auf die kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten ($p_{MCV} = 0,014$). Eine chronische Hepatitis stellte den einzigen unabhängigen Einflussfaktor für die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{\max} dar ($p_{HEP} = 0,005$).

In der Gruppe der therapienaiven HIV-Patienten hatte das Modell als Ganzes keinen signifikanten Einfluss auf DOB_{\max} ($p = 0,148$), die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{\max} ($p = 0,670$) oder die kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten ($p = 0,100$).

Bei HIV-Patienten unter ART hatte das Modell einen signifikanten Einfluss auf DOB_{\max} ($p = 0,032$), die kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten ($p = 0,012$) und auf die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{\max} ($p < 0,001$). Hier stellte das MCV den einzigen unabhängigen Einflussfaktor auf DOB_{\max} ($p_{MCV} = 0,011$) und die kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten dar ($p_{MCV} = 0,006$). Für die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{\max} erwiesen sich der

BMI ($p_{\text{BMI}} = 0,021$) und eine chronische Hepatitis-Co-Infektion ($p_{\text{HEP}} = 0,008$) als unabhängige Einflussfaktoren.

5 Diskussion

Das Ziel dieser Studie war, die hepatische mitochondriale Funktion bei HIV-Patienten mittels des Methionin-Atemtests zu untersuchen. Methionin wurde als Marker gewählt, da das geschwindigkeitsbestimmende Enzym des Methionin-Stoffwechsels mitochondrial lokalisiert ist (Spahr et al, 2003).

Die 61 untersuchten Probanden gliederten sich in vier Gruppen: HIV-negative Probanden, HIV-positive therapienaive Patienten, HIV-positive therapienaive Patienten vor und drei Monate nach Beginn einer antiretroviralen Behandlung und HIV-Patienten unter stabiler antiretroviraler Therapie, die nach ihren Behandlungsregimen in vier Untergruppen untergliedert wurden. Diese Einteilung wurde getroffen, um Einflüsse der HIV-Infektion, der verschiedenen antiretroviralen Therapieregimes und den Effekt des Beginns einer antiretroviralen Therapie auf den ^{13}C -Methionin-Atemtest zu untersuchen.

5.1 Vergleich der Atemtestergebnisse zwischen den Studiengruppen

Der ^{13}C -Methionin-Atemtest wurde bislang noch nicht häufig für Untersuchungen mit HIV-Patienten eingesetzt. Im Folgenden werden daher vor allem zwei Arbeiten zitiert werden, in denen mit dem gleichen Test ebenfalls versucht wurde, mitochondriale Toxizität von NRTI bei HIV-Patienten zu diagnostizieren, wobei im Unterschied zur vorliegenden Untersuchung aber größeres Gewicht auf jeweils einer speziellen Nebenwirkung der NRTI lag. Es handelt sich um Arbeiten von Banasch et al., 2005 und Milazzo et al., 2005.

5.1.1 Einfluss von antiretroviraler Therapie und Nebenwirkungen der HAART

Zwischen HIV-negativer Kontrollgruppe, HIV-positiven Patienten ohne antiretrovirale Behandlung und HIV-Patienten mit stabiler antiretroviraler Therapie fanden sich in unserem Studienkollektiv keine signifikanten Unterschiede bezüglich der analysierten Atemtestdaten (DOB_{max} , Zeitpunkt von DOB_{max} , kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten oder Delta-over-Baseline-Werten). Es ließ sich mit dieser Methode also kein signifikanter Effekt einer antiretroviralen Therapie auf die Atemtestergebnisse nachweisen.

Es zeigte sich aber, dass tendenziell DOB_{max} und die kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten am höchsten bei gesunden Probanden waren, und die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} in dieser Gruppe am geringsten.

Beim Vergleich von HIV-negativen Kontrollen, HIV-positiven therapienaiven Patienten und HIV-Patienten unter antiretroviraler Therapie ohne und mit klinischen Zeichen der Lipoatrophie fanden Banasch et al. ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen HIV-negativen Probanden und HIV-Patienten unter ART ohne klinische Zeichen der Lipoatrophie (Banasch et al., 2005).

Milazzo et al. konnten hingegen eine Beeinträchtigung der hepatischen mitochondrialen Funktion mit Hilfe des ^{13}C -Methionin-Atemtests bei asymptomatischen Patienten unter ART nachweisen. Sie konnten signifikante Unterschiede des DOB_{max} zwischen HIV-negativen Probanden und normolaktämischen Patienten unter HAART feststellen (Milazzo et al., 2005)

Die Arbeiten unterscheiden sich hinsichtlich des untersuchten Patientenkollektivs. Bei Milazzo et al. waren asymptomatische Patienten unter HAART (also Patienten ohne Polyneuropathie, Lipodystrophie oder Hyperlaktatämie) durchschnittlich länger vortherapiert als in unserem Kollektiv oder bei Banasch et al. (Milazzo et al. $6,8 \pm 0,5$ Jahre; Banasch et al. $4,4 \pm 3,8$ Jahre; unsere Studie $4,8 \pm 2,9$ Jahre). Einen Einfluss der Therapiedauer auf das Ergebnis des Atemtests konnte jedoch keine Arbeitsgruppe feststellen.

Bei Milazzo et al. waren asymptomatische Patienten unter ART auch älter ($45,6 \pm 3,8$ Jahre; Banasch et al. $42,3 \pm 8,1$ Jahre; unsere Studie $38,5 \pm 9,3$ Jahre). Wir fanden eine schwache aber signifikante negative Korrelation zwischen der kumulativen Wiederfindungsrate und dem Alter. Es erscheint plausibel, dass die hepatische mitochondriale Funktion mit dem Alter abnimmt. Bei Milazzo et al. wurde dieser Zusammenhang jedoch nicht festgestellt.

Auch bezüglich des Immunstatus unterscheiden sich die asymptomatischen, mit einer ART-behandelten Patienten in den drei Arbeiten. Bei Milazzo et al. war die CD4-Zellzahl durchschnittlich am niedrigsten ($423/\mu l$; Banasch et al. $534/\mu l$; unsere Studie $484/\mu l$).

Die Gruppengrößen waren vergleichbar (Kontrollgruppe: Milazzo et al. 10, Banasch et al. 10, unsere Studie 8 Probanden; therapienaive HIV-Patienten: Milazzo et al. 11, Banasch et al. 15, unsere Studie 13 Patienten; asymptomatische Patienten unter HAART: Milazzo et al. 15, Banasch et al. 15, unsere Studie 11 Patienten; Patienten mit Hyperlaktatämie: Milazzo et al. 6,

unsere Studie 7 Patienten; Patienten mit Lipoatrophie: Banasch et al. 15, unsere Studie 10 Patienten).

Unterschiede bestehen außerdem bezüglich der Darstellung der Atemtestergebnisse. Die kumulative Dosis an wiedergewonnenen ^{13}C bezogen auf das eingesetzte ^{13}C über den gesamten Messzeitraum wird von Milazzo et al., Banasch et al. und auch in unserer Studie angewandt und ist damit direkt vergleichbar. Den Delta-over-baseline-Wert, maximalen Delta-over-baseline-Wert und die Zeit bis zum Erreichen dieses Maximums betrachten wir, sowie auch Milazzo et al. Hier besteht also ebenfalls Vergleichbarkeit. Bei Banasch et al. und Milazzo et al. wird der prozentuale Anteil des eingesetzten ^{13}C pro Stunde verwendet. Da von uns keine solchen Daten ausgewertet wurden, ist ein direkter Ergebnisvergleich bezüglich dieser Daten hier nicht möglich. Wir wählten die kumulative Dosis als prozentualen Anteil am eingesetzten Methionin als Maß für die Gesamtmenge an verstoffwechseltem Methionin, den maximalen DOB-Wert als Zeitpunkt des maximalen Methioninumsatzes und die Zeit bis zum Erreichen dieses Maximums als Maß für die Geschwindigkeit des Anstiegs des Stoffumsatzes. Da die von uns nicht verwendeten Daten aber nach dem gleichen Prinzip wie die kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten berechnet werden (Menge des in einem bestimmten Zeitraum wiedergewonnenem Methionin als Anteil am eingesetzten Methionin), ist nicht von einer höheren Sensitivität der anderen Auswertungsmethode auszugehen.

Sowohl in der Studie von Banasch et al. als auch bei Milazzo et al. wurden gesondert die Atemtestergebnisse von Patienten mit bestimmten klinischen Nebenwirkungen einer antiretroviralen Therapie untersucht.

Banasch et al. konnten bei Patienten unter HAART mit Lipoatrophie eine signifikant verminderte prozentuale Dosis von wiedergewonnenem $^{13}\text{CO}_2$ über die Zeit nachweisen (Banasch et al., 2005). Das kann als Hinweis gedeutet werden, dass der ^{13}C -Methionin-Atemtest in kleinen Gruppen Unterschiede in der hepatischen mitochondrialen Funktion aufzeigen kann, insbesondere dann, wenn bereits Nebenwirkungen aufgetreten sind, die auf die mitochondriale Toxizität von NRTI zurückgeführt werden können.

Lipoatrophe Patienten in unserem Kollektiv zeigten keine signifikant unterschiedlichen Atemtestergebnisse verglichen mit Patienten ohne Lipoatrophie oder der gesunden Kontrollgruppe. Gruppengröße, mittleres Alter der Studienteilnehmer, mittlere Infektionsdauer, mittlere CD4-Zellzahl, mittlere Viruslast und mittlerer Body-Mass-Index waren bei lipoatropen Patienten in unserer Untersuchung und bei Banasch et al.

vergleichbar. Allerdings waren bei Banasch et al. alle lipoatropen Patienten in der Vorgeschichte mit einem oder mehreren der als besonders mitochondrientoxisch geltenden Medikamente Didanosin, Stavudin oder Zalcitabin behandelt worden. Bei uns war das nur bei 60% dieser Patienten der Fall.

Darüber hinaus müssen mitochondriale Schäden im Fettgewebe nicht mit einem Test für die hepatische mitochondriale Funktion nachweisbar sein, da die Beeinträchtigung der Mitochondrien nicht in jedem Gewebe gleichermaßen ausgeprägt sein muss (Cherry, 2006).

Milazzo et al. konnten bei Patienten unter HAART mit Hyperlaktatämie signifikant geringere DOB_{max} -Werte als bei HIV-Patienten ohne erhöhtes Serumlaktat nachweisen (Milazzo et al., 2005).

Wir konnten keinen signifikanten Unterschied zwischen Patienten unter stabiler antiretroviraler Therapie mit Hyperlaktatämie und asymptomatischen Patienten unter antiretroviraler Therapie nachweisen, obwohl Patienten unter antiretroviraler Therapie bei uns im Mittel älter ($53,3 \pm 13,4$ Jahre vs $45,6 \pm 3,8$) und länger vortherapiert ($8,9 \pm 2,0$ Jahre vs. $2,2 \pm 0,6$ Jahre) waren als Patienten bei Milazzo. Die CD4-Zellzahl war bei uns im Mittel höher als bei Milazzo et al. ($624/\mu l$ vs. $280/\mu l$) und die Viruslast lag bei allen unseren Patienten mit Hyperlaktatämie, anders als bei Milazzo et al. unter der Nachweisgrenze.

Angaben zur Vortherapie mit Zalcitabin und Didanosin fehlen in der Studie von Milazzo et al., so dass ein Vergleich hinsichtlich der Exposition mit diesen potentiell mitochondrientoxischen Medikamenten nicht möglich ist.

Allerdings gab keiner unserer Patienten klinische Symptome an, die auf Hyperlaktatämie, zurückzuführen sein können, wohingegen in der Studie von Milazzo et al. immerhin zwei Patienten über starke Müdigkeit und Erbrechen berichteten. Auch die mittleren Serumlaktatlevel der hyperlaktatämischen Patienten lagen bei Milazzo et al. höher als in unserer Untersuchung ($6,3$ mmol/l (3 mmol/l - $8,4$ mmol/l) vs. $3,1$ mmol/l ($2,3$ mmol/l - $3,5$ mmol/l)). Die Hyperlaktatämie war demnach bei den Patienten von Milazzo et al. stärker ausgeprägt, was auf eine stärkere mitochondriale Funktionseinschränkung hinweisen kann.

Die Untersuchungen unterscheiden sich zudem in der Zielsetzung: Für unsere Studie waren nicht speziell Patienten mit klinischen Nebenwirkungen rekrutiert worden, da untersucht werden sollte, ob sich der ^{13}C -Methionin-Atemtest als Screening-Test für mitochondriale Toxizität bei einem gemischten Patientenkollektiv eignet.

Der bereits oben angeführte Trend (DOB_{max} und kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten am höchsten bei gesunden Probanden, Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} hier am geringsten) kann als Hinweis gewertet werden, dass in einer Untersuchung mit mehr Patienten mit manifesten klinischen Nebenwirkungen als Korrelat einer mitochondrialen Schädigung in der Gruppe der HIV-Patienten unter antiretroviraler Therapie signifikante Unterschiede in den Atemtestergebnissen aufgezeigt werden könnten.

5.1.2 Hat die HIV-Infektion einen messbaren Einfluss auf die hepatische mitochondriale Funktion?

In unserem Kollektiv zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Atemtestergebnisse der therapienaiven HIV-Patienten im Vergleich zur HIV-negativen Kontrollgruppe.

Banasch et al. hingegen stellten eine verminderte prozentuale Dosis von wiedergewonnenem $^{13}CO_2$ über die Zeit bei therapienaiven HIV-Patienten gegenüber der HIV-negativen Kontrollgruppe fest (Banasch et al., 2005). Ähnlich wurden in Untersuchungen, in denen der mitochondriale DNA-Gehalt von mononukleären Zellen aus peripherem Blut (Peripheral Blood Mononuclear Cells = PBMCs) analysiert wurde, signifikante Unterschiede im Gehalt an mitochondrialer DNA zwischen therapienaiven HIV-Patienten und gesunden Kontrollen festgestellt (Miró et al., 2004; Maagaard et al., 2006), nicht aber zwischen HIV-Patienten mit und ohne ART.

Die Ergebnisse dieser Studien werden mit direkten toxischen Effekten des HI-Virus auf die Mitochondrien erklärt. In der Untersuchung von Banasch et al. wird dieser Effekt primär durch die ART gebessert, da die HIV-Patienten unter antiretroviraler Therapie ohne klinische Nebenwirkungen keine signifikanten Unterschiede im Atemtest gegenüber gesunden Kontrollen aufwiesen. Beim Auftreten klinischer Symptome verschlechtern sich die Ergebnisse des Atemtests. Nach diesen Daten wird die mitochondriale Toxizität der Nucleosidanaloga primär durch die Reduktion des mitochondrientoxischen Effekts des HI-Virus, der aus der Literatur bekannt ist (Basañez und Zimmerberg, 2001; Jacotot et al., 2001) überlagert. Die mitochondriale Toxizität der nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Hemmer würde demnach mit den oben genannten Methoden erst erfassbar, wenn bereits klinische Auswirkungen vorhanden sind.

In unserer Untersuchung war ein möglicher toxischer Effekt des Human Immunodeficiency Virus auf die Mitochondrien bei HIV-Patienten ohne antiretrovirale Behandlung nicht

nachweisbar, obwohl Alter und Gruppengröße vergleichbar, die mittlere CD4-Zahl bei therapienaiven HIV-Patienten bei uns niedriger (253/ μ l; Banasch et al. 455/ μ l; Maagaard et al. 435/ μ l; Miró et al. 317/ μ l), die mittlere Viruslast höher (100127 cp/ml; Banasch et al. 78500cp/ml; Maagaard et al. 39000 cp/ml; Miró et al. 5000 cp/ml) und die bekannte Infektionsdauer länger (72,5 Monate; Banasch et al. 10,8 Monate; Maagaard et al. 44 Monate; Miró et al. 44 Monate) waren. Eine mögliche Erklärung ist die größere Inhomogenität unseres Studienkollektivs in Hinsicht auf Alter, Geschlechtsverteilung und Begleiterkrankungen (Hepatitis, Diabetes mellitus, Steatosis hepatis), die sich durch alle Studiengruppen zog und wohl eher der klinischen Realität entspricht als die strenge Patientenauswahl in der Studie von Banasch et al., in der auch Patienten mit häufigen Begleiterkrankungen wie Diabetes mellitus, Anämie und Hepatitis ausgeschlossen wurden. Ob der ^{13}C -Methionin-Atemtest eine geeignete diagnostische Methode für mitochondriale Toxizität durch HIV oder NRTI darstellt, kann an einem so stark selektionierten Patientengut nur unzureichend untersucht werden. Wir konnten in unserer Untersuchung zeigen, dass die Ergebnisse des ^{13}C -Methionin-Atemtests von verschiedenen Faktoren beeinflussbar sind (siehe Abschnitte 5.8-5.9), die unabhängig von HIV-Infektion oder NRTI-Therapie auftreten können. Ein Einfluss weiterer, nicht untersuchter Faktoren (z.B. Nikotinabusus) ist denkbar. Somit lässt sich die Interpretation des Tests sicher nicht auf eine einfache Formel reduzieren.

5.2 Verschiedene antiretrovirale Kombinationen im Vergleich

Es wurden vier verschiedene antiretrovirale Therapiekombinationen als Gruppen definiert: Kombinationen mit Stavudin und Didanosin (N = 6), nukleosidbasiertes Regime ohne Stavudin und Didanosin (N = 20), Stavudin und Lamivudin (N = 6), sowie Didanosin und Tenofovir (N = 8).

Signifikante Unterschiede im Ergebnis des ^{13}C -Methionin-Atemtest ließen sich zwischen diesen Gruppen nicht feststellen. Allerdings wies die Gruppe, die weder Stavudin, noch Didanosin erhielt, den höchsten mittleren DOB_{max} und die höchste mittlere kumulative Wiederfindungsrate auf (nicht statistisch signifikant), was mit Beobachtungen übereinstimmt, die Stavudin und Didanosin eine stärkere toxische Wirkung auf die Mitochondrien von Hepatozyten zuschreiben (Kakuda, 2000; Johnson et al., 2001; Lim und Copeland, 2001).

In unsere Untersuchung wurden in jede Therapiegruppe (wie es der klinischen Realität entspricht) sowohl Patienten mit möglicherweise auf NRTI-bedingte mitochondriale Funktionsstörung zurückführbare Nebenwirkungen (Lipodystrophie, Hyperlaktämie, Polyneuropathie), als auch asymptomatische Patienten eingeschlossen. So hatten von sechs Patienten, die mit der als besonders toxisch geltenden Kombination ddI/d4T behandelt wurden, keiner eine Polyneuropathie, einer eine asymptomatische Hyperlaktämie und drei eine Lipodystrophie. Zwei Patienten (33,3%) aus dieser Gruppe hatten keine Nebenwirkungen. In der Gruppe der Patienten ohne Stavudin- und Didanosin-Therapie (also mit relativ „untoxischen“ Therapien) lag dieser Prozentsatz zwar mit 10% deutlich niedriger. Dafür war in dieser Gruppe die Gesamtdauer der antiretroviralen Therapie mit durchschnittlich 7,8 Jahren von allen Gruppen (nicht-signifikant) am längsten (ddI/d4T: 6,5 Jahre; d4T/3TC: 5,4 Jahre; ddI/TDF: 6,4 Jahre). In einer klinischen Studie von Mc Comsey et al. war die Dauer einer NRTI-Therapie der einzige Faktor, der mit Verlust an mitochondrialer DNA in Blutzellen einherging (Mc Comsey et al., 2005 b).

Zudem lag in 45% der Fälle in der Gruppe ohne aktuelle Therapie mit Didanosin oder Stavudin eine Vorbehandlung mit einem oder beiden dieser Medikamente vor (zum Vergleich: ddI/d4T 33,3%, d4T/3TC: 0%, ddI/TDF: 12,5%). Eine mitochondriale Funktionsstörung, die man bei der Therapie ohne Stavudin oder Didanosin mit geringerer Häufigkeit erwartet als bei Patienten unter Therapie mit einem dieser Medikamente, könnte somit durch vorhergehende Therapien bedingt sein, so dass statistisch kein signifikanter Unterschied in den Ergebnissen des ¹³C-Methionin-Atemtest zu eruieren wäre. Dies widerspricht allerdings Ergebnissen verschiedener Studien, in denen eine Zunahme des DNA-Gehalts von Blutzellen (buffy-coat-Zellen oder PBMC), Skelettmuskelzellen und Fettzellen, sowie der Aktivität der mitochondrialen Elektronentransportkette vor und nach NRTI-Pausierung oder Umstellung auf eine Stavudin-freies Regime untersucht wurden. Hier zeigten sich nach Absetzen von Stavudin ein deutlicher Anstieg sowohl an mitochondrialer DNA, als auch an Enzymaktivität der mitochondrialen Elektronentransportkette (Montaner et al., 2003 und 2004; McComsey et al., 2005 a).

Der Effekt unterschiedlicher definierter therapeutischer Regimes auf die hepatischen Mitochondrien in vivo ist mit dem ¹³C-Methionin-Atemtest bisher unseres Wissens nicht untersucht worden, obwohl es eindeutige Hinweise für unterschiedliche Toxizitätsgrade verschiedener NRTIs gibt (Kakuda, 2000).

Diesbezügliche Untersuchungen *in vitro* an verschiedenen Zellreihen (Humanen Hepatoblastomzellen, Skelettmuskelzellen, Zellen des proximalen Nierentubulus) hatten eine dosis-, expositionsdauer- und medikamentenabhängige Depletion von mitochondrialer DNA im Vergleich mit Kontrollzellkulturen gezeigt. Die stärkste Depletion erfolgte durch Zalcitabin, gefolgt von Didanosin, Stavudin und Zidovudin (Birkus et al., 2002; Walker et al., 2002). Bei Walker et al., wurden auch Kombinationen auf ihre mitochondriale Toxizität geprüft, wobei die stärkste Toxizität die Kombination von Zalcitabin und Didanosin entfaltete. Stavudin und Didanosin zeigten keine verstärkte toxische Wirkung auf Mitochondrien. Lamivudin und Zidovudin (eine Kombination, mit der in unserer Untersuchung nur zwei Patienten aktuell therapiert wurden) hingegen waren in Kombination stärker toxisch (Walker et al., 2002). Obwohl *in-vitro*-Ergebnisse nicht ohne weiteres auf die Situation *in vivo* übertragen werden können, bestätigt diese Beobachtung unsere Ergebnisse. Wenn die Kombination aus Didanosin und Stavudin *in vitro* keine stärkere Toxizität entfaltet als jede Substanz für sich, müssen sich auch *in vivo* nicht verstärkt mitochondriale Funktionsstörungen im ^{13}C -Methionin-Atemtest bei Kombination dieser Substanzen zeigen. Dies kann erklären, warum sich in der Gruppe mit Stavudin/Didanosin-Therapie keine signifikant verminderte Ausscheidung von $^{13}\text{CO}_2$ in der Ausatemluft zeigte.

Nach unseren Ergebnissen ließen sich mit dem ^{13}C -Methionin-Atemtest keine unterschiedlich starken Toxizitätsgrade der verschiedenen antiretroviralen Therapien nachweisen. Um den Einfluss von Vortherapien auszuschließen, wären Untersuchungen an Patienten, die erstmalig auf verschiedene Therapien eingestellt werden, nötig, um zu eruieren, ob der ^{13}C -Methionin-Atemtest sensitiv genug ist, solche Unterschiede nachzuweisen. Nach unserer Untersuchung erscheint der ^{13}C -Methionin-Atemtest als geeignet zur Verlaufsbeobachtung bei Ersteinstellung auf eine antiretrovirale Therapie (siehe Abschnitt 5.3). Definierte unterschiedliche Therapieregimes wurden hier jedoch nicht geprüft, da bei keinem unserer neu auf eine Art einzustellenden Patienten die als besonders toxisch geltenden Medikamente eingesetzt wurden. In der HIV-Therapie in Deutschland werden heute nur noch selten die als besonders toxisch geltenden Medikamente in der Primärtherapie eingesetzt. Daher ist eine derartige Untersuchung praktisch zumindest in Deutschland kaum durchzuführen.

5.3 Atemtest vor und nach Beginn einer antiretroviralen Therapie

Patienten, die während der Studie erstmalig auf eine antiretrovirale Behandlung eingestellt wurden, zeigten drei Monate nach Beginn der Therapie eine signifikant längere Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} als vorher.

Wir fanden eine nicht-signifikante Verminderung der mittleren kumulativen Wiederfindungsrate nach 120 Minuten (10,8% vs. 10,3%; $p = 0,686$) nach einer Therapiedauer von drei Monaten. Dies stimmt mit Ergebnissen von Milazzo et al., überein, die in einer longitudinalen Untersuchung auch sechs und zwölf Monate nach Therapieeinstellung keine signifikante Änderung in der kumulativen Dosis nach 120 Minuten feststellten (Milazzo et al., 2006).

Der Zeitpunkt des maximalen Methionin-Umsatzes war somit im Vergleich zur Untersuchung vor Therapiebeginn verzögert, die Gesamtmenge an metabolisiertem Methionin jedoch nicht signifikant vermindert.

Für Kombinationsbehandlungen mit Didanosin und Stavudin gegenüber Zidovudin und Lamivudin jeweils in Kombination mit Nelfinavir und/oder Efavirenz ist in klinischen Studien ein früheres Auftreten klinischer Nebenwirkungen (Polyneuropathie, Pankreatitis, hepatische Funktionsstörungen) beschrieben, die auf mitochondriale Toxizität zurückzuführen sind (Robbins et al., 2003; Shafer et al., 2003).

Diese Untersuchungen weisen darauf hin, dass neben der Anzahl auch die Art der eingesetzten NRTIs die Dauer der Entwicklung einer toxischen Wirkung auf die Mitochondrien beeinflusst. In unserem Kollektiv erhielt kein Patient, der während der Studie auf eine antiretrovirale Therapie eingestellt wurde, Stavudin, Didanosin oder Zidovudin, sondern es wurden nur NRTIs mit niedriger Affinität zu Polymerase γ (Kakuda, 2000; Lewis et al., 2003; Feng et al., 2004) verordnet: Drei Patienten (50%) erhielten 3TC+TDF + PI, zwei Patienten (33,3%) TDF +FTC + NNRTI und ein Patient (16,7%) 3TC+ABC+NNRTI.

Demnach ist denkbar, dass in unserem Kollektiv, entweder die mitochondriale Schädigung nach drei Monaten noch nicht so weit fortgeschritten war, dass auch die Gesamtmenge an metabolisiertem ^{13}C -Methionin (und als Maß dafür die kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten) reduziert wäre, oder es mit den eingesetzten Medikamenten nicht zu einer

relevanten Schädigung der Mitochondrien kommt. Längere Nachuntersuchungen wären hier notwendig.

Der Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} scheint nach unseren Ergebnissen eine Bedeutung als sensitivem frühen Marker für eine beginnende mitochondriale Funktionsstörung (als Hinweis auf einen langsameren Anstieg der Enzymaktivität) zuzukommen, jedoch wären zur Bestätigung dieser These ebenfalls längere Nachuntersuchungen erforderlich.

5.4 Einfluss von Proteaseinhibitoren und nicht-nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren auf das Ergebnis des Methionin-Atemtests

Eine Therapie mit Proteaseinhibitoren oder nichtnukleosidischen Reverse-Transkriptase-Hemmern hat nach unseren Ergebnissen keinen Einfluss auf das Ergebnis des Atemtests.

Für Proteaseinhibitoren und nicht-nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren wird eine mitochondriale Toxizität von einigen Autoren verneint (Gianotti und Lazzarin, 2005). Für Proteaseinhibitoren konnten unter anderem sogar antagonistische Effekte zur mitochondrialen Toxizität von NRTIs gezeigt werden (Matarrese et al., 2003). In einer Untersuchung war aber in vitro eine Fragmentierung und Reduktion von Mitochondrien in Zellkulturen nach Behandlung mit Nelfinavir oder Ritonavir beobachtet worden (Roumier et al., 2006). NNRTIs bewirkten in Zellkulturen eine caspase- und mitochondrienabhängige Apoptose (Pilon et al., 2002).

Bei beiden Medikamentengruppen ist die klinische Bedeutung ihrer Wirkung auf die Mitochondrien nicht völlig geklärt. In den zwei Gruppen gibt es darüber hinaus bekannte hepatotoxische Nebenwirkungen, die auf den ^{13}C -Methionin-Atemtest zusätzlich Einfluss hätten nehmen können (Lemberg et al., 2002). Nach unseren Ergebnissen ließ sich ein Einfluss einer Therapie mit PI oder NNRTI jedoch nicht nachweisen. Eine mitochondriale Toxizität von Proteasehemmern und Nicht-Nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren spielt demnach bei einer Kombinationsbehandlung mit Nukleosidanaloga eine untergeordnete Rolle.

5.5 Atemtest bei Lipodystrophie

Antiretroviral behandelte Probanden mit isolierter Lipoakkumulation (n = 3) wiesen im Vergleich mit HIV-Patienten unter antiretroviraler Therapie ohne Lipoakkumulation einen signifikant verringerten DOB_{max} auf. Probanden mit Lipoatrophie und gemischter Form der Lipodystrophie zeigten keine signifikanten Unterschiede im ^{13}C -Methionin-Atemtest im Vergleich mit Patienten ohne Lipoatrophie oder gemischter Lipodystrophie. Es bestanden keine statistisch signifikanten Unterschiede hinsichtlich Alter, Infektionsdauer, Therapiedauer, Viruslast oder CD4-Zellzahl zu Studienbeginn zwischen Patienten mit Lipoatrophie, Patienten mit Lipoakkumulation und Patienten ohne Lipodystrophie. Bei keinem der Patienten mit Lipoakkumulation lag eine Steatosis hepatis oder eine chronische Hepatitis-Co-Infektion vor, die das Ergebnis hätte beeinflussen können. Nur ein Patient hatte eine potentiell hepatotoxische Begleitmedikation (Beta-Blocker).

Banasch et al. fanden hingegen eine signifikante Reduktion der maximalen wiedergefundenen Dosis über die Zeit im ^{13}C -Methionin-Atemtest bei Patienten unter HAART mit Lipoatrophie gegenüber gesunden Probanden und Patienten unter HAART ohne klinische Zeichen der Fettumverteilung (Banasch et al., 2005). Patienten mit Lipoakkumulation wurden jedoch nicht untersucht.

Die Lipoakkumulation wird bislang eher in Zusammenhang mit Proteaseinhibitortherapie gebracht. Zwei der Patienten mit Lipoakkumulation erhielten zum Zeitpunkt der Datenerhebung eine Therapie mit einem Proteaseinhibitor. Der dritte Patient erhielt eine Therapie mit Didanosin, Tenofovir und NNRTI. Dieser Patient hatte auch in der Vorgeschichte noch nie einen Proteaseinhibitor eingenommen. Bei der geringen Anzahl von Patienten mit reiner Lipoakkumulation in unserer Untersuchung (n=3) ist das Ergebnis allerdings mit größter Zurückhaltung zu werten.

Im Gegensatz zur Lipoakkumulation ist für die Lipoatrophie das Konzept der mitochondrialen Toxizität in einigen Studien untersucht worden (Nolan et al., 2003; Buffet et al., 2005; McComsey et al., 2005 a, b). Buffet et al. konnten mittels quantitativer PCR einen verminderten Gehalt an mitochondrialer DNA in Adipozyten bei HIV-Patienten mit Lipoatrophie gegenüber HIV-negativen Kontrollen zeigen, wobei NRTI-Therapie (nur Stavudin und Didanosin stellten einen isolierten Risikofaktor dar) mit geringerer Menge an mitochondrialer DNA assoziiert waren (Buffet et al., 2005). McComsey et al. fanden eine signifikante Zunahme der mitochondrialen DNA in Fettgewebe und PBMCs nach Isolation

und quantitativer PCR, sowie eine signifikante Zunahme der Fettmasse im DEXA-Scan bei Patienten mit Lipoatrophie nach Therapieumstellung von Stavudin auf entweder Abacavir oder Zidovudin (McComsey et al., 2005 a).

Wir konnten indes keine signifikant unterschiedlichen Ergebnisse im ^{13}C -Methionin-Atemtest bei Patienten unter Therapie mit Didanosin und/oder Stavudin mit einer Form der Lipodystrophie im Vergleich mit der gesunden Kontrollgruppe, mit therapienaiven HIV-Patienten und mit Patienten unter anderer HAART feststellen. Das könnte zum einen an der Gruppengröße liegen (vier Patienten mit einer Form von Lipodystrophie unter Stavudintherapie gegenüber 20 lipoatropen Patienten bei Buffet et al. und 16 bei McComsey et al., sieben unter Didanosin gegenüber 14 bei Buffet et al.). Zum anderen muss der ^{13}C -Methionin-Atemtest – als Funktionstest der hepatischen Mitochondrien – nicht notwendigerweise ein geeigneter Test für mitochondriale Veränderungen im Fettgewebe sein, ebenso wie auch Depletion an mitochondrialer DNA im Fettgewebe nicht notwendigerweise mit Verminderung des mitochondrialen DNA-Gehalts in PBMCs assoziiert sein muss (Cherry et al., 2006).

5.6 Atemtest bei Polyneuropathie

Patienten mit Polyneuropathie zeigten im ^{13}C -Methionin-Atemtest keine signifikant unterschiedlichen Ergebnisse verglichen mit HIV-Patienten unter HAART ohne PNP, therapienaiven HIV-Patienten oder der Kontrollgruppe.

Dalakas et al. fanden einen signifikant verminderten mitochondrialen DNA-Gehalt bei HIV-Patienten unter Therapie mit Zalcitabin (ddC), das in unserem Kollektiv kein Patient erhielt, gegenüber HIV-Patienten mit HIV-assoziiertes Neuropathie, die nie ddC erhalten hatten, sowie Patienten mit Polyneuropathie anderer Genese (Dalakas et al., 2001).

In der Literatur wird eine erhöhte Rate von Fällen von PNP bei HIV-Patienten unter Therapie mit Stavudin und Didanosin verglichen mit Patienten unter Lamivudin/Zidovudin-Therapie beschrieben (Robbins et al., 2003; Shafer et al., 2003; McComsey und Lonergan, 2004). Auch bei uns zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen Exposition mit Didanosin oder Stavudin und Polyneuropathie ($p=0,020$).

Abnahme der mitochondrialen Funktion in der Leber und den peripheren Nerven müssen wegen der Gewebsspezifität der Toxizität der NRTIs und ihrer möglichen Prädiktoren

(Kakuda et al., 2000; Cherry et al., 2006) nicht notwendigerweise korrelieren. Dies kann erklären, warum kein signifikanter Zusammenhang zwischen Vorhandensein von Polyneuropathie und Ergebnissen des Atemtests nachzuweisen war. Bislang fehlen Studien, die vergleichend Mitochondrien in der Leber und im peripheren Nervensystem untersuchen, um zu überprüfen, inwieweit die mitochondriale Funktion oder Dysfunktion unter antiretroviraler Therapie in Leber und peripheren Nerven korrelieren.

5.7 Atemtestergebnisse und Serumlaktatspiegel

Patienten unter beliebiger ART mit Hyperlaktatämie benötigten signifikant mehr Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} und hatten eine signifikant verminderte kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten als die HIV-negative Kontrollgruppe. Hingegen bestanden keine Unterschiede zu Patienten unter HAART ohne Laktaterhöhung und therapienaiven HIV-Patienten.

In der vorliegenden Untersuchung fanden wir zudem eine statistisch signifikante Korrelation zwischen Höhe des Serumlaktatspiegels und DOB_{max} sowie der kumulativen Dosis nach 120 Minuten bezogen auf alle Probanden und in der Gruppe aller HIV-positiven Studienteilnehmer.

In der Gruppe der antiretroviral ohne Stavudin oder Didanosin therapierten Patienten ergab sich eine signifikante negative Korrelation zwischen Serumlaktat und der kumulativen Wiederfindungsrate nach 120 Minuten.

Einen unabhängigen Einflussfaktor auf die Atemtestergebnisse stellte der Laktatspiegel in der multivariaten Analyse jedoch nicht dar.

Milazzo et al. fanden bei therapierten HIV-Patienten mit Hyperlaktatämie einen signifikant verminderten DOB_{max} , sowohl gegenüber der gesunden Kontrollgruppe als auch gegenüber HAART-Patienten mit normalen Serumlaktatleveln (Milazzo et al., 2005). Passend dazu zeigte sich in einer Studie von Montaner et al. ein signifikant vermindertes Verhältnis von mitochondrialer zu nukleärer DNA in peripheren Blutzellen bei hyperlaktämischen Patienten unter HAART gegenüber therapierten HIV-Patienten ohne Laktaterhöhung und gegenüber HIV-negativen Probanden (Montaner et al., 2003). Milazzo et al. definierten aber Hyperlaktatämie als Serumlaktat $\geq 3\text{mmol/l}$ und schlossen Patienten mit einem Serumlaktatspiegel zwischen 2,67 mmol/l und 3 mmol/l von den Analysen aus. Bei uns war

Hyperlaktämie als Serumlaktatspiegel von $> 2,2$ mmol/l definiert. Vier von acht Patienten mit Hyperlaktämie in unserer Studie hatten ein nur gering erhöhtes Serumlaktat zwischen 2,3-2,9 mmol/l. Bei Milazzo war daher zwischen normolaktämischen und hyperlaktämischen Patienten, die in die Analysen einbezogen wurden, eine größere Differenz, die sich als deutlicher Unterschied der Atemtestergebnisse niedergeschlagen haben kann. Bei Montaner et al. wurden nur Patienten mit symptomatischer Hyperlaktämie in den Vergleich des Verhältnisses von nukleärer zu mitochondrialer DNA einbezogen. In unserem Kollektiv war Hyperlaktämie allein durch den erhöhten Serumlaktatspiegel definiert. Symptome zeigte kein Patient.

Signifikante Unterschiede zwischen HIV-Patienten unter HAART mit Hyperlaktämie, HIV-positiven, therapienaiven Patienten und HIV-Patienten unter HAART ohne Hyperlaktämie waren bei uns nicht nachweisbar, was möglicherweise daran liegt, dass auch bei nicht-hyperlaktämischen HIV-Patienten eine mitochondriale Schädigung (durch HIV selbst oder die HAART) vorlag. Da diese Gruppen auch keine signifikanten Unterschiede im Vergleich mit der gesunden Kontrollgruppe aufwiesen, ist jedoch von einer geringeren Beeinträchtigung der hepatischen mitochondrialen Funktion auszugehen.

Die Höhe des Laktatspiegels im Blut hängt vor allem von der Funktion des oxidativen Stoffwechsels der Mitochondrien in Leber und Muskulatur ab (Montaner et al., 2003).

Die Laktaterhöhung ist eine typische Nebenwirkung der Therapie mit NRTI. In der Literatur ist vor allem für Stavudin und die Kombination aus Stavudin und Didanosin ein Risiko für eine Laktaterhöhung beschrieben (Boubaker et al., 2001; ter Hofstede et al., 2004). Durch Hinzugabe eines oder mehrerer weiterer nukleosidischer und nukleotidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitoren wächst das Risiko einer Laktatazidose (Boubaker et al., 2001; Murphy et al., 2003; Montaner et al., 2004). Das gilt selbst für NRTI mit an sich geringem Risiko (Murphy et al., 2003) wie Lamivudin, Abacavir und Tenofovir.

In unserem Kollektiv zeigte sich keine signifikante Korrelation des Laktatspiegels mit den Atemtestergebnissen bei Patienten mit aktueller oder früherer Stavudin-Therapie oder Therapie mit einer Kombination aus Didanosin und Stavudin. Stattdessen ergab sich eine signifikante negative Korrelation zwischen kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten und Serumlaktatspiegel bei Patienten, die weder Stavudin noch Didanosin erhielten und im Gesamtkollektiv.

In der Gruppe von Patienten, die zum Zeitpunkt der Untersuchung ohne Stavudin oder Didanosin behandelt wurden, gab es verschiedene antiretrovirale Therapien. Zudem zeigte sich in dieser Gruppe (nicht signifikant) die längste mittlere Therapiedauer (94 ± 56 Monate; ddi&d4T: 78 ± 32 Monate; d4T&3TC: 64 ± 27 Monate; ddi&TDF: 76 ± 45 Monate) und das höchste mittlere Alter (47 ± 10 Jahre; ddi&d4T: 43 ± 11 Jahre; d4T&3TC: 42 ± 18 Jahre; ddi&TDF: 43 ± 7 Jahre). Möglicherweise liegt hier deswegen eine größere Bandbreite unterschiedlicher Schweregrade von Mitochondrienschäden vor als in den anderen Gruppen. Das könnte einen Grund für die deutliche Korrelation zwischen kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten und Laktatspiegel im Serum darstellen.

Eine weitere mögliche Erklärung für die Signifikanz der Korrelation in der Gruppe ohne Didanosin und Stavudin könnte in der vergleichsweise großen Gruppenstärke ($n = 20$) liegen, die den Trend hin zu weniger toxischen Therapieregimes widerspiegelt.

5.8 Einfluss einer Hepatitis-Co-Infektion auf den Atemtest

HIV-Patienten, die mit dem HBV oder HCV chronisch infiziert waren, zeigten gegenüber HIV-negativen Probanden und HIV-Patienten ohne Hepatitis-Co-Infektion eine signifikant verlängerte Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} , unabhängig von einer sonographisch-sichtbaren Parenchymveränderung oder Transaminasenerhöhung über das Zweifache des Referenzbereichs. Zudem kam einer Hepatitis-Co-Infektion im Gesamtkollektiv, bei allen HIV-Patienten und bei HIV-Patienten unter ART ein signifikanter Einfluss auf die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} zu. In der multivariaten Analyse erwies sich eine Hepatitis-Co-Infektion als unabhängiger Einflussfaktor.

Sonographisch sichtbare Parenchymveränderungen traten bei drei von insgesamt acht Patienten mit chronischer Hepatitis auf. Diese drei Patienten waren alle mit Hepatitis-B-Virus infiziert und erhielten zum Zeitpunkt der Untersuchung eine antiretrovirale Therapie. Transaminasenerhöhungen über das zweifache des Referenzbereichs traten bei ebenfalls drei Patienten auf, die gleichfalls alle mit antiretroviraler Therapie behandelt wurden. Von diesen war einer mit Hepatitis C-Virus infiziert, zwei mit Hepatitis B. Bei diesen beiden Patienten mit Hepatitis B bestand zusätzlich ein sonographisch sichtbarer Leberparenchymschaden.

In der Literatur ist eine vermehrte mitochondriale Toxizität, die sich in häufigerem Auftreten von symptomatischer Hyperlaktämie mit Multiorganversagen äußert, für NRTI in

Kombination mit Ribavirin zur Behandlung einer chronischen Hepatitis C beschrieben (Lafeuillade et al., 2001; Fleischer et al., 2004; Bani-Sadr et al., 2005). In unserem Kollektiv wurde aktuell niemand aufgrund seiner Hepatitis behandelt. Eine asymptomatische Hyperlaktatämie von 3,3 mmol/l trat nur bei einem Patienten mit chronischer Hepatitis B-Co-Infektion auf. Dieser Patient erhielt aktuell eine Therapie mit Tenofovir, Lamivudin und geboostertem Proteaseinhibitor, eigentlich eine Kombination, die mit einem nur geringen Risiko für Laktaterhöhungen assoziiert ist (Birkus et al., 2002).

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Hepatitis-Co-Infektion an sich ein Grund für eine verstärkte mitochondriale Toxizität (in einem Fall assoziiert mit Laktaterhöhung) darstellt, die sich in den Ergebnissen des ^{13}C -Methionin-Atemtests zeigen ließ.

In der Tat gibt es Untersuchungen, die mitochondriale Funktionsstörungen durch Hepatitis B und Hepatitis C-Virus an Zellkulturen beschreiben. Hepatitis B-Virus-X-Protein führt zu einer Abnahme der Enzymaktivitäten der mitochondrialen Elektronentransportkette (Komplex I, II, IV, V), sowie von durch mitochondriale DNA kodierten Untereinheiten der Cyclooxygenase (COX I, II, III) und führt damit zu einer verstärkten Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (Lee et al., 2004). Zudem kommt es zu einer Abnahme des mitochondrialen Membranpotentials und einer Sensibilisierung der Zelle für Apoptosemechanismen ohne direkte Induktion der Apoptose durch das virale Protein (Shirakata und Koike, 2003; Lee et al., 2004). Verschiedene Proteine des HCV (core, E1, NS3, NS4A) führen ebenfalls zu vermehrter Produktion von Sauerstoffradikalen durch Inhibition der mitochondrialen Elektronentransportkette und Veränderung des mitochondrialen Membranpotentials und damit letztlich zur Apoptose der untersuchten Zellen (Korenaga et al., 2005; Machida et al., 2006; Nomura-Takigawa et al., 2006).

Zudem konnte gezeigt werden, dass Maushepatozyten, die Hepatitis-B-Virus-X-Protein überexprimierten, deutlich empfindlicher auf Exposition mit Ethanol oder Tumornekrosefaktor α reagierten: Es ergab sich eine erhöhte Produktion von reaktiven Sauerstoffradikalen, eine erhöhte Permeabilität der mitochondrialen Membran, vermehrte Freisetzung von Cytochrom C und erhöhte Aktivität von Caspase-3, und somit eine erhöhte Apoptosewahrscheinlichkeit im Vergleich mit den Kontrollzellkulturen (Kim et al., 2005).

Auch für die mitochondriale Toxizität der NRTI wird unter anderem eine Beteiligung reaktiver Sauerstoffspezies diskutiert (de la Asunción et al., 1998; Szabados et al., 1999; Kakuda, 2000; Lewis, 2003; Kohler und Lewis, 2006). So ist möglich, dass sich die

unterschiedlichen toxischen Effekte von HCV oder HBV und der antiretroviralen Medikamente addieren. Unsere Ergebnisse unterstützen diese Theorie.

5.9 Zusammenhang laborchemischer und klinischer Variablen mit den Ergebnissen des Atemtests

5.9.1 Korrelation mit dem Alter

Die Höhe der kumulativen Wiederfindungsrate nach 120 Minuten war im Prüfkollektiv insgesamt signifikant negativ abhängig vom Alter der Versuchspersonen. Dieses Ergebnis ließ sich jedoch in den einzelnen Untergruppen (Kontrollgruppe, Patienten mit und ohne antiretrovirale Medikation) nicht nachvollziehen. Auch in der multivariaten Analyse erwies sich das Alter nicht als unabhängiger Einflussfaktor auf das Ergebnis des ¹³C-Methionin-Atemtest.

Dieser Zusammenhang kann eine Abnahme der metabolischen Leistungsfähigkeit der Leber und der mitochondrialen Funktion im Alter widerspiegeln. Höheres Lebensalter prädestiniert für die Manifestation mitochondrialer Toxizität (Cohan, 2000; Luciano et al., 2003; ter Hofstede et al., 2003; Grinspoon und Carr, 2005; Liechtenstein, 2005). Gleichzeitig spielt die Abnahme der mitochondrialen Funktion eine Rolle im Alterungsprozess (Loeb et al., 2005).

Milazzo et al. sahen keine Korrelation zwischen DOB und Alter (Milazzo et al., 2005). Das liegt möglicherweise an der Patientenselektion, da die Altersstandardabweichungen in der vorliegenden Arbeit etwa dreimal so groß waren, wie im von Milazzo et al. geprüften Kollektiv. In der Studie von Milazzo ließ sich bei eventuell nicht ausreichender Altersvariabilität kein Einfluss des Alters feststellen.

Bei Banasch et al. war ebenfalls kein Einfluss des Alters auf das Ergebnis des ¹³C-Methionin-Atemtests festgestellt worden (Banasch et al., 2005). Auch hier waren die Altersstandardabweichungen deutlich geringer als in unserem Kollektiv.

Auch Spahr et al. stellten bei der Anwendung des ¹³C-Methionin-Atemtests bei Patienten mit Leberzirrhose und Steatosis hepatis im Vergleich mit gesunden Kontrollen keine Korrelation mit dem Alter fest. Allerdings wurden in dieser Studie systematisch Probanden mit manifesten strukturellen toxischen oder viralen Leberschäden untersucht, die unabhängig vom Alter der Betroffenen die Leberfunktion beeinträchtigen und damit das Ergebnis im ¹³C-Methionin-Atemtest beeinflussen (Spahr et al., 2003).

5.9.2 Sonographischer Befund der Leber

Die Steatosis hepatis hatte in der univariaten Analyse einen signifikanten Einfluss auf das Ergebnis des Atemtests, stellte in der multivariaten Analyse aber keinen unabhängigen Einflussfaktor dar.

Es wurde gezeigt, dass strukturelle Leberveränderungen das Ergebnis des ^{13}C -Methionin-Atemtests verschlechtern (Spahr et al., 2003). Die direkte Abhängigkeit von Steatosis hepatis und ^{13}C -Methionin-Atemtest zeigte sich an einem Fall von akuter mikrovesikulärer Steatosis hepatis aufgrund einer Intoxikation mit Valproinsäure: Mit zunehmender struktureller Leberregeneration verbesserten sich auch die Atemtestergebnisse (Spahr et al., 2001).

Eine Leberverfettung kann verschiedenste Ursachen haben, u.a. kann sie Folge der mitochondrialen Toxizität von NRTI sein (Dagan et al., 2002). Andere Ursachen können andere Medikamente, eine chronische Virushepatitis, Alkohol, Drogen oder Stoffwechselstörungen, insbesondere Diabetes mellitus sein.

An unserer Studie nahmen Patienten mit chronischer Hepatitis-Co-Infektion und auch Patienten mit potentiell toxischen Begleitmedikationen (Tab. 5) teil. Von vier Patienten mit sonographisch beschriebender Steatosis hepatis (drei unter antiretroviraler Therapie, eine therapie-naive Patientin mit Diabetes mellitus) war ein Patient mit einer chronischen Hepatitis B infiziert, insgesamt zwei Patienten waren an einem tablettenpflichtigen Diabetes mellitus Typ II erkrankt. Alle vier Patienten hatten eine potentiell hepatotoxische Begleitmedikation: Patient 1: Tolperison, Glibenclamid, Ranitidin; Patient 2: Rosiglitazon Patient 3: Fluvastatin, Pantoprazol; Patient 4: Pantoprazol. Die Steatosis hepatis war somit bei keinem der Patienten eindeutig monofaktoriell durch die antiretrovirale Therapie bedingt.

An Ratten mit nichtalkoholischer Steatosis hepatis konnte gezeigt werden, dass der mitochondrialen Dysfunktion mit vermehrter Produktion reaktiver Sauerstoffradikale eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der Steatosis hepatis zukommt (Oliveira et al., 2006).

Unsere Ergebnisse im ^{13}C -Methionin-Atemtest sind mit dieser Theorie gut erklärt. Da in jedem Fall eine mitochondriale Schädigung vorliegt, ist es nicht möglich festzustellen, ob sie auf der antiretroviralen Therapie beruht. Der ^{13}C -Methionin-Atemtest ist somit bei Vorliegen einer Steatosis hepatis unklarer Ursache nicht geeignet, spezifisch die durch antiretrovirale Therapie verursachte Mitochondrienschädigung zu diagnostizieren, die mitochondriale Schädigung an sich wird aber erfasst.

5.9.3 Korrelation mit der Höhe der Transaminasen

Im Gesamtkollektiv ergaben sich positive Korrelationen zwischen GOT, GPT und Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} . Einen unabhängigen Einfluss auf die Ergebnisse des Atemtests zeigte die Höhe der Transaminasen in der multivariaten Analyse nicht.

Transaminasenerhöhungen können viele Ursachen haben. Sie können idiopathisch, medikamentös (unter anderem durch antiretrovirale Medikamente), toxisch (z.B. Ethanol), infektiös (z.B. virale Hepatitis) oder autoimmun bedingt sein.

In der Literatur zur Beziehung zwischen ^{13}C -Methionin-Atemtest bzw. mitochondrialer Toxizität und Leberenzymen gibt es uneinheitliche Ergebnisse. DiCampli et al. fanden eine negative Korrelation zwischen GOT-Spiegel und Erholung der Leberfunktion gemessen im ^{13}C -Methionin-Atemtest nach orthotoper Lebertransplantation (DiCampli et al., 2003). Beim Vergleich von gesunden Kontrollen, therapie-naiven HIV-Patienten und HIV-Patienten unter ART mit und ohne Lipoatrophie war die Höhe der GPT der einzige unabhängige Einflussfaktor auf das Ergebnis des Atemtests (Banasch et al., 2005). Dagegen zeigte sich in einer anderen Studie zum ^{13}C -Methionin-Atemtest bei HIV-Patienten mit und ohne ART (mit und ohne Hyperlaktatämie) gegenüber gesunden Kontrollen keine Korrelation zwischen Ergebnissen des Atemtests und Leberenzymen (Milazzo et al., 2005). In dieser Studie waren allerdings Patienten mit Hepatitis-Co-Infektion von der Teilnahme ausgeschlossen, ebenso wie Patienten mit Begleitmedikation, so dass eine Erhöhung von Leberenzymen mit geringerer Häufigkeit zu finden war als in der vorliegenden Arbeit.

Da der ^{13}C -Methionin-Atemtest (wie oben beschrieben) durch Leberschädigungen verschiedener Genese beeinflusst werden kann, die auch zu Transaminasenerhöhungen führen können, erscheint die Korrelation zwischen Ergebnissen des Atemtests und der Höhe von GOT und GPT plausibel.

Die GPT liegt gelöst im Zytoplasma der Hepatozyten vor, die GOT ist zu etwa 30% im Zytoplasma gelöst, zum Großteil (70%) jedoch an mitochondriale Strukturen gebunden (Thomas et al., 1998). Eine leichte Leberschädigung führt primär zu einer Freisetzung der zytoplasmatischen Formen und damit v.a. zu einer Erhöhung der GPT im Serum. Bei schweren Leberschäden mit Schädigung der mitochondrialen Membran steigt zunehmend auch der Spiegel der GOT an. Die Korrelation zwischen Transaminasenerhöhung und Zeit bis

zum Erreichen von DOB_{max} zeigt den mit dem strukturellen Mitochondrienschaden einhergehenden Verlust der hepatischen mitochondrialen Funktion.

5.9.4 Korrelation mit dem Körpermassenindex

Eine signifikante negative Korrelation zwischen Körpermassenindex (Body-Mass-Index, BMI) und kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten bestand im Gesamtkollektiv und in der Gruppe aller HIV-positiven Probanden.

Eine signifikante positive Korrelation mit der Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} zeigte sich im Gesamtkollektiv, bei allen HIV-Patienten, in der Gruppe der therapierten HIV-Patienten und bei Patienten die aktuell oder früher mit Didanosin oder Stavudin therapiert worden waren.

Einen unabhängigen Einfluss auf die Atemtestergebnisse hatte der BMI in der multivariaten Analyse im Gesamtkollektiv, sowie in der Gruppe der HIV-Patienten unter antiretroviraler Therapie auf die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} .

Höherer BMI ginge demnach mit einer Verminderung der hepatischen mitochondrialen Funktion einher. Das erscheint bei den häufigen Folgeerkrankung der Adipositas (z.B. Steatosis hepatis, Fettstoffwechselstörungen, Diabetes mellitus), die mit mitochondrialen Funktionsstörungen einhergehen können (Asmann et al., 2006; Oliveira et al., 2006; Solís Herruzo et al., 2006) plausibel.

Milazzo et al. fanden bei der Untersuchung von HIV-Patienten mit ART und Hyperlaktatämie, mit ART ohne Hyperlaktatämie, therapienaiven HIV-Patienten und einer HIV-negativen Kontrollgruppe keine Korrelation mit dem BMI (Milazzo et al., 2005), ebensowenig Buffet et al., die den Gehalt an mitochondrialer DNA in HIV-Patienten mit Lipoatrophie und einer HIV-negativen Kontrollgruppe untersuchten (Buffet et al., 2005).

Da der Zusammenhang zwischen Atemtest und BMI (bei statistisch nicht signifikant unterschiedlichem mittleren BMI) weder in der Kontrollgruppe, noch bei therapienaiven HIV-Patienten zu finden war, ist man versucht, ihn auf die antiretrovirale Therapie zurückzuführen. Nach Initialisierung einer antiretroviralen Therapie sind Gewichtszunahmen häufig und oft erwünscht (Saghayam et al., 2007). Dieser Effekt beruht aber nicht auf einer toxischen unerwünschten Wirkung, sondern dem verbesserten Immunstatus und damit einer Normalisierung der Stoffwechsellage der Patienten. Als Langzeitnebenwirkung ist

Gewichtszunahme für antiretrovirale Medikamente nicht beschrieben. Ein Zusammenhang zwischen BMI-Zunahme und durch die antiretrovirale Therapie bedingter mitochondrialer Toxizität besteht demnach nicht.

Eine mögliche Erklärung dafür, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen BMI und den Ergebnissen des ^{13}C -Methionin-Atemtests nicht in der Kontrollgruppe und der Gruppe der HIV-Patienten ohne ART nachweisbar war, ist das signifikant höhere Alter in der Gruppe der HIV-Patienten unter antiretroviraler Therapie. Mit dem Alter steigt die Wahrscheinlichkeit für Begleiterkrankungen wie Adipositas, Steatosis hepatis, Diabetes mellitus, und damit auch für potentiell hepatotoxische Begleitmedikationen (Tab. 5). Zudem nimmt, wie oben beschrieben, die mitochondriale Funktion im Alter ab (Loeb et al., 2005). In der Gruppe der Patienten unter ART waren sonographisch Leberparenchymveränderungen in insgesamt 40% der Fälle nachweisbar. Dies traf bei HIV-Patienten ohne ART nur für 23% der Fälle, bei HIV-negativen Probanden für 12,5% zu.

Ein Einfluss des BMI auf die Ergebnisse des ^{13}C -Methionin-Atemtests kann somit durch die Begleiterkrankungen verursacht sein, die bei Adipositas vermehrt auftreten und mit einer mitochondrialen Funktionsstörung einhergehen können.

5.9.5 Korrelation mit den Serumlipidwerten

Die Höhe des Triglyzeridspiegels korrelierte im Gesamtkollektiv positiv mit der Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} . Eine negative Korrelation mit der kumulativen Wiederfindungsrate nach 120 Minuten fand sich im Gesamtkollektiv, bei allen HIV-Patienten und bei HIV-positiven therapienaiven Probanden. Ein unabhängiger Einfluss auf die Ergebnisse des Atemtests in der multivariaten Analyse hatten die Triglyzeride auf die Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} im Gesamtkollektiv.

In den zwei anderen, bereits zitierten, Studien zum ^{13}C -Methionin-Atemtest bei HIV-Patienten wurden keine Angaben zur Korrelation zwischen Atemtestergebnissen und Triglyzeridspiegeln gemacht (Milazzo et al., 2005; Banasch et al., 2005). In beiden Studien zeigten sich jedoch in der Gruppe der HIV-Patienten unter stabiler antiretroviraler Therapie die signifikant höchsten Triglyzeridspiegel verglichen mit der Kontrollgruppe und HIV-Patienten ohne antiretrovirale Behandlung (Milazzo et al., 2005; Banasch et al., 2005). Das war auch bei uns der Fall (Kontrollgruppe: 89 ± 20 mg/dl; therapienaive HIV-Patienten: 94 ± 34 mg/dl; HIV-Patienten unter stabiler ART: 280 ± 260 mg/dl; $p < 0,001$).

In unserem Kollektiv zeigten Patienten mit einer beliebigen Form der Lipodystrophie signifikant höhere Triglyzeridlevel als die gesunde Kontrollgruppe (325 ± 319 mg/dl vs. 89 ± 20 mg/dl; $p = 0,003$) und HIV-positive therapienaive Probanden (325 ± 319 mg/dl vs. 95 ± 34 mg/dl, $p = 0,001$). Erhöhte Blutfette sind häufig Begleiterscheinung einer Lipodystrophie im Rahmen der mitochondrialen Toxizität von NRTI und der Behandlung mit PI (Vigouroux et al., 1999; Dagan et al., 2002; McComsey und Walker, 2004; Grinspoon und Carr, 2005; Liechtenstein, 2005; McComsey et al., 2005 b; Villaroya et al., 2005).

Die Leber ist ein zentrales Organ des Fettstoffwechsels (Fujimoto et al., 2006). Leberfunktion und Blutfettspiegel sind eng miteinander verknüpft: Erhöhung des Triglyzeridspiegels ist häufig assoziiert mit Leberschäden, wie z.B. Leberverfettung, Fettleberhepatitis oder Zirrhose (Bedogni et al., 2006; Fujimoto et al., 2006; Lavoie und Gauthier, 2006). Freie Fettsäuren, die durch Lipolyse des Fettgewebes, z.B. im Rahmen einer Lipodystrophie oder durch Hydrolyse von Triglyzeriden durch die Lipoproteinlipase oder die hepatische Lipase entstehen (Simha und Garg, 2006) führen zu vermehrter Fettsäureansammlung mit Lipidtröpfchenbildung in Leberzellen. Diese wird gleichzeitig über Aktivierung des PPAR α -Rezeptors und Stimulation der mitochondrialen und peroxisomalen β -Oxidation und die mikrosomale ω -Oxidation der Fette in der Leber reguliert (Lavoie und Gauthier, 2006; Solís Herruzo et al., 2006). Bei hohem Fettsäureangebot kommt es zu vermehrter Radikalbildung und vermehrtem oxidativem Stress, dem eine mitochondrientoxische Wirkung unterstellt wird (Hruszkewycz, et al., 1988; Solís Herruzo et al., 2006; Madamanchi und Runge, 2007).

Die Höhe des Triglyzeridspiegels könnte somit die mitochondriale Funktion und damit das Ergebnis des ^{13}C -Methionin-Atemtests negativ beeinflussen, auch unabhängig von einer antiretroviralen Behandlung. Andererseits wird bei vorgeschädigten Mitochondrien (z.B. durch NRTI-Therapie) die Oxidation der Fettsäuren ebenfalls vermehrt in Peroxisomen und Mikrosomen verlagert (Kamal und French, 2004), wobei reaktive Radikale entstehen (Natarajan et al., 2006). Somit könnte Hypertriglyzeridämie auch eine vorbestehende mitochondriale Schädigung verstärken.

Nicht auszuschließen ist außerdem, dass Hypertriglyzeridämie nicht Ursache, sondern Folge der mitochondrialen Schädigung der Leber ist, die sich durch vermehrte Bildung von triglyzeridreichen VLDL gegen eine Verfettung schützt (Kamal und French, 2004).

Die Assoziation zwischen Triglyzeridspiegeln und Atemtestergebnissen könnte demnach als Ausdruck der gestörten Funktion der hepatischen Mitochondrien gedeutet werden, die unter

antiretroviraler Behandlung mit NRTI auftreten. Ungeklärt ist, ob es sich um einen direkten und alleinigen Effekt der antiretroviralen Medikamente auf die hepatischen Mitochondrien handelt, oder das vermehrte Triglyzeridangebot im Rahmen der Lipodystrophie zu mitochondrialer Funktionsstörung beiträgt.

5.9.6 Korrelation mit dem mittleren Erythrozytenvolumen

Signifikante Korrelationen zwischen mittlerem Erythrozytenvolumen (Mean Cellular Volume, MCV) und Atemtest zeigten sich im Gesamtkollektiv, bei allen HIV-Patienten, bei allen HIV-Patienten unter ART, bei Patienten, die früher eine Therapie mit Zidovudin erhalten hatten und bei Patienten, die zum Untersuchungszeitpunkt mit Stavudin behandelt wurden.

In der multivariaten Regression erwies sich das MCV als unabhängiger Einflussfaktor auf die kumulative Wiederfindungsrate und DOB_{max} . Studienteilnehmer mit erhöhtem MCV (≥ 99 fl) hatten eine signifikant erniedrigte kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten.

Dieser Zusammenhang wurde bislang in keiner anderen uns bekannten Atemteststudie an HIV-Patienten untersucht.

Bei keinem unserer Probanden war ein chronischer Alkoholabusus bekannt, ebensowenig Bildungsstörungen im Knochenmark, Chemotherapie oder Hämolyse. Vitamin B12 und Folsäure waren bei zehn Patienten (25%) unter antiretroviraler Therapie im Verlauf von einem Jahr um die Atemtestuntersuchung bestimmt worden. Alle Werte lagen im Referenzbereich.

Den einzigen bekannten Risikofaktor neben der NRTI-Therapie stellten somit Hepatitis-Co-Infektion und strukturelle Leberschäden dar. Patienten mit Hepatitis-Co-Infektion und Patienten mit sonographischen Hinweisen auf einen strukturellen Leberschaden hatten im Vergleich mit Probanden ohne begleitende Lebererkrankung jedoch kein signifikant erhöhtes MCV.

Therapie mit Zidovudin und Stavudin ist assoziiert mit Erhöhung des MCV (Geene et al., 2000; Eyer-Silva et al., 2001; Romanelli et al., 2002). Während es zur Pathogenese der unter Zidovudin ebenfalls zu beobachtenden Anämie verschiedenste Erklärungsansätze gibt (Sommadossi et al., 1989; Cretton et al., 1990; Weidner et al., 1991; Hobbs et al., 1995; Spiga et al., 1999), ist der Mechanismus hinter der Erhöhung des Erythrozytenvolumens ungeklärt.

Diskutiert wird, ob über einen Einbau der Nukleosidanaloga in zelluläre DNA die Zellteilung gestört wird mit der Folge der Entstehung von Riesenzellen (Volberding et al., 1990; zitiert nach Romanelli et al., 2002).

Die Korrelation unserer Atemtestergebnisse mit dem ^{13}C -Methionin-Atemtest zeigt eine gleichsinnige Schädigung der Leber und der Blutzellen. In der Leber beruht die Zellschädigung auf einer Störung der mitochondrialen Funktion. Die deutliche Korrelation und die Tatsache, dass das MCV ein unabhängiger Einflussfaktor auf unsere Atemtestergebnisse war, können ein Hinweis sein, dass auch bei der in Zusammenhang mit NRTI-Therapie beobachtenden Makrozytose eine mitochondriale Schädigung der Vorläuferzellen der Erythrozyten im Knochenmark, z.B. durch Einbau der NRTI in die zelluläre DNA, eine Rolle spielen kann.

Ähnlich, wie bei der Makrozytose auf dem Boden einer alkoholischen Lebererkrankung diskutiert wird (Latvala et al., 2001; Duryee et al., 2004; Niemelä und Parkkila, 2004), könnte die im Zusammenhang mit NRTI-Therapie beobachteter Makrozytose aber auch auf anderem Wege, nämlich über Addukte toxischer Metabolite mit Proteinen und Membranbestandteilen zustande kommen. Der deutliche Zusammenhang zwischen Makrozytose und Atemtestergebnissen wäre dann Ausdruck einer Schädigung durch das gleiche Agens, jedoch auf verschiedene Art.

Untersuchungen an Mitochondrien erythropoetischer Stammzellen aus dem Knochenmark unter NRTI-Therapie könnten Aufschluss bringen, ob eine mitochondriale Schädigung für die Entstehung einer Makrozytose eine Rolle spielt.

5.10 Wertung des ^{13}C -Methionin-Atemtests

Mit der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob es sich beim ^{13}C -Methionin-Atemtest um eine sinnvolle Methode zur Diagnostik einer NRTI-bedingten mitochondrialen Störung handelt. Wünschenswert wäre eine Untersuchung mit hoher Spezifität und Sensitivität, die für den Patienten risikoarm und klinisch einfach durchzuführen ist. Der ^{13}C -Methionin-Atemtest erschien geeignet, da er nicht-invasiv nach oraler Aufnahme einer markierten Aminosäure über den hepatischen mitochondrialen Methionin-Stoffwechsel Aufschluss gibt, indem die Menge des markierten Metaboliten in der Ausatemluft bestimmt wird. Nebenwirkungen des Tests wurden von keinem Probanden beschrieben, so dass seine Durchführung unbedenklich erscheint.

Aufgrund unserer Analysen haben sich viele Faktoren ergeben, die das Ergebnis des ^{13}C -Methionin-Atemtest beeinflussen. Hierzu zählen hepatische Erkrankungen wie eine chronischen Hepatitis, eine Steatosis hepatis, aber auch metabolische Störungen wie Hypertriglyzeridämie. Aufgrund dieser Ergebnisse scheint der ^{13}C -Methionin-Atemtest nur bedingt zur Diagnose einer mitochondrialen Toxizität durch NRTI geeignet zu sein, da nicht eindeutig zu klären ist, was die Ursache der gemessenen hepatisch mitochondrialen Funktionsstörung ist, da es zu viele Einflussfaktoren gibt. Das ist ein methodisches Problem des Atemtests.

Andererseits hat sich gezeigt, dass bekannte Nebenwirkungen der NRTI-Therapie, die nach allgemein anerkannter These auf einer mitochondrialen Funktionsstörung beruhen, in der vorliegenden Untersuchung keinen messbaren Einfluss auf die Testergebnisse hatten. Somit ist entweder die mitochondriale Funktionsstörung der Leber kein geeigneter Parameter zur Früherkennung einer außerhalb der Leber sich manifestierenden mitochondrialen Toxizität, oder die Sensitivität des angewandten Tests nicht hoch genug, einen im Vergleich zu anderen Faktoren geringen Einfluss der NRTI auf die hepatischen Mitochondrien nachzuweisen. Hierüber könnten Untersuchungen an größeren, hinsichtlich Begleiterkrankungen und Nebenwirkungen der ART genau definierten Patientengruppen zur Klärung beitragen. Auch könnte eine Verlängerung des Messzeitraumes sinnvoll sein. Es sollte geprüft werden, ob eine solche Verlängerung (z.B über 24, statt zwei Stunden) die Sensitivität des Tests erhöht. In unserer Untersuchung hat sich die Tendenz gezeigt, dass HIV-Patienten unter ART DOB_{max} später erreichten als gesunde Kontrollen und therapienaive HIV-Patienten. Bei einer längeren Messung wären möglicherweise auch Unterschiede in der kumulativen Wiederfindungsrate festzustellen.

Eine zuverlässige Methode zur Früherkennung der NRTI-bedingten mitochondrialen Toxizität könnte der Test nach unseren Ergebnissen nur darstellen, wenn andere hepatotoxische Einflüsse ausgeschlossen werden können. Das ist nur bei einer geringen Zahl von HIV-Patienten denkbar, so dass er sich nicht als eine generelle Früherkennungsuntersuchung für mitochondriale Toxizität eignet. Eine entsprechend differenzierte Patientenselektionierung hinsichtlich Begleiterkrankungen und verordneten Medikamenten könnte nur unter experimentellen Bedingungen, nicht aber in der klinischen Praxis erfolgen.

Ebenso wird sich der Test als Verlaufsparemeter bei Neueinstellung auf eine ART nur eignen, wenn weitere hepatotoxische Einflüsse innerhalb des Beobachtungszeitraums ausgeschlossen

werden können, oder aber solche intraindividuell keinen Änderungen unterworfen sind. Zur weiteren Untersuchung wären hier längere Beobachtungszeiträume an einem größeren Patientenkollektiv erforderlich. Auch hier wäre eine genaue Differenzierung der Probanden hinsichtlich Begleiterkrankungen und Begleitmedikationen in Folgeuntersuchungen notwendig.

Nicht zuletzt stellt der ^{13}C -Methionin-Atemtest ein Testverfahren dar, das zwar einfach durchzuführen ist, dafür aber materialintensiv (Markersubstanz, Probensammelsysteme) und damit teuer, sowie für Probanden und Untersucher zeitaufwendig. Das sind Faktoren, die eine Etablierung als generelle Screening-Maßnahme erschweren können. Außerdem wird zur Auswertung des Tests ein Massenspektrometer benötigt, das nicht überall verfügbar ist. Allerdings ist ein Einschicken von Atemgasproben an ein Zentrum denkbar, da eine sofortige Untersuchung nicht zwingend erforderlich ist.

Alternative Testverfahren (z.B. Messung des mitochondrialen DNA-Gehalts, zytofluorimetrische Membranpotentialmessung an Mitochondrien aus Blutzellen) haben das gleiche grundsätzliche Problem, dass nur eine mitochondriale Schädigung festgestellt werden kann, jedoch *in vivo* nicht ihre Ursache. Einen eindeutigen Vorteil gegenüber dem ^{13}C -Methionin-Atemtest stellt jedoch der geringere Aufwand für die Probanden dar.

Da aktuell kein anderer etablierter nicht-invasiver Test zur Früherkennung NRTI-bedingter mitochondrialer Funktionsstörungen existiert, wären weitere Untersuchungen zum ^{13}C -Methionin-Atemtest unter den oben genannten Maßgaben möglicherweise hilfreich und deswegen wünschenswert.

6 Zusammenfassung

Der Wirksamkeit der hochaktiven antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion stehen heute teilweise schwerwiegende Nebenwirkungen gegenüber. Viele dieser Nebenwirkungen werden auf mitochondriale Funktionsstörungen zurückgeführt, denen eine toxische Wirkung der nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren zugrunde liegt. Es wäre wünschenswert, einen einfach-durchzuführenden Test zur Diagnosestellung und Verlaufsbeobachtung von Störungen der mitochondrialen Funktion zur Verfügung zu haben.

Verschiedene Studien haben die hepatische mitochondriale Funktion mit dem ^{13}C -Methionin-Atemtest an verschiedenen Patientenkollektiven und mit verschiedener Zielsetzung untersucht und seine grundsätzliche Nützlichkeit belegt (Armuzzi et al., 2000; Ishii et al., 2001; Spahr et al., 2001 und 2003; Di Campli et al., 2003; Candelli et al., 2004; Milazzo et al., 2004 und 2005; Banasch et al., 2005). Studien, in denen die Aussagekraft des Tests an Patientenkollektiven mit HIV-Infektion, die nicht hinsichtlich Begleiterkrankungen und Begleitmedikation stark selektioniert waren, untersucht wurde, fehlten bisher. Das erscheint, angesichts der – dank HAART – höheren Lebenserwartung und damit verbundenen vermehrten Begleiterkrankungen sowie relativ häufigen Hepatitis-Co-Infektionen bei HIV-Patienten, sinnvoll. Auch die Auswirkungen definierter unterschiedlicher Therapieregimes wurden bislang unserem Kenntnisstand gemäß mit dem ^{13}C -Methionin-Atemtest nicht untersucht, obwohl den verschiedenen NRTI unterschiedliche Toxizitätsgrade zugeordnet werden können.

HIV-negative Probanden, HIV-positive Studienteilnehmer ohne und mit antiretroviraler Therapie zeigten keine signifikanten Unterschiede im ^{13}C -Methionin-Atemtest. Zur Diagnose einer mitochondrialen Schädigung bei einem gemischten Patientenkollektiv erscheint der Test deshalb nicht sinnvoll. Auch zwischen Patienten mit verschiedenen antiretroviralen Therapieregimes gab es keine unterschiedlichen Atemtestergebnisse, was möglicherweise auf geringe Gruppengrößen zurückzuführen ist. Aber auch ein Einfluss früherer Therapien und Faktoren wie Begleiterkrankungen, Lebensalter etc. ist nicht auszuschließen, da die Ursachen hepatischer mitochondrialer Funktionsstörungen vielfältig sind. Der Einfluss der NRTI ist im Vergleich zu den anderen Faktoren als gering zu werten.

Ein Einfluss der HIV-Infektion selbst war in unserer Untersuchung nicht zu erkennen.

HIV-Patienten mit Polyneuropathie zeigten im ^{13}C -Methionin-Atemtest keine signifikant unterschiedlichen Ergebnisse verglichen mit diesbezüglich asymptomatischen Patienten. Dem liegt möglicherweise die Gewebsspezifität der mitochondrialen Toxizität der NRTI zu Grunde (Kakuda, 2000; Dagan et al., 2002; Cherry et al., 2006).

Patienten mit Hyperlaktatämie unter HAART zeigten eine signifikant längere Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} sowie eine verminderte kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten im Vergleich mit der gesunden Kontrollgruppe. Patienten mit vorwiegender Lipoakkumulation zeigten verglichen mit HIV-Patienten ohne Lipoakkumulation unter antiretroviraler Therapie eine signifikante Verminderung in DOB_{max} . Beide Ergebnisse könnten so gedeutet werden, dass bei Vorliegen von klinischen Symptomen einer mitochondrialen Toxizität die mitochondriale Funktionsstörung aufgrund der ART durch den ^{13}C -Methionin-Atemtest nachweisbar war. Insbesondere in der Gruppe der Patienten mit Lipoakkumulation ist diese Interpretation aufgrund der geringen Patientenzahl ($N = 3$) aber gewagt.

Eine signifikant längere Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} zeigten HIV-Patienten drei Monate nach Ersteinstellung auf eine HAART im Vergleich zu vorher. Dies (in Verbindung mit dem Wissen um die sonst gute intraindividuelle Reproduzierbarkeit der Atemtestergebnisse) zeigt, dass der ^{13}C -Methionin-Atemtest zur Verlaufsbeobachtung einer sich entwickelnden mitochondrialen Toxizität nach Neueinstellung auf eine HAART geeignet ist, sofern andere Einflussfaktoren auf den Test ausgeschlossen sind. Damit ist grundsätzlich die Möglichkeit zu früherem therapeutischem Eingreifen gegeben.

Bei der Untersuchung von klinischen und laborchemischen Variablen auf ihren Einfluss auf den ^{13}C -Methionin-Atemtest zeigte sich, dass das Alter der Probanden, Hypertriglyzeridämie, höherer BMI, Steatosis hepatis, chronische Hepatitis-Infektion, Transaminasenerhöhung und das MCV mit dem Ergebnis des ^{13}C -Methionin-Atemtests korrelierten.

Insbesondere bei den hepatischen Begleiterkrankungen verwundert nicht, dass die im ^{13}C -Methionin-Atemtest gemessene hepatische mitochondriale Funktion beeinträchtigt wird.

Hypertriglyzeridämie kann einerseits Folge einer mitochondrialen Funktionsstörung sein (Kamal et French, 2004), andererseits durch vermehrte Radikalbildung die Funktion der Mitochondrien beeinträchtigen (Hruszkewycz, et al., 1988; Solís Herruzo et al., 2006;

Madamanchi und Runge, 2007). Höherer BMI prädestiniert für das Auftreten von Begleiterkrankungen wie Hypertriglyzeridämie und Steatosis hepatis.

Die Korrelation mit Alter erscheint plausibel: Abnahme der hepatischen mitochondrialen Funktion spielt eine entscheidende Rolle im Alterungsprozess (Loeb et al., 2005) sowie auch höheres Lebensalter bei HIV-Patienten für das Auftreten einer mitochondrialen Schädigung prädestiniert (Cohan, 2000; Luciano et al., 2003; ter Hofstede et al., 2003; Grinspoon und Carr, 2005; Liechtenstein, 2005).

Die Korrelation mit dem MCV, die unter Therapie mit insbesondere Zidovudin und Stavudin vermehrt auftritt, ist pathophysiologisch letztlich nicht geklärt. Unser Ergebnis, v.a. die Tatsache, dass das MCV einen unabhängigen Einflussfaktor auf die Ergebnisse des Atemtests darstellte, kann ein Hinweis sein, dass auch hier eine mitochondriale Dysfunktion der erythropoetischen Vorläuferzellen eine Rolle in der Genese spielt, auch hier möglicherweise über Einbau von Nukleosidanaloga in die zelluläre DNA. Eine andere Ursache ist aber nicht auszuschließen.

Insgesamt scheint der ¹³C-Methionin-Atemtest geeignet zur Verlaufsbeobachtung einer mitochondrialen Toxizität bei Neueinstellung auf eine antiretrovirale Therapie. Da es viele Faktoren gibt, die das Ergebnis beeinflussen können, eignet er sich aber nur für Patienten ohne Begleiterkrankungen, Begleitmedikationen oder andere Einflussfaktoren. Daher kann sich auch die Diagnose einer NRTI-bedingten mitochondrialen Dysfunktion nach dem derzeitigen Kenntnisstand zur Interpretation des Tests nicht auf den ¹³C-Methionin-Atemtest allein stützen.

Literaturverzeichnis

1. Armuzzi A., Marcoccia S., Zocco M.A. et al., *Non-Invasive assessment of human hepatic mitochondrial function through the ¹³C-methionine breath test*. Scand J Gastroenterol, 2000. **35**(6): p. 650-3.
2. Arnaudo E., Dalakas M.C., Shanske S. et al., *Depletion of mitochondrial DAN in AIDS patients with zidovudine-induced myopathy*. Lancet, 1991. **337**: p. 508-10. (Abstract)
3. Asmann Y.W., Stump C.S., Short K.R., *Skeletal Muscle Mitochondrial Functions, Mitochondrial DNA Copy Numbers, and Gene Transcript Profiles in Type 2 Diabetic and Nondiabetic Subjects at Equal Levels of Low or High Insulin and Euglycemia*. Diabetes, 2006. **55**: p. 3309-19.
4. Ball S.C., *Cardiovascular Disease in a Patient with AIDS*. AIDS Read, 2004. **13**(12): p. 571-3.
5. Banasch M., Goetze O., Hollborn I. et al., *¹³C-Methionine Breath Test Detects Distinct Hepatic Mitochondrial Dysfunction in HIV-Infected Patients With Normal Serum Lactate*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2005.**40**(2): p. 149-54.
6. Bani-Sadr F., Carrat F., Pol S. et al., *Risk-Factors for Symptomatic Mitochondrial Toxicity in HIV/Hepatitis C Virus-Coinfected Patients During Interferone Plus Ribavirin-Based Therapy*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2005. **40**(1): p. 47-52.
7. Barile M., Valenti D., Hobbs G.A. et al., *Mechanisms of toxicity of 3'-azido-3'-deoxythymidine – Its Interaction with adenylate kinase*. Biochem Pharmacol, 1994. **48**(7): p. 1405-12. (Abstract)
8. Barile, M., Valenti D., Passarella S. et al., *3'-Azido-3'-deoxythymidine Uptake Into Isolated Rat Liver Mitochondrial and Impairment of ADP/ATP Translocator*. Biochem Pharmacol, 1997. **53**: p. 913-20.
9. Barré-Sinoussi F., Chermann J.C., Rey F. et al., *Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS)*. Science, 1983. 220 (4599): p. 868-71. (Abstract)
10. Basañez G. und Zimmerberg J., *HIV and apoptosis: death and the mitochondrion*. J Exp Med, 2001. **193**(4): p. F11-4.
11. Bastard J.-P., Caron M., Vidal H. et al., *Association between altered expression of adipogenic factor SRBP1 in lipotrophic adipose tissue from HIV-1-infected patients*

- and abnormal adipocyte differentiation and insulin resistance.* Lancet, 2002. **359**: p. 1026-31.
12. Bedogni G., Bellentan S., Miglioli L. et al., *The Fatty Liver Index: A Simple and Accurate Predictor of Hepatic Steatosis in the General Population.* BMC Gastroenterology, 2006. **6**(33). (Online-Quelle, 01.03.2007)
 13. Berg J.M., Tymoczko J.L., und Stryer L., *Protein Turnover and Amino Acid Catabolism* in Berg J.M., Tymoczko J.L. und Stryer L., *Biochemistry*, ed. Julet M, 2002. New York: W. H. Freeman, p. 633-662.
 14. Bienstock R.J. und Copeland W.C., *Molecular insights into NRTI inhibition and mitochondrial toxicity revealed from a structural model of the human mitochondrial DNA polymerase.* Mitochondrion, 2004. **4**: p. 203-13
 15. Birkus G., Hitchcock M.J.M, und Cihlar T., *Assessment of Mitochondrial Toxicities in Human Cells Treated with Tenofovir: Comparison with Other Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors.* Antimicrob Agents Chemother, 2002. **46** (3): p. 716-23.
 16. Boubaker K., Flepp M., Sudre P. et al., *Hyperlactatemia and antiretroviral therapy: the Swiss HIV Cohort Study.* Clin Infect Dis, 2001. **33**(11): p. 1931-7.
 17. Braden B., Lembcke B., und Caspary W.F., *Nichtinvasive Funktionsdiagnostik aus der Atemluft mit 13C-Atemtests.* Deutsches Ärzteblatt, 2003. **100**(51-52): p. B-2813-7.
 18. Bremer H.J., Duran M, Kamerling J.P et al., *A. 74.0 L-Methionin* in Bremer H.J., Duran M, Kamerling J.P et al, *Disturbances of Amino Acid Metabolism: Clinical Chemistry and Diagnosis*, 1981. Baltimore-München: Urban und Schwarzenberg, p. 132.
 19. Brinkman K., ter Hofstede H.J.M., Burger D.M. et al., *Adverse effects of reverse transcriptase inhibitors: mitochondrial toxicity as common pathway.* AIDS, 1998. **12**(14): p. 1735-44.
 20. Brinkman K., Smeitink J.A., Romijn J.A. et al., *Mitochondrial toxicity induced by nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors is a key factor in the pathogenesis of antiretroviral-therapy-related lipodystrophy.* Lancet, 1999. **345**: p. 1112-5.
 - 21 Buffet M., Schwarzinger M., Amellal B. et al., *Mitochondrial DNA-depletion in adipose tissue of HIV-infected patients with peripheral lipoatrophy.* J Clin Virol, 2005. **33**: p. 60-64.
 22. Cameron D.W., Heath-Chiozzi M., Danner S. et al., *Randomised placebo-controlled trial of zidovudine in advanced HIV-1 disease.* Lancet, 1998. **351**: p. 543-9

23. Candelli M., Cazzato I.A., Zocco M.A. et al., *¹³C-Breath Tests in the study of mitochondrial liver function*. Eur Rev Med Pharmacol, 2004. **8**: p. 23-31.
24. Carr A., Samaras K., Chisholm D.J. et al., *Pathogenesis of HIV-protease inhibitor-associated peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance*. Lancet, 1998. **351**: p. 1881-3.
25. Carr A., Miller J., Law M. et al., *A syndrome of lipoatrophy, lactic acedaemia and liver dysfunction associated with HIV nucleoside analogue therapy: contribution to protease inhibitor-related lipodystrophy syndrome*. AIDS, 2000.**14**: p. F25-32.
26. Carr A., Emery S., Law M. et al., *An Objectice Case definition of Lipodystrophy in HIV-infected Adults: a Case-Control stud*. Lancet, 2003. **361**(9359): p. 726-735
27. Centers of Diseases Control (CDC) (1982a), *Epidemiologic Notes and Reports Persistent, Generalized Lymphadenopathy among homosexual males*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 1982. **31**: p. 249.
28. Centers of Diseases Control (CDC) (1982b), *Epidemiologic Notes and Reports Update on Kaposi's Sarcoma and Opportunistic Infections in Previously Healthy Persons - United States*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 1982. **31**: p. 294.
29. Centers of Diseases Control (CDC) (1982c), *Epidemiologic Notes and Reports Pneumocystis carinii Pneumonia among persons with Hemophilia A*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 1982. **31**: p. 365.
30. Centers of Diseases Control (CDC) (1982d), *Epidemiologic Notes and Reports Possible Transfusion Asoiciated Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) - California*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 1982. **31**: p. 652.
31. Centers of Diseases Control (CDC) (1982e), *Epidemiologic Notes and Reports Immunodeficiency among female sexual Partners of Males with Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) - New York*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 1982. **31**: p. 697.
32. Centers of Diseases Control (CDC) (1982f), *Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) in Prison Inmates - New York*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 1982. **31**: p. 700.
33. Chen C.H. und Cheng Y.C., *Delayed Cytotoxicity and Selective Loss of Mitochondrial DNA in Cells Treated with the Anti-humanImmundeficiency Compound 2',3'-Dideoxycytidine*. J Biol Chem 1989. **264**: p. 11934-7.

34. Chen C.H. und Cheng Y.C., *The Role of Cytoplasmatic Deoxycytidine Kinase in the Mitochondrial Effects of the Anti-human Immunodeficiency Virus Compound, 2',3'-Dideoxycytidine*. J Biol Chem, 1992. **267**(5): p. 2856-9.
35. Chen C.H., Vazquez-Padua M., und Cheng Y.C., *Effect of Anti-Human Immunodeficiency Virus Nucleoside Analogs on Mitochondrial DNA and Its Implication for Delayed Toxicity*. Mol Pharmacol, 1991. **39**: p. 625-8
36. Cherry C.L., Nolan D., James I.R. et al., *Tissue-Specific Associations Between Mitochondrial DNA Levels and Current Treatment Status in HIV-Infected Individuals*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2006. **42**(4): p. 435-40.
37. Cohan G.R., *HIV-associated metabolic and morphologic abnormality syndrome*. Postgraduate Medicine Online, 2000. **107**(4): p. 141-6.
38. Connolly G. P. und Duley J. A., *Uridine and its nucleotides: biological actions, therapeutic potentials*. Trends Pharmacol Sci, 1999. **20**(5): p. 218-25.
39. Corrales F.J., Perez-Mato I., Sanchez Del Pino M.M. et al., *Regulation of mammalian liver methionine adenosyltransferase*. The Journal of Nutrition, 2002. **132**(8): p. 2377-2381
40. Cossarizza A. und Moyle G., *Antiretroviral nucleoside and nucleotide analogues and mitochondria*. AIDS, 2004. **18**(2): p. 137-51.
41. Côté H. C., Brumme Z.L., Craib K.J.P. et al., *Changes in mitochondrial DNA as a marker of nucleoside toxicity in HIV-infected patients*. N Engl J Med, 2002. **346**(11): p. 811-20.
42. Cowan M.J., Hellmann D., Chudwin D. et al., *Maternal transmission of acquired immune deficiency syndrome*. Pediatrics, 1984. **73**(3): p. 382-6. (Abstract)
43. Craig H., *Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide*. Geochim Cosmochim Acta, 1957. **12**: p.133-149.
44. Cretton E.M., Xie M.-Y., Bevan R.J. et al., *Catabolism of 3'-Azido-3'-Deoxythymidine in Hepatocytes and Liver Microsomes, with Evidence of Formation of 3'-Amino-3'-Deoxythymidine, a Highly Toxic Metabolite for Human Bone Marrow Cells*. Mol Pharmacol, 1991. **39**: p. 258-66.
45. Dagan T., Sable C., Bray J. et al., *Mitochondrial dysfunction and antiretroviral nucleoside analog toxicities: what is the evidence?* Mitochondrion, 2002. **1**: p. 397-412.

46. Dalakas M.C., Illa I, Pezeshkpour G.H. et al., *Mitochondrial Myopathy caused by long-term Zidovudine Therapy*. N Engl J Med, 1990. **322** (16): p. 1098-105.
47. Dalakas M.C., Leon-Monzon M.E., Bernardini I. et al., *Zidovudine-induced Mitochondrial Myopathy is Associated with Muscle Carnitine Deficiency and Lipid Storage*. Ann Neurol, 1994. **35**(4): p. 482-7. (Abstract)
48. Dalakas M.C., *Peripheral neuropathy and antiretroviral drugs*. J Peripher Nerv Syst, 2001. **6**(1): p. 14-20.
49. Dalakas M. C., Semino-Mora C. und Leon-Monzon M., *Mitochondrial alterations with mitochondrial DNA depletion in the nerves of AIDS patients with peripheral neuropathy induced by 2'3'-dideoxycytidine (ddC)*. Lab Invest, 2001. **81**(11): p. 1537-44.
50. De la Asunción J.G., del Olmo M.L., Sastre J. et al., *AZT-Treatment Induces Molecular and Ultrastructural Oxidative Damage to Muscle Mitochondria – Prevention by Antioxidant Vitamins*. J Clin Invest, 1998. **102**(1): p. 4-9.
51. Delta Coordinating Committee: *DELTA: a randomised double-blind controlled trial comparing combinations of zidovudine plus didanosine or zalcitabine with zidovudine alone in HIV-infected individuals*. Lancet, 1996. **348**: p. 283-91.
52. Di Campli C., Angelini G, Armuzzi A. et al., *Quantitative evaluation of liver function by the methionine and aminopyrine breath tests in the early stages of liver transplantation*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2003. **15**(7): p. 727-32.
53. Dieterich D.T., *Long-term complications of nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy*. AIDS Read, 2003. **13**(4): p. 176-84, 187.
54. Dornsife R.E. und Averett D.R., *In vitro potency of inhibition of antiviral drugs of hematopoietic progenitor colony formation correlates with exposure at hemotoxic levels in Human Immunodeficiency virus-positive humans*. Antimicrob Agents Chemother 1996. **40**: p. 514-9.
55. Duryee M.J., Willis M.S., Freeman T.L. et al., *Mechanisms of Alcohol Liver Damage: Aldehyds, Scavenger receptors, And Autoimmunity*. Front Biosci, 2004. **9**: p. 3145-55.
56. Eyer-Silva W.A., Árabe J., Pinto J.F.C. et al., *Macrocytosis in Patients on Stavudine*. Scand J Infect Dis, 2001. **33**: p. 239-40.
57. Faraj A, Fowler D.A., Bridges E.G. et al., *Effects of 2',3'-dideoxynucleosides on proliferation and differentiation of human pluripotent progenitors in liquid culture and their effect on mitochondrial DNA-Synthesis*. Antimicrob Agents Chemother 1994. **38**: p. 924-30.

58. Fauci A.S. und Lane H.C., *Die HIV-Erkrankung (Human Immunodeficiency Virus): AIDS und verwandte Krankheitsbilder* in Dietel. M., Suttorp N. und Zeitz M., *Harrisons Innere Medizin*, 16. Auflage, 2005. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag GmbH, p. 1154-1221
59. Feng J.Y., Murakami E., Zorca Z.M. et al., *Relationship between Antiviral Activity and Host Toxicity: Comparison of the Incorporation Efficiencies of 2',3'-Dideoxy-5-Fluoro-3'-Thiacytidine-Triphosphate Analogs by Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase and Human Mitochondrial DNA Polymerase*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004. **48**(4): p. 1300-6.
60. Fischl M.A., Parker C.B., Pettinelli C. et al., *A randomized controlled trial of a reduced daily dose of zidovudine in patients with the acquired immunodeficiency syndrome*. *The AIDS Clinical Trials Group*. *N Engl J Med*, 1990. **323**(15): p 1009-14. (Abstract)
61. Fleischer R., Boxwell D. und Sherman K. E., *Nucleoside analogues and mitochondrial toxicity*. *Clin Infect Dis*, 2004. **38**(8): p. e79-80.
62. Foli A., Benvenuto F., Piccinini G. et al., *Direct analysis of mitochondrial toxicity of antiretroviral drugs*. *AIDS*, 2001. **15**(13): p. 1687-94.
63. Fowler D.A., Xie M.Y. und Sommadossi J.P., *Protection and rescue from 2',3'-dideoxypyrimidine nucleoside analog toxicity by hemin in human bone marrow progenitor cells*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996. **40**: p. 191-5.
64. Fujimoto Y., Onoduka J., Homma K.J. et al., *Long-chain Fatty Acids Induce Lipid Droplet Formation in a Cultured Human Hepatocyte in a Manner Dependent of Acyl-CoA Synthetase*. *Biol Pharm Bull*, 2006. **29**(11): p. 2174-80.
65. Geene D., Sudre P., Anwar D. et al., *Causes of macrocytosis in HIV-infected patients not treated with zidovudine*. *Swiss HIV Cohort Study*. *J Infect*, 2000. **40**(2): p. 160-3.
66. Gentil C., Le Jan S., Philippe J. et al., *Is oxygen a key factor in the lipodystrophy phenotype?* *Lipids in health and Disease*, 2006. **5**(27) (Online-Veröffentlichung)
67. Ghoos Y., Rutgeerts P., Vantrappen P. et al., *Measurement of 13C-glucose oxidation rate using mass spectrometric determination of the CO₂: Ar ratio and spirometry*. *Journal of Biomedical and environmental Mass Spectrometry*, 1988. **15**(8): p. 447-51. (Abstract)
68. Gianotti N. und Lazzarin A., *Sequencing antiretroviral drugs for long-lasting suppression of HIV replication*. *New Microbiol*, 2005. **28**(4): p. 281-97 (Abstract).

69. Gogu S.R., Beckmann B.S., Wilson R.B. et al., *Inhibitory Effects of Zidovudine in Erythroid Progenitor Cells. Reversal with a Combination of Erythropoietin and Interleukin-3*. *Biochem Pharmacol*, 1995. **50**: p. 413-9.
70. Gray N.M., Marr C.L.P., Penn C.R. et al., *The Intracellular Phosphorylation of (-)-2'-Deoxy-3'-Thiacytidine (3TC) and the Incorporation of 3TC 5'-Monophosphate into DNA by HIV-1 Reverse Transcriptase and Human DNA Polymerase γ* . *Biochem Pharmacol*, 1995. **50**(7): p. 1043-51.
71. Grinspoon S. und Carr A., *Cardiovascular Risk and Body-Fat Abnormalities in HIV-Infected Adults.*, *N Engl J Med*, 2005.**352**(1): p. 48-62.
72. Hamilton J.D., Hartigan P.M., Simberkoff M.S. et al., *A controlled trial of early versus late treatment with zidovudine in symptomatic human immunodeficiency virus infection. Results of the Veterans Affairs Cooperative Study*. *N Engl J Med*, 1992. **326**(7): p. 437-43. (Abstract)
73. Hammer K. und Hammer A., *Physikalische Formeln und Tabellen*, 1992. München: J. Lindauer Verlag.
74. Hart A.M., Wilson A.D.H., Montovani C. et al., *Acetyl-L-carnitine: a pathogenesis based treatment for HIV-associated antiretroviral toxic neuropathy*. *AIDS*, 2004. **18**(11): p. 1549-60.
75. Haycock G.B., Schwartz G.J. und Wisotsky D.H., *Geometric method for measuring body surface area: a height weight formula validated in infants, children and adults*, *The Journal of Pediatric*, 1978. **93**(1): p. 62-66.
76. Hellerstein M. K., *Turnover of adipose components and mitochondrial DNA in humans: kinetic biomarkers for human immunodeficiency virus-associated lipodystrophy and mitochondrial toxicity?* *Clin Infect Dis*. 2003. **37 Suppl 2**: p. S52-61.
77. Ho D.D., *Time to Hit HIV, Early and Hard*. *N Engl J Med*, 1995. **333**(7): p. 450-1
78. Ho D.D., Neumann A.U., Perelson A.S. et al., *Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection*. *Nature*, 1995. **373**: p. 123-6 (Abstract)
79. Hobbs G.A., Keilbaugh S.A., Rief P.M. et al., *Cellular Targets of 3'-Azido-3'-Deoxythymidine: an Early (Non-Delayed) Effect on Oxidative Phosphorylation*. *Biochem Pharmacol*, 1995. **50**: p. 381-90.
80. Höschele D., *Cell culture models for the investigation of NRTI-induced mitochondrial toxicity. Relevance for the prediction of clinical toxicity*. *Toxicology in Vitro*, 2006. **20**: p. 535-546.

81. Hoffmann C., *ART 2005*, in Hoffmann C., Kamps B.S. und Rockstroh J.K., *HIV.NET 2005*, 2005, Wuppertal: Steinhäuser Verlag.
82. Hruszkewycz A.M., *Evidence for Mitochondrial DNA Damage by Lipid Peroxidation*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1988. **153** (1): p. 191-7.
83. Huang P., Farquhar D., und Plunkett W., *Selective Action of 3'-Azido-3'-deoxythymidine 5'-Triphosphate on Viral Reverse Transcriptases and Human DNA Polymerases*. *J Biol Chem*, 1990. **266**(20): p. 11914-8.
84. Huang P., Farquhar D., und Plunkett W., *Selective Action of 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxythymidine Triphosphate on Human Immunodeficiency Virus Reverse Transcriptase and Human DNA Polymerases*. *J Biol Chem*, 1992. **267**(4): p. 2817-22.
85. Ishii Y., Asai S., Kohno T. et al., *Evaluation of liver regeneration using the L-[1-¹³C]methionine breath test*. *J Surg Res*, 2001. **95**(2): p. 195-9.
86. Jacotot E., Ferri K.F., El Hamel C. et al., *Control of mitochondrial membrane permeabilization by adenine nucleotide translocator interacting with HIV-1 viral protein rR and Bcl-2*. *J Exp Med*, 2001. **193**(4): p. 509-19.
87. John M., Moore C.B., James I.R. et al., *Chronic hyperlactatemia in HIV-infected patients taking antiretroviral therapy*. *AIDS*, 2001. **15**: p. 717-23.
88. Johnson A. A., Ray A.S., Hanes J. et al., *Toxicity of Antiviral Nucleoside Analogs and the Human Mitochondrial DNA Polymerase*. *J Biol Chem*, 2001. **276**(44): p. 40847-57.
89. Joly V., Descamps D., und Yeni P., *NNRTI plus PI combinations in the perspective of nucleoside-sparing or nucleoside-failing antiretroviral regimens*. *AIDS Rev*, 2002. **4**(3): p. 128-39.
90. Jones G., Zhu Y., Silva C. et al., *Peripheral Nerve-derived HIV-1 is predominately CCR5-dependent and Causes Neuronal degeneration and neuroinflammation*. *Virology*, 2005. **334**: p. 178-93
91. Kakuda T. N., *Pharmacology of nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitor-induced mitochondrial toxicity*. *Clin Ther*, 2000. **22**(6): p. 685-708.
92. Kamal M.A. und French S.W., *Drug-induced increased mitochondrial biogenesis in a liver biopsy*. *Exp Mol Pharmacol*, 2004. **77**: p. 201-4.
93. Kamps B.S., *Die Epidemie und Epidemiologie*, in Hoffmann C., Kamps B.S. und Rockstroh J.K., *HIV.NET 2005*, 2005 Wuppertal: Steinhäuser Verlag.

94. Kanki P.J., Barin F., M'Boup S. et al, *New human T-lymphotropic retrovirus related to simian T-lymphotropic virus type III (STLV-IIIAGM)*. Science, 1986. **232** (4747): p. 238-43. (Abstract)
95. Keswani S.C., Polley M., Pardo C.A. et al., *Schwann Cell Chemokine Receptors mediate HIV-1 gp 120 toxicity to sensory neurons*. Ann Neurol, 2003. **54** (3): p. 287-96.
96. Keswani S.C., Leitz G.J. und Hoke A., *Erythropoietin is neuroprotective in models of HIV sensory neuropathy*. Neurosci Lett, 2004. **371**(2-3): p. 102-5. (Abstract)
97. Kim W.-H., Hong F., Jaruga B. et al. *Hepatitis B Virus X-Protein Sensitizes primary Mouse Hepatocytes to Ethanol- and TNF- α -Induced Apoptosis by a Caspase-3-Dependent Mechanism*. Cellular and Molecular Immunology, 2005. **2**(1): p. 40-8.
98. Kohler J.J. und Lewis W., *A Brief Overview of Mechanisms of Mitochondrial Toxicity from NRTIs*. Environmental and Molecular Mutagenesis, 2006. **47** (Online-Veröffentlichung)
99. Korenaga M., Wang T., Li Y. et al., *Hepatitis C Virus Core Protein Inhibits Mitochondrial Electron Transport and Increases Reactive Oxygene Species (ROS) Production*. J Biol Chem, 2005. **280** (45): p. 37481-8
100. Kreier F., Fliers E., Voshol P.J. et al., *Selective parasympathetic innervation of subcutaneous and intraabdominal fat – functional implications*. J Clin Invest, 2002. **110**: p.1243-50.
101. Lafeuillade A., Hittinger G., und Chadapaud S., *Increased mitochondrial toxicity with ribavirin in HIV/HCV coinfection*. Lancet, 2001. **357**(9252): p. 280-1.
102. Latvala J., Parkkila S., Melkko J. et al., *Acetaldehyde Adducts in Blood and Bone marrow of patients With Ethanol-Induced Erythrocyte Abnormalities*. Mol Med, 2001. **7**(6): p. 401-5.
103. Lavoie J.-M. und Gauthier M.-S., *Regulation of fat metabolism in the liver: link to non-alcoholic hepatic steatosis and impact of physical exercise*. Cell Mol Life Sci, 2006. **63**: p. 1393-1409.
104. Lee H., Hanes J., und Johnson K. A., *Toxicity of Nucleoside Analogues Used to Treat AIDS and the Selectivity of the Mitochondrial DNA Polymerase*. Biochemistry, 2003. **42**(50): p. 14711-9.
105. Lee Y.I., Hwang J.M., Im J.H. et al., *Human Hepatitis B Virus-X-Protein Alters Mitochondrial Function and Physiology in Human Liver Cells*. J Biol Chem, 2004. **279** (15): p. 15460-71.

106. Lemberg D. A., Palasanthiran P., Goode M. et al., *Tolerabilities of antiretrovirals in paediatric HIV infection*. Drug Saf, 2002. **25**(14): p. 973-91.
107. Lewis W., *Mitochondrial dysfunction and nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy: experimental clarifications and persistent clinical questions*. Antiviral Res, 2003. **58**(3): p. 189-97.
108. Lewis W., Day B.J. und Copeland W.C., *Mitochondrial Toxicity of NRTI-antiviral Drugs: An integrated Cellular Perspective*. Nature Reviews, 2003. **2**: p. 812-22
109. Liechtenstein K.A., *Redefining Lipodystrophy Syndrome*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2005. **39** (4): p. 395-400.
110. Lim S.E. und Copeland W.C., *Differential Incorporation and Removal of Antiviral Deoxynucleotides by Human Polymerase γ* . J Biol Chem, 2001. **276**(26): p. 23616-23
111. Loeb L.A., Wallace D.C. und Martin GM., *The mitochondrial theory of aging and its relationship to reactive oxygene species damage and somatic mtDNA mutations*. PNAS, 2005. **102**(52): p. 18769-18770.
112. Lor E. und Liu Y.Q., *Didanosine-associated eosinophilia with acute thrombocytopenia*. Ann Pharmacother, 1993. **27**: p. 23-25.
113. Luciano C.A. Pardo C.A., McArthur J.C. et al., *Recent developments in HIV neuropathies*. Current Opinion in Neurology, 2003. **16**: p. 403-409.
114. Luster M.I., Rosenthal G.J., Cao W. et al., *Experimental studies of the hematologic and immune system toxicity of nucleoside derivatives used against HIV-Infection*. Int J Immunopharmacol, 1991. **13** (Suppl 1): p. 99-107. (Abstract)
115. Lutton J.D., Mathew A. Levere R.D. et al., *Role of Heme Metabolism in AZT-induced Bone Marrow Toxicity*. Am J Hematol, 1990. **35**: p. 1-5. (Abstract)
116. Maagaard A., Holberg-Petersen M., Kvittingen E.A. et al., *Depletion of mitochondrial DNA copies/cell in peripheral blood mononuclear cells in HIV-1-infected treatment-naïve patients*. HIV Med, 2006. **7**: p. 53-58
117. Machida K., Cheng K. T.-H., Lai C.-K. et al., *Hepatitis C-Virus Triggers Mitochondrial Transition with Production of Reactive Oxygene Species, Leading to DNA Damage and STAT3 Activation*. J Virol, 2006. **80** (14): p. 7199-207
118. Madamanchi N.R. and Runge M.S., *Mitochondrial Dysfunction in Atherosclerosis*. Circ res, 2007. **100**: p. 460-73.
119. Mallal S.A., John M., Moore C.B. et al., *Contribution of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors to subcutaneous fat wasting in patients with HIV infection*. AIDS, 2000. **14**(10): p. 1309-16.

120. Mato J.M., Alvarez L, Ortiz P. et al., *S-Adenosylmethionine Synthesis: Molecular Mechanisms and Clinical Implications*. Pharmacol Ther, 1997. **73**(3): p. 265-280.
121. Matarrese P., Gambardella L., Cassone A. et al, *Mitochondrial Membrane Hyperpolarization Hijacks Activated T Lymphocytes Towards The Apoptotic-Prone Phenotype: Homeostatic Mechanisms of HIV Protease Inhibitors*. The Journal of Immunology, 2003. **170**: p. 6006-6015
122. McArthur J.C., *Neurpathogenic Manifestations of HIV-Infection and Its Therapy*. 11th Conference on retroviruses and opportunistic infections complications of HIV infection and antiretroviral therapy, opportunistic infections, and coinfections. 2004. p. 3-6.
123. McComsey G.A., Paulsen D.M., Lonergan J.T. et al. (2005a), *Improvements in lipoatrophy mitochondrial DNA levels and fat apoptosis after replacing stavudine with abacavir or zidovudine*. AIDS, 2005. **19**: p. 15-23.
124. McComsey G.A., Bai R.-K., Maa J.-F. et al. (2005b), *Extensive Investigations of Mitochondrial DNA Genome in Treated HIV-Infected Subjects – Beyond Mitochondrial DNA-Depletion*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2005. **39**(2): p. 181-8
125. McComsey G.A. und Lonergan J.T., *Mitochondrial Dysfunction: Patient Monitoring and Toxicity Management*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2004. **37** (1): p. S30-5
126. McComsey G.A. und Walker U.A., *Role of mitochondria in HIV lipoatrophy: insight into pathogenesis and potential therapies*. Mitochondrion, 2004. **4**: p. 111-8.
127. McCurdy D.T und Kennedy J.M., *AZT decreases rat myocardial cytochrome oxidase activity and increases beta-myosin heavy chain content*. J Mol Cell Cardiol, 1998. **30** (10): p. 1979-89. (Abstract)
128. Milazzo L., Riva A., Sangaletti O. et al., *¹³C-Methionine Breath Test Detects Liver Mitochondrial Impairment in HIV-Infected Patients with Antiretroviral Drug-Related Hyperlactatemia*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2004. **35**(4): p. 429-32.
129. Milazzo L., Piazza M., Sangaletti O. et al., *¹³C-Methionin breath test: a novel method to detect antiretroviral drug-related mitochondrial toxicity*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2005. **55**(1): p. 84-89
130. Milazzo L., Menzaghi B., Massetto B. et al., (Letter to the Editor) *¹³C-Methionine Breath Test detects Drug-Related hepatic Mitochondrial dysfunction in HIV-Infected Patients*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2006. **41** (2): p. 252-253.

131. Miró Ò, López S., Martínez E. et al., *Mitochondrial Effects of HIV Infection on the Peripheral Blood Mononuclear Cells of HIV-Infected Patients Who Were Never Treated with Antiretrovirals*. Clin Infect Dis, 2004. **39**: p. 710-6
132. Modica-Napolitano J.S., *AZT Causes Tissue-Specific Inhibition of Mitochondrial Bioenergetic Function*. Biochem Biophys Res Commun, 1993. **194**(1): p. 70-7
133. Montaner J.S. Côté H.C.F., Harris M. et al., *Mitochondrial Toxicity in the Era of HAART: Evaluating Venous Lactate and Peripheral Blood Mitochondrial DNA in HIV-Infected Patients Taking Antiretroviral Therapy*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2003. **34** (1): p. S85-90.
134. Montaner J. S., Côté H.C.F., Harris M. et al., *Nucleoside-related mitochondrial toxicity among HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy: insights from the evaluation of venous lactic acid and peripheral blood mitochondrial DNA*. Clin Infect Dis, 2004. **38 Suppl 2**: p. S73-9.
135. Moyle G., *Clinical manifestations and management of antiretroviral nucleoside analog-related mitochondrial toxicity*. Clin Ther, 2000. **22**(8): p. 911-36.
136. Moyle G., *Anaemia in persons with HIV-Infection: Prognostic Marker and Contributor to Morbidity*. AIDS Rev, 2002. **4**: 13-20.
137. Müller M.J. und Przyrembel H., *Ernährungsmedizinische Behandlung* in Müller M.J., Przyrembel H., Schmidt T., et al., *Ernährungsmedizinische Praxis*, 1998. Berlin, Heidelberg: Springer, p. 343-4.
138. Murphy M. D., O'Hearn M. und Chou S., *Fatal lactic acidosis and acute renal failure after addition of tenofovir to an antiretroviral regimen containing didanosine*. Clin Infect Dis, 2003. **36**(8): p. 1082-5.
139. Natarajan S. K., Eapen C.E., Pullimood A.B. et al., *Oxidative stress in experimental liver microvesicular steatosis: Role of mitochondria and peroxisomes*. J Gastroenterol Hepatol, 2006. **21**: p. 1240-9.
140. Neupert E., *13C-Leberfunktions-Atemtest: eine einfache Methode zur Klassifikation und quantitativen Determination der Leberfunktion*, Medizinische Klinik I der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, 2002. Friedrich-Alexander-Universität: Erlangen-Nürnberg: p. 72.
141. Niemelä O. und Parkkila S., *Alcoholic macrocytosis – is there a role for acetaldehyde and adducts?* Addiction Biol, 2004. **9**: p 3-10.

142. Nolan D.A., Hammond E., Martin A. et al., *Mitochondrial DNA depletion and morphologic changes in adipocytes associated with nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy*. AIDS, 2003. **17**(9): p. 1329-38.
143. Nomura-Takigawa Y., Nagano-Fujii M., Deng L. et al., *Non-structural protein 4A of Hepatitis C virus accumulates on mitochondria and renders the cells prone to undergoing mitochondria-mediated apoptosis*. Journal of General Virology, 2006. **87**: p. 1935-45.
144. Oliveira C.P.M.S., Coelho M.M., Barbeiro H.V. et al., *Liver mitochondrial dysfunction and oxidative stress in the pathogenesis of experimental nonalcoholic fatty liver disease*. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2006. **39**: p. 189-94.
145. Parker W.B., White E.L., Shaddix S.C. et al., *Mechanism of Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase and Human DNA Polymerases α , β , and γ by the 5'-Triphosphates of Carbovir, 3'-Azido-3'-deoxythymidine, 2',3'-Dideoxyguanosine, and 3'-Deoxythymidine*. J Biol Chem, 1991. **266**(3): p. 1754-62.
146. Pereira L.F., Oliveira M.B. und Carnieri E.G., *Mitochondrial Sensitivity to AZT*. Cell Biochem Funct, 1998. **16**(3): p. 173-81. (Abstract)
147. Petit F., Fromenty B., Owen A. et al., *Mitochondria are sensors for HIV drugs*. Trends in Pharmacological Science, 2005. **26**(5): p. 258-64.
148. Petrides P., *Stoffwechsel der Aminosäuren* in Löffler G., Petrides P., *Biochemie und Pathobiochemie*, 6. Auflage, Petrides P., 1998. Berlin, Heidelberg: Springer, p. 522-578
149. Pilon A.A., Lum J.J., Sanchez-Dardon J. et al., *Induction of Apoptosis by a Nonnucleoside Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase Inhibitor*. Antimicrob Agents Chemother, 2002. **46**(8): p. 2678-91
150. Piot P., Quinn T.C., Taelman H. et al., *Acquired Immunodeficiency syndrome in a heterosexual population in Zaire*. Lancet, 1984. **2**(8394): p. 65-9. (Abstract)
151. Pitchenik A.E., Fischl M.A. und Spira T.J., *Acquired immune deficiency syndrome in low-risk patients. Evidence for possible transmission by an asymptomatic carrier*. JAMA, 1983. **250**(10): p. 1310-2. (Abstract)
152. Pollack M. und Leeuwenburgh C., *Apoptosis and Aging: Role of the Mitochondria*. Journal of Gerontology 2001, **56A**(11): p. B457-82.

153. Ravussin E., Pahud P., Dörner A. et al., *Substrate Utilization During Prolonged Exercise Preceded by Ingestion of ¹³C-Glucose in Glycogene Depleted and Control Subjects*. Pflügers Arch, 1979. **382**: p. 197-202.
154. Reiss P., Casula M., de Ronde A. et al., *Greater and more rapid depletion of mitochondrial DNA in blood of patients treated with dual (zidovudine + didanosine or zidovudine + zalcitabine) vs. single (zidovudine) nucleoside reverse transcriptase inhibitors*. HIV Med, 2004. **5**(1): p. 11-4.
155. Robbins G.K., De Gruttola V., Shafer R.W. et al., *Comparisons of Sequential Three-Drug-Regimens as Initial Therapy for HIV-1 Infection*. N Engl J Med, 2003. **349**(24): p. 2293-303.
156. Romanelli F., Empey K. und Pomeroy C., *Macrocytosis as an Indicator of Medication (Zidovudine) Adherence in Patients with HIV-Infection*. AIDS Patient Care STD, 2002. **16**: p. 405-11.
157. Roumier T., Szabadkai G., Simoni A.-M., et al., *HIV-1 protease inhibitors and cytomegalovirus vMIA induce mitochondrial fragmentation without triggering apoptosis*. Cell Death and Differentiation, 2006. **13**: p. 348-51.
158. Saghayam S., Kumarasami N., Cecelia A.J., *Weight and Body Shape Changes in a Treatment-Naive Population after 6 Months of Nevirapine-Based Generic Highly Active Antiretroviral Therapy in South India*. Clin Infect Dis, 2007. **44**: 295-300.
159. Saint-Marc T., Partisani M., Poizot-Martin I. et al., *A syndrome of peripheral fat wasting (lipodystrophy) in patients receiving long-term nucleoside analogue therapy*. AIDS, 1999. **13**: p. 1659-67.
160. Saint-Marc T., Partisani M., Poizot-Martin I. et al., *Fat distribution evaluated by computed tomography and metabolic abnormalities in patients undergoing antiretroviral therapy: preliminary results of the Lipoco study*. AIDS, 2000. **14**: p. 37-49.
161. Schoeller D.A., Schneider J.F., Solomons N.W. et al., *Clinical Diagnosis with the stable isotope ¹³C in CO² breath tests: Methodology and fundamental considerations*. J Lab Clin Med, 1977. **90**(3): p. 412-21.
162. Seedat J., Marcus U. und Kiehl W., *ZumWelt-AIDS-Tag 2007*. Epidemiologisches Bulletin des RKI, 2007. **47**: p. 429-444.
163. Semino-Mora M.C., Leon-Monzon M.E. und Dalakas M.C. (1994a), *Effect of L-Carnitine on the Zidovudine-induced Destruction of Human Myotubes. Part I: L-*

- Carnitine Prevents the Myotoxicity of AZT in Vitro*. Lab Invest, 1994. **71**(1): p. 102-12.
164. Semino-Mora M.C., Leon-Monzon M.E. und Dalakas M.C. (1994b), *Effect of L-Carnitine on the Zidovudine-induced Destruction of Human Myotubes. Part II: Treatment with L-carnitine improves the AZT-induced changes and prevents further destruction*. Lab Invest, 1994. **71**(5): p. 773-81.
165. Shafer R.W., Smeaton L.M., Robbins G.K. et al., *Comparisons of Four-Drug Regimens and Pairs of Sequential Three-Drug Regimens as Initial Therapy for HIV-1 Infection*. N Engl J Med, 2003. **349**(24): p. 2304-15.
166. Shirakata Y. und Koike K., *Hepatitis B Virus X Protein Induces Cell Death by Causing Loss of Mitochondrial Membrane Potential*. J Biol Chem, 2003. **278** (24): p. 22071-8.
167. Simha V. und Garg A., *Lipodystrophy: lessons in lipid and energy metabolism*. Curr Opin Lipodol, 2006. **17**: p. 162-9.
168. Solís Herruzo J.A., García Ruiz I., Pérez Carreras M. et al., *Non-alcoholic fatty liver disease. From insulin resistance to mitochondrial dysfunction*. Rev Esp Enferm Dig, 2006. **98**(11): p. 844-74.
169. Sommadossi J.P., Carlisle R., und Zhou Z., *Cellular Pharmacology of 3'-Azido-3'-Deoxythymidine with Evidence of Incorporation into DNA of Human Bone Marrow Cells*. Mol Pharmacol, 1989. **36**: p. 9-14.
170. Spahr L., Negro F., Leandro G. et al., *Impaired hepatic mitochondrial oxidation using the 13C-methionine breath test in patients with macrovesicular steatosis and patients with cirrhosis*. Med Sci Monit, 2003. **9**(1): p. CR6-11.
171. Spahr L., Negro F., Rubbia-Brandt L. et al., *Acute valproate-associated microvesicular steatosis: could the [13C]methionine breath test be useful to assess liver mitochondrial function?* Dig Dis Sci, 2001. **46**(12): p. 2758-61.
172. Spiga M.G., Weidner D.A., Trentesaux C. et al., *Inhibition of Beta-Globin Gene Expression by 3'-Azido-3'-Deoxythymidine in Human Erythroid Progenitor Cells*. Antiviral Res, 1999. **44**: p. 167-77. (Abstract)
173. Sternfeld T., *Lipodystrophie und Stoffwechselstörungen im Rahmen der antiretroviralen HIV-Therapie*. MedReview - AIDS-Kongreß, 2005. **6**(7): p. 3-4
174. Szabados E., Fischer G.M., Toth K. et al., *Role of Reactive Oxygen Species and Poly-ADP-Ribose Polymerase in the Development of AZT-induced Cardiomyopathy in Rats*. Free Radic Biol Med, 1999. **26**(3/4): p. 309-17.

175. ter Hofstede H.J.M., Burger D.M., Koopmanns P.P., *Antiretroviral therapy in HIV patients: aspects of metabolic complications and mitochondrial toxicity*. The Netherlands Journal of Medicine, 2003. **61** (12): p. 393-403
176. ter Hofstede H.J.M., Willems H.L und Koopmanns P.P., *Serum L-lactate and pyruvate in HIV-infected patients with and without presumed NRTI-related adverse events compared to healthy volunteers*. J Clin Virol, 2004. **29**(1): p. 44-50.
177. Thomas L. *Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST) in* Thomas L., *Labor und Diagnose*, 5.Auflage, 1998. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, p. 57-67.
178. van der Valk M., Gisolf E.H., Reiss P. et al., *Increased risk of lipodystrophy when nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors are included with protease inhibitors in the treatment of HIV-1 infection*. AIDS, 2001. **15**: p. 847-55.
179. Vigouroux C., Gharakhanian S., Salhi J. et al., *Adverse metabolic disorders during highly active antiretroviral treatments (HAART) of HIV disease*. Diabetes Metab, 1999. **25**(5): p. 383-92.
180. Villarroya F., Domingo P. und Giralt M., *Lipodystrophy associated with highly active anti-retroviral therapy for HIV-infection: the adipocyte as a target of anti-retroviral-induced mitochondrial toxicity*. Trends Pharmacol Sci, 2005. **26** (2): p. 88-93.
181. Volberding P.A., Lagakos S.W., Koch M.A. et al., *Zidovudine in asymptomatic human immunodeficiency virus infection. A controlled trial in persons with fewer than 500 CD4-positive cells per cubic millimetre*. The AIDS Clinical Trials Group of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. N Engl J Med, 1990. **322**(14): p. 941-9. (Abstract)
182. Volberding P.A., Lagakos S.W., Grimes J.M. et al., *A Comparison of Immediate with Deferred Zidovudine Therapy for asymptomatic HIV-infected Adults with CD4 Cell Counts of 500 or more per cubic millimeter*. N Engl J Med, 1995. **333**(7): p. 401-7.
183. Volberding P.A., Levine A.M., Dieterich D. et al., *Anemia in HIV Infection: Clinical Impact and Evidence-Based Management Strategies*. Clin Infect Dis, 2004. **38**: p. 1454-63.
184. Voß W., Buttler G., Eckey H.F. et al., *Taschenbuch der Statistik*, 2. Auflage, 2004. München, Wien: Fachbuchverlag Leipzig im Carl Hanser Verlag.
185. Walker U. und Brinkmann K., *NRTI induced mitochondrial toxicity as a mechanism for HAART related lipodystrophy: fact or fiction?* HIV Med, 2001. **2**: p. 163-5.

186. Walker U., *Mitochondriale Toxizität von Nucleosidanaloga* in Hoffmann C., Kamps B.S. und Rockstroh J.K., *HIV.NET 2002*, 2002, Wuppertal: Steinhäuser Verlag.
187. Walker U., Setzer B., und Venhoff N., *Increased long-term mitochondrial toxicity in combinations of nucleoside analogue reverse-transcriptase inhibitors*. *AIDS*, 2002. **16**(16): p. 2165-73.
188. Weidner D.A., Bridges E.G., Cretton E.M. et al., *Comparative effects of 3'-azido-3'-deoxythymidine and its metabolite 3'-amino-3'-deoxythymidine on hemoglobin synthesis in K-562 human leukemia cells*. *Mol Pharmacol*, 1992. **41**: p. 252-8.
189. White A. J., *Mitochondrial toxicity and HIV therapy*. *Sex Transm Infect*, 2001. **77**(3): p. 158-73.
190. Wolfe R.R., *Isotope Ratio Mass Spectrometry: Instrumentation and Calculation of Isotopic Enrichment* in Wolfe R.R., *Radioactive and Stable Isotope Tracers in Biomedicine and Practice of Kinetic Analysis*, 1992. New York, N.Y: Wiley-Liss Inc., p. 23-36.
191. Wulff E.A. und Simpson D.M., *HIV-associated Peripheral Nervous System Complications*. *NeuroAIDS*, 1999. **2**(3).
<http://aidsscience.com/neuroaids/zones/articles/1999/03/Complications/index.asp>
192. Yakes F.M. und Van Houten B., *Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress*. *Proc Natl Acad Sci*, 1997. **94**(2): p. 514-9.
193. Yeni P., *Update on HAART in HIV*. *Journal of Hepatology*, 2006. **44**: p. S100-3.

Anhang

A Tabellen

	<i>Gruppe I</i>	<i>Gruppe II</i>	<i>Gruppe IV</i>
N	4	3	6
Unterschied DOB_{\max} Baseline - 3 Monate	0,273	0,180	0,917
Unterschied Zeit DOB_{\max} Baseline – 3 Monate	0,414	0,317	0,705
Unterschied Kum 120 Baseline – 3 Monate	0,715	1,000	0,753

Tab. 1: p-Werte im Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben zur Feststellung eines signifikanten intraindividuellen Unterschieds der Testergebnisse im Verlauf von drei Monaten.

	<i>HIV-</i>	<i>HIV+, ART-</i>	<i>HIV+, ART+</i>
	N = 8	N = 13	N = 40
Alter (Jahre)	35 ± 15	42 ± 8	45 ± 11 * ♦
Infektionsdauer (Monate)	-	73 ± 86	141 ± 59 ♦
BMI (kg/m²)	22,6 ± 1,8	23,4 ± 7,4	23,9 ± 3,3
RR syst. (mmHg)	119 ± 14	114 ± 10	124 ± 14
RR diast. (mmHg)	80 ± 8	79 ± 9	83 ± 9
Puls (Schläge/min.)	69 ± 10	71 ± 12	71 ± 10
AF (Züge/min)	13 ± 1	14 ± 2	14 ± 2
Leichte körperliche Aktivität (min/Woche)	253 ± 162	222 ± 181	796 ± 1197
Starke körperliche Aktivität (min/Woche)	118 ± 90	255 ± 212	134 ± 255 ♦
TPZ (%)	98 ± 6	97 ± 8	96 ± 14
GOT (U/l)	24 ± 6	31 ± 13	37 ± 19*
GPT (U/l)	25 ± 8	35 ± 25	41 ± 31
γGT (U/l)	22 ± 7	60 ± 95	52 ± 34*
AP (U/l)	68 ± 10	73 ± 18	91 ± 27* ♦
Bilirubin (mg/dl)	0,9 ± 0,9	0,6 ± 0,4	1,0 ± 0,8
Laktat (mmol/l)	1,0 ± 0,2	1,2 ± 0,6	1,5 ± 0,8
CRP (mg/dl)	0,2 ± 0,2	0,8 ± 1,8	0,3 ± 0,3
Glukose (mg/dl)	79 ± 11	86 ± 9	85 ± 14
Triglyzeride (mg/dl)	89 ± 20	95 ± 34	281 ± 260
Gesamtcholesterin (mg/dl)	179 ± 25	160 ± 22	219 ± 55♦
HDL (mg/dl)	62 ± 23	36 ± 10*	42 ± 15*
LDL (mg/dl)	100 ± 22	106 ± 16	124 ± 43
CD4-Zellen (Zellen/μl)	-	253 ± 133	498 ± 214 ♦
CD4-Anteil an T-Zellen (%)	-	16 ± 9	26 ± 11 ♦
CD4-Nadir (Zellen/μl)	-	179 ± 110	200 ± 141
Viruslast (cp/ml)	-	100127 ± 164891	2883 ± 14692 ♦
Gesamttherapiedauer (Monate)	-	-	84 ± 48
Dauer aktuelle Therapie (Monate)	-	-	29 ± 33

Tab. 2: Studienpopulation. Signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) zur Kontrollgruppe (HIV-) gekennzeichnet durch *, signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) zwischen HIV-Patienten unter Therapie (HIV+, ART+) und therapie-naiven HIV-Patienten (HIV+, ART-) gekennzeichnet durch ♦.

<i>ART</i>	<i>ddI & d4T</i>	<i>weder ddI, noch d4t</i>	<i>d4T & 3TC</i>	<i>ddI & TDF</i>
N	6	20	6	8

Tab. 3: Verteilung der Patienten unter antiretroviraler Therapie auf die Untergruppen. ART = Antiretrovirale Therapie, d4T = Stavudin, ddI = Didanosin, 3TC = Lamivudin, TDF = Tenofovir.

	<i>N</i>	<i>Art. HT</i>	<i>HLÄ</i>	<i>HypoTH</i>	<i>DM II</i>	<i>Chron. NI</i>
HIV+, ART-	13	2 (15%)	1 (8%)	1 (8%)	1 (8%)	0
HIV+, ART+	40	5 (13%)	2 (5%)	0	1 (3%)	2 (5%)

Tab. 4: Übersicht über relevante Begleiterkrankungen bei HIV-Patienten (HIV+) ohne (ART-) und mit (ART+) antiretroviraler Therapie. Art. HT = arterielle Hypertonie, HLÄ = Hyperlipidämie, HypoTH = Hypothyreose, DM II = Diabetes mellitus Typ II, Chron. NI = chronische Niereninsuffizienz.

	<i>HIV+, ART-</i>	<i>HIV+, ART+</i>
N	13	40
β -Blocker	1 (8%)	3 (8%)
ACE-Hemmer	1 (8%)	4 (10%)
Ca ²⁺ -Antagonisten	0	1 (3%)
Thiazide	1 (8%)	1 (3%)
Schleifendiuretika	0	3 (8%)
Statine	1 (8%)	2 (5%)
Cumarine	0	1 (3%)
Thrombozytenaggregationshemmer	1 (8%)	2 (5%)
Schilddrüsenhormone	1 (8%)	0
Glitazone	0	1 (3%)
Sulfonylharnstoffe	1 (8%)	0
Biguanide	1 (8%)	0
Neuroleptika	0	4 (10%)
Serotonin-Reuptake-Hemmer	0	1 (3%)
Andere Antidepressiva	0	1 (3%)
Östrogene/Gestagene	0	2 (5%)

Tab. 5: Übersicht über Begleitmedikationen bei HIV-Patienten (HIV+) ohne (ART-) und mit (ART+) antiretroviraler Therapie.

	<i>Keine Neuropathie</i>	<i>Neuropathie</i>
N	39	14
Alter (Jahre)	42 (± 10; 24-73)	50 (± 8; 31-69)
CD4 (Zellen/μl)	446 (± 210; 14-919)	414 (± 263; 58-880)
HI-Viruslast (cp/ml)	26735 (± 97099; <50-501187)	26737 (± 72955; <50 -265466)
Infektionsdauer (Monate)	106 (± 65; 0-239)	173 (± 71; 1-251)
ART (Anzahl/N)	27/39	13/14
Gesamttherapiedauer (Monate)	72 (± 36; 6-138)	107 (± 60; 24-227)
Exposition d4T (Anzahl/N)	21/27	4/13
Dauer d4T-Exposition (Monate)	45 (± 6; 1-83)	43 (± 14; 6-70)
Exposition ddi (Anzahl/N)	15/27	3/13
Dauer ddi-Exposition (Monate)	37 (± 11; 3-171)	13 (± 8; 1-24)

Tab. 6: Übersicht über Risikofaktoren der Neuropathie bei HIV-Patienten. Quantitative Angaben als Mittelwerte mit Standardabweichung und Range. ART = Antiretrovirale Therapie, d4T = Stavudin, ddi = Didanosin

	<i>Lipoatrophie</i>	<i>Lipoakkumulation</i>	<i>Kombination</i>
N	10	3	9
Geschlecht (♀/♂)	4/6	0/3	3/6
Alter (Jahre)	44 (± 8; 31-54)	55 (± 6; 48-59)	47 (± 13; 31-73)
CD4 (Zellen/μl)	515 (± 200; 262-880)	621 (± 272; 319-845)	475 (± 298; 58-919)
HI-VL (cp/ml)	530 (± 1519; <50-4854)	< 50 (± 0)	12094 (± 30436; <50-92000)
ART-Dauer (Monate)	99(± 33; 52-159)	60 (± 35; 24-94)	107 (± 68; 6-227)
Exposition d4T (x/N)	5/10 (50%)	2/3 (67%)	5/9 (56%)
d4T-Dauer (Monate)	4 (± 22; 12-68)	41 (± 18; 28-53)	46(± 19; 16-62)
Exposition AZT (x/N)	3/10 (30%)	2/3 (67%)	4/9 (44%)
AZT-Dauer (Monate)	28 (± 27; 11-60)	21 (± 6; 17-25)	43 (± 46; 1-96)
Exposition PI (x/N)	7/10 (70%)	2/3 (67%)	8/9 (89%)
PI-Dauer (Monate)	41(± 23; 13-72)	11 (± 7; 6-16)	46 (± 59; 1-171)

Tab. 7: Übersicht über Risikofaktoren verschiedener Formen der Lipodystrophie. Quantitative Angaben als Mittelwerte mit Standardabweichung und Range. d4T = Stavudin, AZT = Azidothymidin = Zidovudin, PI = Proteaseinhibitor, HI-VL= HI-Viruslast, ART-Dauer = Gesamtdauer der antiretroviralen Therapie, d4T- bzw. AZT- bzw. PI-Dauer: Dauer der Therapie mit d4T, AZT oder PI.

		<i>HIV-</i>	<i>HIV+</i> , <i>ART-</i>	<i>HIV+</i> , <i>ART+</i>	<i>HIV+</i> , <i>ART+</i> , <i>HBV</i>
LPS	N	1	2	14	3
	GOT (U/l)	36	23 (± 1 ; 22-24)	31 (± 9 ; 20-50)	64 (± 14 ; 52-79)
	GPT (U/l)	39	44 (± 24 ; 26-61)	33 (± 14 ; 14-69)	110 (± 46 ; 65-156)
	γGT (U/l)	19	76 (± 65 ; 30-122)	66 (± 46 ; 16-166)	67 (± 42 ; 35-114)
Steatosis	N	0	1	2	1
	GOT (U/l)	-	67	35 (± 12 ; 26-43)	60
	GPT (U/l)	-	100	26 (± 5 ; 22-29)	108
	γGT (U/l)	-	360	45 (± 16 ; 34-56)	52

Tab. 8: Übersicht über die HIV-negativen (*HIV-*) und HIV-positiven (*HIV+*) Studienteilnehmer mit (*ART+*) und ohne antiretrovirale Therapie (*ART-*) mit sonographisch diagnostizierten Leberparenchymschaden (**LPS**) und **Steatosis hepatis**. Angabe von Mittelwerten, Standardabweichungen und Range für die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (**GOT**), die Glutamat-Pyruvat-Transaminase (**GPT**) und die γ -Glutamyltransferase (**γ GT**).

	<i>N</i>	<i>GOT</i>	<i>GPT</i>
HIV+, ART-	11	32 (± 13 ; 21-67)	38 (± 26 ; 15-100)
HIV+, ART-, HBV oder HCV	2	26 (± 9 ; 19-32)	19 (± 8 ; 13-24)
HIV+, ART+	34	32 (± 15 ; 16-105)	31 (± 15 ; 0-70)
HIV+, ART+, HBV oder HCV	6	64 (± 10 ; 52-79)	98 (± 36 , 64-156)

Tab. 9: Übersicht über die Transaminasen (Mittelwert, Standardabweichung, Range) bei den HIV-positiven (*HIV+*) therapienaiven (*ART-*) Patienten mit chronischer Hepatitis B oder C (**HBV** oder **HCV**), und den HIV-positiven Patienten unter antiretroviraler Therapie (*ART+*) mit chronischer Hepatitis. Zum Vergleich die Transaminasen der therapienaiven und antiretroviral-behandelten HIV-Patienten ohne chronische Hepatitis.

	<i>N</i>	μ_{DOBmax}	σ_{DOBmax}	$\mu_{ZeitDOBmax}$	$\sigma_{ZeitDOBmax}$	μ_{kum120}	σ_{kum120}
HIV-	8	12,5	3,3	49	13	11,9	2,3
HIV+, ART-	13	11,3	3,1	51	19	11,3	2,7
HIV+, ART+	40	11,3	3,5	58	24	10,7	3,6

Tab. 10: Übersicht über Mittelwerte (μ) und Standardabweichungen (σ) von maximalem Delta-over-Baseline-Wert (DOB_{max} ; in parts per mil), Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} ($Zeit_{DOBmax}$; in min) und kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten (kum_{120} ; in %) in Kontrollgruppe (*HIV-*), Patientengruppe ohne ART (*HIV+*, *ART-*) und Patientengruppe mit ART (*HIV+*, *ART+*).

	N	μ_{DOBmax}	σ_{DOBmax}	$\mu_{ZeitDOBmax}$	$\sigma_{ZeitDOBmax}$	μ_{kum120}	σ_{kum120}
ddI & d4T	6	10,9	5,3	70	25	10,1	5,0
Ø ddI/d4T	20	11,6	3,4	56	24	11,0	3,8
d4T & 3TC	6	10,0	3,4	63	32	9,4	3,0
ddI & TDF	8	11,9	2,8	49	11	11,3	2,4

Tab. 11: Übersicht über Mittelwerte (μ) und Standardabweichungen (σ) von maximalem Delta-over-Baseline-Wert (DOB_{max} ; in parts per mil), Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} ($Zeit_{DOBmax}$; in min) und kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten (kum_{120} in %) in Gruppen mit unterschiedlicher ART. ddI = Didanosin, d4T = Stavudin, 3TC = Lamivudin, TDF = Tenofovir, Ø ddI/d4T = weder Didanosin, noch Stavudin.

	N	μ_{DOBmax}	σ_{DOBmax}	$\mu_{ZeitDOBmax}$	$\sigma_{ZeitDOBmax}$	μ_{kum120}	σ_{kum120}
ddI /d4T	20	11,0	3,7	59	24	10,4	3,4
andere ART	20	11,6	3,4	56	24	11,0	3,8

Tab. 12: Übersicht über Mittelwerte (μ) und Standardabweichungen (σ) von maximalem Delta-over-Baseline-Wert (DOB_{max} ; in parts per mil), Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} ($Zeit_{DOBmax}$; in min) und kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten (kum_{120} ; in %) bei Patienten unter Therapie mit Didanosin und/oder Stavudin (ddI /d4T) oder anderer ART.

	N	μ_{DOBmax}	σ_{DOBmax}	$\mu_{ZeitDOBmax}$	$\sigma_{ZeitDOBmax}$	μ_{kum120}	σ_{kum120}
VTH ddI/d4T	29	10,8	3,3	59	23	10,2	3,1
ØVTH mit ddI/d4T	11	12,8	3,8	55	23	12,1	4,5

Tab. 13: Übersicht über Mittelwerte (μ) und Standardabweichungen (σ) von maximalem Delta-over-Baseline-Wert (DOB_{max} ; in parts per mil), Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} ($Zeit_{DOBmax}$; in min) und kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten (kum_{120} ; in %) bei Patienten, die mit Didanosin oder Stavudin vortherapiert (VTH ddI/d4T) waren gegenüber Patienten ohne Vortherapie (ØVTH mit ddI/d4T) mit diesen Nukleosidanaloga.

	N	μ_{DOBmax}	σ_{DOBmax}	$\mu_{ZeitDOBmax}$	$\sigma_{ZeitDOBmax}$	μ_{kum120}	σ_{kum120}
Vor ART	6	11,1	3,1	50	15	10,8	3,0
3 Mon nach ART-Start	6	12,9	6,2	73	73	10,3	4,2

Tab. 14: Übersicht über Mittelwerte (μ) und Standardabweichungen (σ) von maximalem Delta-over-Baseline-Wert (DOB_{max} ; in parts per mil), Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} ($Zeit_{DOBmax}$; in min) und kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten (kum_{120} ; in %) in Gruppe III vor und drei Monate nach ART-Beginn.

	<i>N</i>	$\mu_{DOB_{max}}$	$\sigma_{DOB_{max}}$	$\mu_{ZeitDOB_{max}}$	$\sigma_{ZeitDOB_{max}}$	μ_{kum120}	σ_{kum120}
HIV-	8	12,5	3,3	49	13	11,9	2,3
HIV+, ART-	13	11,3	3,1	51	19	11,3	2,7
HIV+, ART+, PI-	13	12,1	2,8	59	27	11,5	2,8
HIV+, ART+, PI+	27	11,0	3,8	57	22	10,3	3,9
HIV+, ART+, NNRTI-	26	11,1	3,7	58	22	10,6	3,8
HIV+, ART+, NNRTI+	14	11,8	3,2	58	28	10,9	3,4

Tab. 15: Übersicht über Mittelwerte (μ) und Standardabweichungen (σ) von maximalem Delta-over-Baseline-Wert (DOB_{max} ; in parts per mil), Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} ($Zeit_{DOB_{max}}$; in min) und kumulativer Wiederfindungsrate nach 120 Minuten (kum_{120} ; in %) bei der gesunden Kontrollgruppe (HIV-), HIV-Patienten ohne antiretrovirale Therapie (HIV+, ART-), HIV-Patienten unter ART ohne Proteaseinhibitoren (HIV+, ART+, PI-) und HIV-Patienten unter ART mit Proteaseinhibitoren (HIV+, ART+, PI+) sowie HIV-Patienten unter ART ohne (HIV+, ART+, NNRTI-) und mit NNRTI (HIV+, ART+, NNRTI+)

	DOB_{max}		KUM_{120}		$Zeit_{DOB_{max}}$	
	PK	p_{PK}	PK	p_{PK}	PK	p_{PK}
Gesamtkollektiv	-0,32	0,012*	-0,33	0,010 *	0,24	0,069
HIV-	-0,35	0,402	0,09	0,834	-0,57	0,141
Alle HIV+	-0,31	0,023 *	-0,33	0,015 *	0,24	0,088
HIV+, ART-	-0,54	0,057	-0,43	0,146	0,21	0,496
HIV+, ART+	-0,28	0,084	-0,29	0,065	0,22	0,170
HIV+, ddI&d4T	-0,35	0,492	-0,51	0,306	0,78	0,065
HIV+, ØddI/d4T	-0,31	0,179	-0,46	0,041*	0,26	0,276
HIV+, d4T&3TC	-0,78	0,068	-0,76	0,083	0,11	0,707
HIV+, ddI&TDF	0,51	0,200	0,49	0,213	-0,47	0,238

Tab. 16: Pearson'sche Korrelationskoeffizienten (PK) samt zugehörigen Signifikanzen für den Zusammenhang zwischen Serumlaktat und Ergebnissen des Atemtests in den einzelnen Untergruppen. Signifikante Korrelationen ($p \leq 0,05$) sind gekennzeichnet durch *. DOB_{max} : maximaler Delta-over-Base-Wert; KUM_{120} : kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten; $Zeit_{Dobmax}$: Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} ; HIV-: Kontrollgruppe; HIV+: HIV-positive Probanden; ART-: keine antiretrovirale Behandlung; ART+: Behandlung mit antiretroviralen Medikamenten; DD: ddI: Didanosin; d4T: Stavudin; 3TC: Lamivudin; TDF: Tenofovir.

	DOB_{max}		KUM_{120}		$Zeit_{DOB_{max}}$	
	PK	p _{PK}	PK	p _{PK}	PK	p _{PK}
Gesamtkollektiv	-0,01	0,930	-0,26	0,048*	0,32	0,012*
HIV-	0,54	0,165	0,23	0,585	0,58	0,134
Alle HIV+	-0,04	0,765	-0,28	0,048*	0,31	0,027*
HIV+, ART-	0,42	0,174	0,05	0,872	-0,09	0,771
HIV+, ART+	-0,13	0,412	-0,30	0,059	0,35	0,028*
Aktuell d4T/ddI	0,18	0,458	-0,21	0,384	0,46	0,044*
Je d4T/ddI	-0,15	0,431	-0,24	-0,239	0,38	0,040*

Tab. 17: Pearson'sche Korrelationskoeffizienten (PK) samt zugehörigen Signifikanzen für den Zusammenhang zwischen BMI und Ergebnissen des Atemtests in den einzelnen Untergruppen. Signifikante Korrelationen ($p \leq 0,05$) sind gekennzeichnet durch *. DOB_{max} : maximaler Delta-over-Base-Wert; KUM_{120} : kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten; $Zeit_{DOB_{max}}$: Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} ; HIV-: Kontrollgruppe; HIV+: HIV-positive Probanden; ART-: keine antiretrovirale Behandlung; ART+: Behandlung mit antiretroviralen Medikamenten; Aktuell d4T/ddI: zum Zeitpunkt der Untersuchung Therapie mit Stavudin (d4T) oder Didanosin (ddI); je d4T/ ddI: zum Zeitpunkt der Untersuchung oder früher Therapie mit d4T oder ddI.

	DOB_{max}		KUM_{120}		$Zeit_{DOB_{max}}$	
	PK	p _{PK}	PK	p _{PK}	PK	p _{PK}
Gesamtkollektiv	-0,21	0,115	-0,31	0,017*	0,28	0,033*
HIV-	-0,13	0,768	-0,17	0,768	0,23	0,584
Alle HIV+	-0,20	0,165	-0,30	0,029*	0,26	0,059
HIV+, ART-	-0,56	0,059	-0,69	0,014*	0,22	0,493
HIV+, ART+	-0,21	0,195	-0,30	0,065	0,25	0,129

Tab. 18: Pearson'sche Korrelationskoeffizienten (PK) samt zugehörigen Signifikanzen für den Zusammenhang zwischen Triglyzeridlevel und Ergebnissen des Atemtests in den einzelnen Untergruppen. Signifikante Korrelationen ($p \leq 0,05$) sind gekennzeichnet durch *. DOB_{max} : maximaler Delta-over-Base-Wert; KUM_{120} : kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten; $Zeit_{DOB_{max}}$: Zeit bis zum Erreichen von DOB_{max} ; HIV-: Kontrollgruppe; HIV+: HIV-positive Probanden; ART-: keine antiretrovirale Behandlung; ART+: Behandlung mit antiretroviralen Medikamenten.

	<i>DOB_{max}</i>		<i>KUM₁₂₀</i>		<i>Zeit_{DOBmax}</i>	
	PK	p_{PK}	PK	p_{PK}	PK	p_{PK}
Gesamtkollektiv	-0,29	0,022*	-0,39	0,002*	0,29	0,026*
HIV-	0,28	0,496	0,00	0,992	0,48	0,232
Alle HIV+	-0,31	0,023*	-0,40	0,003*	0,26	0,063
HIV+, ART-	-0,04	0,906	-0,17	0,591	0,27	0,370
HIV+, ART+	-0,39	0,012*	-0,44	0,004*	0,22	0,168
Aktuell AZT	0,57	0,613	-0,60	0,592	-0,93	0,238
Früher AZT	-0,28	0,314	-0,43	0,113	0,52	0,046*
Aktuell d4T	-0,66	0,019*	-0,70	0,011*	0,30	0,344
Früher d4T	-0,14	0,657	-0,16	0,606	0,01	0,970

Tab. 19: Pearson'sche Korrelationskoeffizienten (PK) samt zugehörigen Signifikanzen für den Zusammenhang zwischen Mean Cellular Volume (MCV) und Ergebnissen des Atemtests in den einzelnen Untergruppen. Signifikante Korrelationen ($p \leq 0,05$) sind gekennzeichnet durch *. *DOB_{max}*: maximaler Delta-over-Base-Wert; *KUM₁₂₀*: kumulative Wiederfindungsrate nach 120 Minuten; *Zeit_{DOBmax}*: Zeit bis zum Erreichen von *DOB_{max}*; HIV-: Kontrollgruppe; HIV+: HIV-positive Probanden; ART-: keine antiretrovirale Behandlung; ART+: Behandlung mit antiretroviralen Medikamenten; Aktuell AZT bzw. d4T: zum Zeitpunkt der Untersuchung Therapie mit Zidovudin bzw. Stavudin; Früher AZT bzw. d4T: Früher in der Anamnese Therapie mit Zidovudin bzw. Stavudin.

B Liste der untersuchten Laborparameter

Lithium-Heparinat	EDTA	Citrat	Natrium- Fluorid	Serum-Gel
Natrium	Blutbild	Thrombo-	Laktat	TSH
Kalium	Differential-	plastinzeit	Glukose	Hepatitis-
Kreatinin	blutbild	(Quick)		Serologie
Harnstoff	CD4-Zellen			
Eiweiß	HIV-Viruslast			
Albumin				
Creatinkinase				
Laktatdehydrogenase				
Triglyzeride				
Cholesterin				
High-Density-Lipoprotein				
Low- Density-Lipoprotein				
Aspartat-amino-transferase				
Alanin-amino-transferase				
Gammaglutamyltransferase				
alkalische Phosphatase				
Bilirubin				
Alkohol				
C-reaktives Protein				

C Sportfragebogen

gekürzt nach: www.hepa.ch/gf_baspo/praeFIT02_Fragebogen.pdf, Page 2 (28.04.04)

- 1.) Hier geht es um körperliche Aktivitäten, bei denen Sie mindestens ein bisschen außer Atem kommen: z.B. zügiges Gehen, Wandern, Tanzen, viele Gartenarbeiten oder viele Sportarten

An wie vielen Tagen der Woche machen sie körperliche Aktivitäten dieser Art?

Kreisen sie diejenige Zahl ein, die am ehesten für sie zutrifft. 0 1 2 3 4 5 6 7

- 2.) Wie lange sind sie durchschnittlich an jedem dieser Tage aktiv?

_____Minuten

- 3.) Wie viele Jahre oder Monate sind sie schon in dieser Art aktiv?

_____Monate

_____Jahre

- 4.) Hier geht es um **sportliche** oder körperliche Aktivitäten, bei denen sie ziemlich ins Schwitzen kommen: Z.B. Joggen, Aerobics, Tennis, schnelles Radfahren, Sportsportarten, Schwimmen, Lasten tragen, Graben, Schaufeln.

An wie vielen Tagen der Woche machen sie körperliche Aktivitäten dieser Art?

Kreisen sie diejenige Zahl ein, die am ehesten für sie zutrifft. 0 1 2 3 4 5 6 7

- 5.) Wie lange sind sie durchschnittlich an jedem dieser Tage aktiv?

_____Minuten

Danksagung

Zum Entstehen dieser Dissertation haben viele Menschen beigetragen, denen ich im Folgenden danken möchte.

An erster Stelle gilt das für Herrn Professor Doktor Goebel für die Übernahme der Betreuung meiner Arbeit, sowie an die Zweit- und Drittbegutachter für die Bewertung meiner Arbeit.

Vielen Dank an Dr. Sternfeld für unermüdliche Anregungen, kritische Bemerkungen, gelegentliche energische Motivation, Korrekturen und Verbesserungsvorschläge.

Danke allen Mitarbeitern des Stoffwechsellabors im Dr. von Haunerschen-Kinderspital München für die massenspektrometrischen Analysen, allen voran Herrn Dr. Demmelair, der mir stets beratend und korrigierend zur Seite stand.

Den Schwestern in der Ambulanz auch ein herzliches Dankeschön für die tatkräftige Unterstützung beim Blutabnehmen und Finden von nötigen Utensilien.

Vielen Dank an die MTAs im Labor der Infektionsambulanz. Danke, dass Sie auch außerhalb der Routine manchmal Freitags CD4-Zellzahlen für uns bestimmt haben.

Herzlichen Dank auch an Frau Myska für Ihre Hilfe mit widerspenstigen Computern, gelegentliche Dolmetschertätigkeit und stets freundliche Begrüßung.

Außerdem vielen Dank an die Studienkoordinatorinnen Frau Dr. Goetsch und Frau Ludwig für die Hilfe bei der Rekrutierung von Probanden.

Vielen Dank an Eva Etschel. Ohne Deine Hilfe hätte mich SPSS manches Mal an den Rand der Verzweiflung gebracht.

Danken möchte ich natürlich besonders allen, die als Probanden an den Atemtestuntersuchungen teilgenommen und ihre Zeit dafür geopfert haben. Ohne sie wäre die Arbeit nicht möglich gewesen.

Nicht zuletzt vielen Dank an meine ganze Familie, meine Eltern, Schwiegereltern, Geschwister und meinen Mann für ständige liebevolle Ermutigung sowie stilistische und orthographische Korrekturen.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Antje Charlotte Lorenz, geb. Klose
Geburtsdatum: 14.11.1980
Geburtsort: München
Eltern: Dres. med. Elfriede und Peter Klose
Familienstand: verheiratet
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulische Laufbahn:

09/1987- 07/1991 Grundschule an der Föhrichstraße, München
09/1991-07/2000 Theresien-Gymnasium, München, humanistischer Zweig
05/2000 Abitur

Studium:

10/2000-10/2006 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München, Abschluss mit dem Staatsexamen am 10.10.2006

Berufliche Tätigkeit:

Seit 04/2007 Tätigkeit als Assistenzärztin in der medizinischen Klinik II des Klinikums Deggendorf

Dissertation:

04/2004 Beginn der Dissertationsarbeit
05.02.2009 mündliche Promotionsprüfung