

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Professor Dr. med. Martin Reincke

**Natürlicher Verlauf der HIV-Infektion:
Hat sich seit Beginn der Epidemie eine Veränderung
der Verfallsgeschwindigkeit von CD4-Zellen
im Zeitraum zwischen Infektion und
Behandlungsbeginn ergeben?**

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

vorgelegt von
Florian Ludwig Brey
aus Zwiesel

2015

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Johannes Bogner

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Bernd Sporer

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Priv. Doz. Dr. med. Ulrich Seybold

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 26.11.2015

Abkürzungen

AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ART	Antiretrovirale Therapie
BMG	Bundesministerium für Gesundheit
cART	Antiretrovirale Kombinationstherapie
CD	Cluster of differentiation
CDC	Centers for Disease Control
ClinSurv	Projekt „Klinische Überwachung der HIV-Krankheit“
HAART	Hochaktive antiretrovirale Therapie
HET	Heterosexuell
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IdkF	Intensivierung der klinischen Forschung
IDU	Intravenous Drug User
IfSG	Infektionsschutzgesetz
KLINAIDS	Multizentrischen Dokumentationsstudie “KLINAIDS”
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
RNA	Ribonucleic acid
START	„Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment“ Studie
u.a.	unter anderem
USA	United States of America
z.B.	zum Beispiel

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
1.1	Historischer Überblick	5
1.2	Implikationen der Virus-Wirt-Beziehung auf die Virulenz von HIV	5
1.3	Fragestellung	6
2	Patienten und Methodik	8
2.1	Datenquelle	8
2.2	Extraktionskriterien	9
2.3	Charakteristik der untersuchten Patienten und primäre Einteilung der Vergleichsgruppen	11
3	Ergebnisse	12
3.1	Vergleich der Wahrscheinlichkeitsverteilungen hinsichtlich des CD4-Verfalls beider Gruppen	12
3.2	Überlegungen zu möglichen Limitationen der ClinSurv Kohorte und sekundäre Einteilung der Patienten	13
4	Diskussion	17
5	Kommentar und Wertung der Ergebnisse unterschiedlicher Studien	25
6	Zusammenfassung	26
7	Danksagung	28
8	Literatur	29
	Lebenslauf	32

1 Einleitung

1.1 Historischer Überblick

Das erworbene Immundefektsyndrom, *acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)*, wurde formal erstmals Anfang der 80er Jahre an Patienten in den Vereinigten Staaten von Amerika beschrieben und am 1. Dezember 1981 als eigenständige Krankheit anerkannt.[1] Als Auslöser des Syndroms identifizierten die beiden Wissenschaftler Françoise Barré-Sinoussi und Luc Montagnier des *Institut Pasteur* ein T-lymphotropes Retrovirus und publizierten ihre Forschungsergebnisse 1983 im *Journal Science*. [2] Als ursprünglich vom Schimpansen auf den Menschen übertragene Zoonose hat sich die Virulenz von HIV möglicherweise im Adaptationsprozess an den neuen Wirt im Laufe der Zeit verändert. [3] Dabei ist das Ausmaß der Pathogenität der HIV-Infektion stark von der immun-destruktiven Virusreplikation abhängig. Bei der Replikation von HIV in einem infizierten T-Lymphozyten werden mithilfe der Zellmaschinerie neue Viruspartikel gebildet. Für die T-Zelle selbst kommt es dabei zu einer von drei möglichen Folgen: Destruktion, Apoptose oder Übergang in den Latenzpool als Gedächtniszelle.

1.2 Implikationen der Virus-Wirt-Beziehung auf die Virulenz von HIV

Die Dynamik der HIV-Infektion ist eine individuelle Größe, die aus der Virus-Wirt-Interaktion resultiert. Einerseits kann das Virus unterschiedliche Virulenzfaktoren mitbringen bzw. attenuiert sein; andererseits besteht die Möglichkeit, dass das Wirtsimmunsystem durch u.a. genetisch determinierte Eigenschaften die HIV-Replikation besonders effektiv hemmen kann. Die

bekannten Extremvarianten sind *Elite-Controller* und *Fast Progressor*. Bei *Elite-Controllern* ist das Immunsystem dazu in der Lage, die Viruslast ohne die Hilfe antiretroviraler Medikamente unter die Nachweisgrenze von 50 RNA-Kopien/ml zu supprimieren. Bei *Fast Progressoren* kann es vorkommen, dass bereits im ersten Jahr nach Serokonversion ein Abfall der CD4-Lymphozyten erreicht wird, der einen Therapiebeginn nahelegt. So endeten beispielsweise zwei jüngere Studien, in denen potenzielle Vorteile einer antiretroviralen Therapie während der primären oder frühen HIV-Infektion untersucht werden sollten, vorzeitig, da ein Fortschreiten des Immundefekts bis zum Erreichen von Kriterien, die den Therapiebeginn bedingen, häufiger auftrat als ursprünglich angenommen wurde.[3-5] Diese Beobachtung warf die Diskussion auf, ob die Aggressivität von HIV im Laufe der Epidemie zugenommen hat.

1.3 Fragestellung

Der Untersuchung in dieser Arbeit liegt die Annahme zugrunde, dass die Verfallsgeschwindigkeit der CD4-Zellen in nicht antiretroviral behandelten Patienten eine Messgröße darstellt, die eng mit der Virulenz von HIV korreliert ist.[6, 7] Dies hat eine Vielzahl von Implikationen, sowohl aus epidemiologischer Sicht als auch in Bezug auf klinische Aspekte. Anzuführen ist hier beispielsweise die schrittweise Aktualisierung der Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion, die sowohl auf der laufenden Neuentwicklung antiretroviraler Therapien als auch auf dem Kenntnissgewinn hinsichtlich der Indikationsstellung zum optimalen Zeitpunkt eines Behandlungsbeginns beruht.[8, 9] Gegenwärtig befasst sich die mit über

4.000 Patienten großangelegte multizentrische START Studie (*Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment*) mit dieser Fragestellung.[10, 11]
Weiterhin konnten mehrere Studien darlegen, dass eine erfolgreiche antiretrovirale Therapie das HIV-Transmissionsrisiko dramatisch reduziert [12, 13] und dass dieses eng mit der Viruslast korreliert.[14] Zuletzt darf nicht vergessen werden, dass mit dem Wissen um einen möglicherweise aggressiveren Verlauf der HIV-Infektion die Empfehlungen zum regelmäßigen HIV-Test von Risikogruppen und die Kontrolle des Immunstatus und der Viruslast unbehandelter HIV-Patienten entsprechend angepasst werden müssen.

Das Augenmerk der vorliegenden Arbeit ist auf die Frage gerichtet, ob beim Vergleich von Patienten mit verschiedenen lange zurückliegenden Infektionszeitpunkten Unterschiede darin bestehen, wie schnell die Erkrankung, gemessen am Verfall CD4-Zellen, fortschreitet: Ist die HIV-Infektion seit dem Beginn der Epidemie aggressiver geworden? Aufgrund der weitreichenden Implikationen, wie oben erwähnt, und da es aus Deutschland hierzu bislang keine Auswertung gibt, bietet sich ein Vergleich unserer Befunde mit denen der bisher bekannten Ergebnisse aus der Schweiz, aus Italien und aus Nordamerika an.

2 Patienten und Methodik

2.1 Datenquelle

Die vorliegende Arbeit basiert auf Daten, die der ClinSurv HIV Datenbank entstammen, welche 1999 als Kollaborationsprojekt zwischen HIV Zentren in Deutschland und dem Robert Koch-Institut initiiert wurde.[15] Sie ist das jüngste Glied in einer Reihe von Vorläuferprojekten, z.B. dem Förderprojekt *KLINAIDS*, das bereits 1987 zur Unterstützung der klinischen AIDS-Dokumentation vom Bundesministerium für Gesundheit (BMG) zusammen mit dem AIDS-Zentrum in Berlin gegründet und später umstrukturiert und unter dem Titel *Intensivierung der klinischen Forschung* (IdkF) weitergeführt wurde.[16] Diese früheren Projekte konzentrierten sich auf Patienten im Krankheitsstadium C (mit AIDS-definierenden Erkrankungen), basierend auf der CDC-Klassifikation von 1993.[17] Nach Einführung der hochaktiven antiretroviralen Kombinationstherapie (HAART, cART, häufig vereinfacht nur „ART“) ging der Anteil der Fälle, die dieses Krankheitsstadium erreichten, stark zurück, so dass immer weniger HIV-infizierte Patienten tatsächlich mit diesen Instrumenten erfasst wurden. Dies führte zur Gründung der ClinSurv HIV Datenbank. Sie beinhaltet Daten aller HIV-Patienten, die in teilnehmenden klinischen Zentren behandelt wurden, und enthält Informationen über Diagnosen, Laborwerte und Behandlung, welche anonymisiert und nach einem vorgegebenen Standardprotokoll erfasst und halbjährlich in die Datenbank eingepflegt werden. Dabei werden die Daten in jedem der teilnehmenden Zentren verschlüsselt und mit einem alphanumerischen Identifikationscode versehen, der sich aus den Initialen,

dem Geburtsmonat und -jahr, sowie den ersten drei Stellen der Postleitzahl des Patienten errechnet. Dieses Verfahren erlaubt es, unabsichtliche Doppelerfassungen zu vermeiden.[18] Darüberhinaus ist das Verfahren im Einklang mit dem 2001 in Kraft getretenen Infektionsschutzgesetz (IfSG), das die Basis für das System der meldepflichtigen Krankheiten in Deutschland definiert.[19]

Die erhobenen Daten werden manuell gesichtet und aufbereitet, um eine konsistente Datenqualität sicherzustellen. Evaluationsparameter, wie z.B. die Zahl neu aufgenommener Patienten pro Halbjahr, die geringe Patienten-Verlustrate der Datenbank, sowie die weitgehende Vollständigkeit der Datensätze pro Patient lassen auf eine hohe Datenqualität und stabile Evolution der Kohorte schließen. Der Vergleich mit nationalen HIV Beobachtungsdaten, die der nichtnamentlichen Meldepflicht nach § 7 Abs. 3 Nr. 2 an das Robert Koch-Institut entstammen,[20] bekräftigt einen hohen Repräsentationsgrad der Kohorte gegenüber demographischen Daten. Zum Zeitpunkt der Initiierung der Datenbank am 1.1.1999 wurden 4.653 Patienten erfasst. Seitdem ist die Studienpopulation auf 16.750 Patienten (113,825 Patientenbeobachtungsjahre) angewachsen (Stand: 31.12.2011).[21] Die Mehrheit der Studienteilnehmer sind männlich (ca. 80%).

2.2 Extraktionskriterien

Das Erhebungsinstrument der ClinSurv Datenbank hat es ermöglicht, zunächst Patienten zu identifizieren, die zu Beginn des individuellen Beobachtungszeitraums ART-naiv sind, und die innerhalb ihres unbehandelten Krankheitsabschnitts ausreichend viele CD4-Messwerte

aufweisen, um die Verfallsgeschwindigkeit („*CD4 slope*“) der CD4-Zellen während des natürlichen Verlaufs zu berechnen. Erfasste Basisdaten hinsichtlich Cofaktoren, wie Alter, Geschlecht, Transmissionsrisiko oder Ethnizität, erlauben es darüberhinaus, deren Einflussgröße zu untersuchen.

Aus der ClinSurv Datenbank wurden Patienten und jeweilige Beobachtungszeiträume nach folgenden Kriterien ausgewählt:

- Therapienaiv, um einen von antiretroviraler Therapie unbeeinflussten Verlauf abzubilden
- Mindestens seit einem Jahr bekannte HIV-Infektion, um Artefakte, die im Zusammenhang mit der frühen Phase der Erkrankung auftreten können, zu eliminieren
- Mindestens 100 CD4-Zellen bei der ersten Messung, um weit fortgeschrittene Verläufe zu eliminieren
- Mindestens drei CD4-Werte zur Berechnung der Slopes, um eine bessere Zuverlässigkeit der errechneten Slopes zu gewährleisten
- Beschränkung des für die Berechnung der CD4-Slopes berücksichtigten Beobachtungszeitraums auf drei Jahre, um einheitliche Beobachtungszeiträume über den zeitlichen Verlauf der Kohorte zu schaffen
- Verkürzung des Beobachtungsintervalls auf therapiefreie Zeit, falls in den drei Beobachtungsjahren mit ART begonnen wird

Für die Berechnung der CD4-Slopes wurden nur Messwerte verwendet, die vor dem Erstbeginn einer ART lagen. In Anlehnung an andere Studien, die

potentielle Veränderungen in der Virulenz von HIV untersucht haben, [22, 23] wurden CD4-Messungen aus den ersten 365 Tagen nach dem ersten CD4-Messwert ausgeschlossen, um mögliche Verfälschungen der Slopes durch Effekte während der Primärinfektion bzw. vor Erreichen des Setpoints zu unterdrücken. Ebenso wurden Patienten mit einer ersten CD4-Messung von 100 oder weniger CD4-Zellen ausgeschlossen, da weit fortgeschrittene Krankheitsverläufe vermutlich deutlich abweichenden Gesetzmäßigkeiten folgen bzw. aufgrund der Dringlichkeit eines Therapiebeginns andere Einschlusskriterien nicht erfüllen.

2.3 Charakteristik der untersuchten Patienten und primäre Einteilung der Vergleichsgruppen

Den oben beschriebenen Extraktionskriterien zur Folge haben wir N=4.616 Patienten identifiziert, deren Datensätze zur weiteren Analyse verwendet wurden. Zunächst wurden die extrahierten Datensätze in zwei Gruppen eingeteilt, die gleichlange Beobachtungsintervalle abdecken: Patienten, deren Erfassung in den Jahren 1985–1995 lag (n=1.261; 1.048 männliche und 213 weibliche Patienten), und solche, die im Zeitraum 1999–2009 Eingang in die Kohorte fanden (n=3.355; 2.782 männliche und 573 weibliche Patienten).

3 Ergebnisse

3.1 Vergleich der Wahrscheinlichkeitsverteilungen hinsichtlich des CD4-Verfalls beider Gruppen

In einem Kolmogorow-Smirnow-Test zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Wahrscheinlichkeitsverteilung der CD4-Verlustraten im Vergleich beider Gruppen ($P=0.0000018024$). In einer Kerndichteschätzung (Parzen-Fenster-Methode) zeigte sich ein medianer jährlicher Verlust von 48 CD4-Zellen in der „frühen“, und ein Verlust von 68 CD4-Zellen in der „späten“ Gruppe.

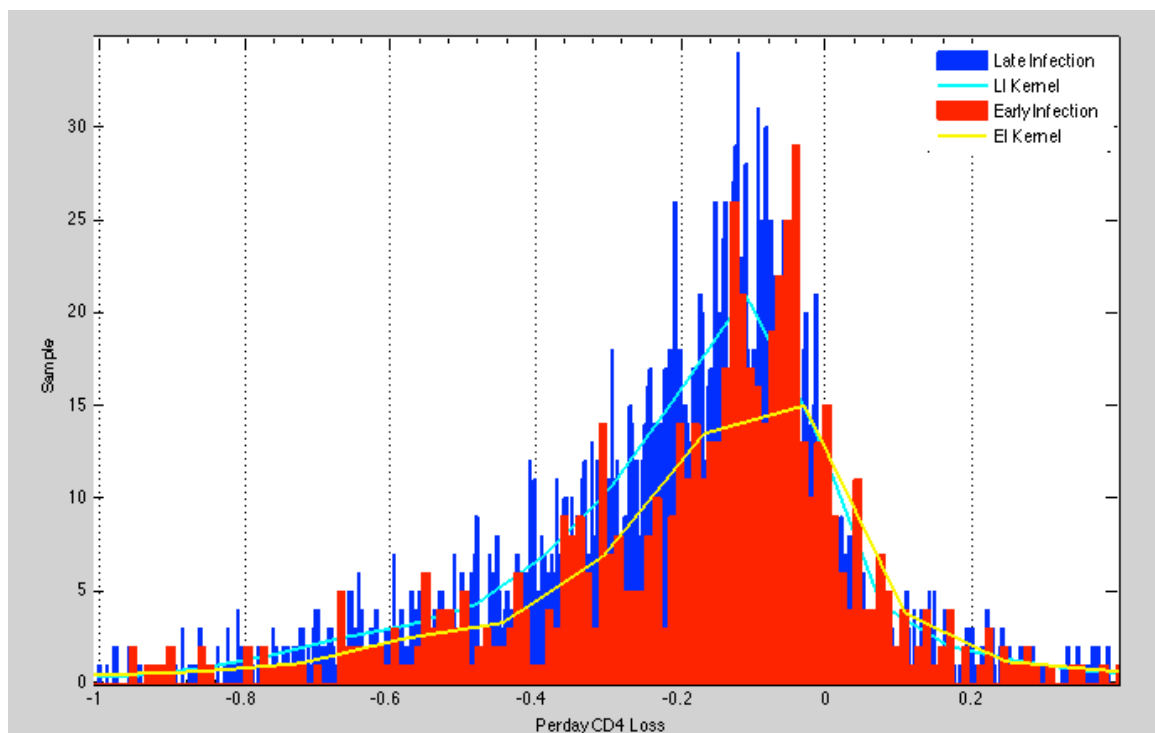


Abbildung 1: Kolmogorow-Smirnow-Test zur Bestimmung der Übereinstimmungswahrscheinlichkeit der CD4-Zell-Verlustraten beider Gruppen, und Kerndichteschätzung (Parzen-Fenster-Methode) zur Errechnung der Wahrscheinlichkeitsverteilung der CD4-Zell-Verlustrate von Patienten, die zwischen 1985 und 1995 (Early Infection [EI], rot) und Patienten, die zwischen 1999 und 2009 (Late Infection [LI], blau) Eingang in die Kohorte fanden.

3.2 Überlegungen zu möglichen Limitationen der ClinSurv Kohorte und sekundäre Einteilung der Patienten

Zum Zeitpunkt der Initiierung der ClinSurv Kohorte fanden nur Patienten Eingang, welche die Datumsgrenze des 1.1.1999 lebend überschritten hatten. Demzufolge ist davon auszugehen, dass ein Selektionsbias „links“ dieser Datumsgrenze eher die Werte von Patienten mit „besseren“ Krankheitsverläufen widerspiegelt, während danach auch weniger vitale Patienten einschließlich *Fast Progressors* in die Kohorte aufgenommen wurden. Um die Inkonsistenz der Datenbank, die sich daraus ergibt, sichtbar machen zu können, wurden alle extrahierten Datensätze zunächst nach dem Eingangszeitpunkt in die Kohorte nach Kalenderjahr sortiert. Daraus ergaben sich 23 neue Patienten-Kohorten, die also jeweils diejenigen Patienten zusammenfassen, die in einem gegebenen Kalenderjahr Eingang in die ClinSurv Datenbank fanden. Anschließend wurde für jede der Kohorten der mediane jährliche CD4-Zellverlust bestimmt. Zur Berechnung herangezogen wurden, wie unter 2.2 *Extraktionskriterien* beschrieben, jeweils die drei Folgejahre.

Jahr	n	CD4-Slope/Jahr
1985	157	-37
1986	149	-37
1987	104	-30
1988	81	-49
1989	87	-48
1990	118	-47

1991	180	-49
1992	212	-42
1993	194	-46
1994	180	-55
1995	182	-50
1996	189	-48
1997	208	-47
1998	241	-44
1999	295	-44
2000	333	-48
2001	361	-63
2002	393	-64
2003	437	-66
2004	474	-69
2005	481	-74
2006	491	-77
2007	455	-84

Tabelle 1: Patientenkohorten nach Eingangsjahr in die ClinSurv Datenbank mit jeweiligen Patientenzahlen und medianem jährlichem CD4-Zell-Verfall.

Wie erwartet, ergab sich nach dem 1.1.1999 ein deutlicher Anstieg der Steilheit des CD4-Slopes, was in *Abbildung 3* sichtbar wird. Während die Verfallsgeschwindigkeit über den Zeitraum von 1986 bis 1998 um nur durchschnittlich 0,69 CD4-Zellen pro Jahr zunimmt, liegt die mittlere Zunahme der Verfallsgeschwindigkeit zwischen 1999 und 2007 bei 4,56 CD4-Zellen pro Jahr.



Abbildung 3: In grün dargestellt ist der mediane jährliche CD4-Zellverfall für jede der nach Kalenderjahr des ClinSurv-Datenbankeingangs zusammengefassten Kohorten aus *Tabelle 1*. In rot bzw. blau dargestellt sind die Regressionsgeraden des CD4-Verfalls jeweils über die Beobachtungszeiträume 1986–1998 und 1999–2007.

Die Regressionsgeraden in *Abbildung 3* drücken aus, wie die Virulenz von HIV, gemessen am CD4-Verfall, über den Gesamtbeobachtungszeitraum zugenommen hat. Die tatsächliche Zunahme der CD4-Verfalls folgt vermutlich einer linearen Funktion. Durch die Natur der ClinSurv-Daten bedingt (lebendes Erreichen des 1.1.1999) ist allerdings davon auszugehen, dass die beiden miteinander verglichenen Zeiträume unterschiedlichen Gesetzmäßigkeiten folgen: Im ersten Zeitraum 1986–1998 sind nur Patienten mit „besseren“ Verläufen erfasst, während im zweiten Zeitraum 1999–2007 auch Patienten mit gravierenderen Krankheitsverläufen abgebildet sind, die, würden sie in den früheren Zeitraum fallen, möglicherweise zum Teil die

Datumsgrenze nicht lebend erreicht hätten, und somit bei der Errechnung der Verfallsgeschwindigkeiten unberücksichtigt geblieben wären. Was also als „Limitation“ der aus der ClinSurv Kohorte entstammenden Daten erachtet werden könnte, ist andererseits ein Merkmal, das sichtbar gemacht und instrumentalisiert werden kann. Diese Inkonsistenz in den Eingangskriterien, die sich durch die Veränderung dieser zum 1.1.1999 ergeben hat, kann zwar Einfluss auf die Qualität und Aussagekraft der Ergebnisse nehmen, allerdings nur, wenn sie nicht entsprechend verstanden und berücksichtigt wird. Letztlich lässt sie sich dazu heranziehen, die Hypothese dieser Arbeit zu bestätigen, da sie lediglich zu einer Verstärkung der beobachteten Effekte beiträgt, und nicht eine Verzerrung bewirkt.

4 Diskussion

Seit dem Ausbruch der AIDS Epidemie in den 1980er Jahren hat sich vielfach die Frage gestellt, ob HIV seitdem aggressiver geworden ist. Um ein besseres Verständnis dieser Hypothese zu erlangen, bietet es sich an, zunächst den Kontext der wissenschaftlichen Forschung auf diesem Gebiet zu betrachten.

Virulenz ist ein Merkmal, das einem mikrobiellen Pathogen zugeschrieben wird und das sein krankmachendes Potential ausdrücken soll.

Interessanterweise kann aber nur das Resultat der Interaktion zwischen Mikrobe und Wirt Aufschluss über das Ausmaß der Virulenz eines Pathogens geben – der am Wirt verursachte Schaden ist die Größe, welche die Virulenz definiert.[24] Virulenz kann demzufolge nicht als unabhängige Variable betrachtet werden, sondern ist zum einen abhängig von einem empfänglichen Wirt und zum anderen von der Art und Weise der Pathogen-Wirt-Interaktion.

Anfang der 1980er Jahre wurde die *Trade-off Hypothese* formuliert, die davon ausgeht, dass ein infektiöses Pathogen einem Wirt nicht beliebig zusetzen kann, ohne dabei selber Schaden zu nehmen.[25] Erwägungen zur Virulenz von Pathogenen reichen aber viel weiter zurück – bis zu Pasteur und Koch ins 19. Jahrhundert. Pasteur hat sich neben Vakzinen intensiv mit parasitärer Virulenz befasst, allerdings wurden seine Überlegungen zum Thema experimentelle Evolution von seinen herausragenden Forschungsergebnissen in der Immunisierung überschattet. In einem Forschungsbericht von 1881 über die Attenuierung des Milzbranderreger Anthrax beschrieben Pasteur, Chamberlain und Roux, dass Virulenz spezifisch für verschiedene Stämme

von *Bacillus anthracis* sei, sowie dass Virulenzfaktoren zwischen diesen ausgetauscht werden können.[26]

Virulenz-Evolution kann als Selektion von Eigenschaften, die eine mikrobielle Anpassung auf dem Transmissionsweg optimieren, betrachtet werden.[27, 28]

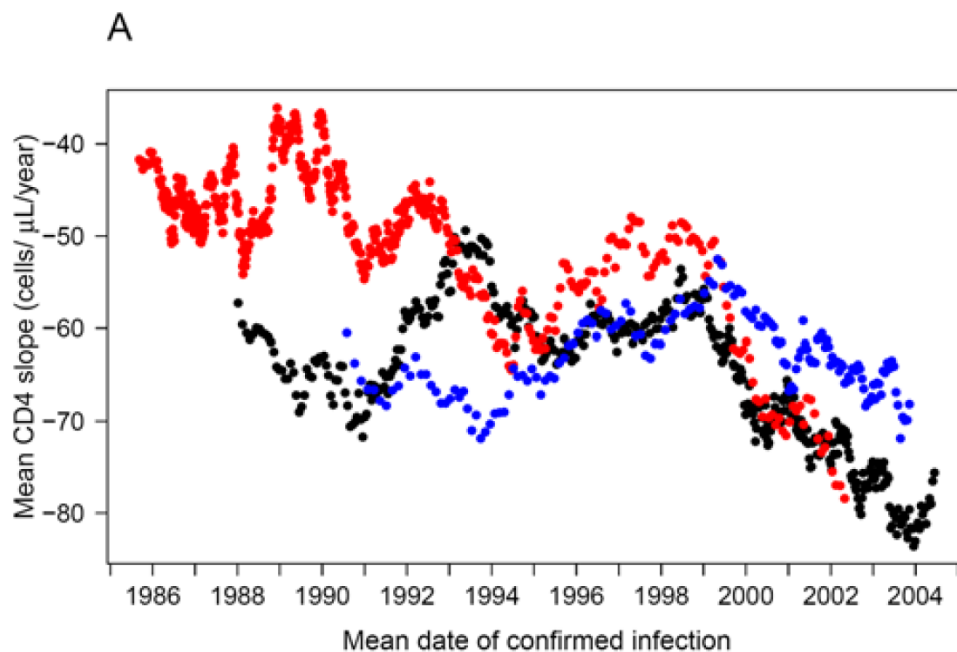
Das Ausmaß mikrobieller Vermehrung kann aber als aussagekräftiger Parameter zur Einschätzung der Virulenz nicht pauschal herangezogen werden, da die Zusammenhänge zwischen *Virulenz* und *Übertragbarkeit* komplex und für die meisten infektiösen Pathogene nur wenig oder gar nicht bekannt sind.[29] Immunisierungen, Therapien und Verhaltensänderungen sind Beispiele für wesentliche Einflussgrößen auf die Pathogen-Wirt-Interaktion. Theorien über Virulenz bei akuten Infektionen unterscheiden sich wesentlich von denen bei chronischen Infektionen. Eine besondere Stellung nehmen sexuell übertragbare Krankheiten ein, da sie häufig Merkmale sowohl akuter als auch chronischer Verläufe tragen, wie z.B. die Syphilis-Infektion. Dem Infektionsmodell dieser Krankheiten zugrunde liegend, wird die Virulenz hier stark vom Potential sexueller Übertragbarkeit in der Wirtsgemeinde beeinflusst – häufiger Partnerwechsel und ungeschützter Geschlechtsverkehr wirken sich „günstig“ auf die Virulenz von Pathogenen aus, die sich bereits kurz nach der Infektion stark vermehren, da sie die Wahrscheinlichkeit einer im Sinne des Pathogens „erfolgreichen“ Transmission erhöhen.[27] Einen Sonderfall stellt in diesem Zusammenhang die HIV-Infektion dar, da sie abgesehen von einer oft unerkannten oder ganz ausbleibenden hochgradig unspezifischen grippeartigen Primärinfektionssymptomatik in der akuten

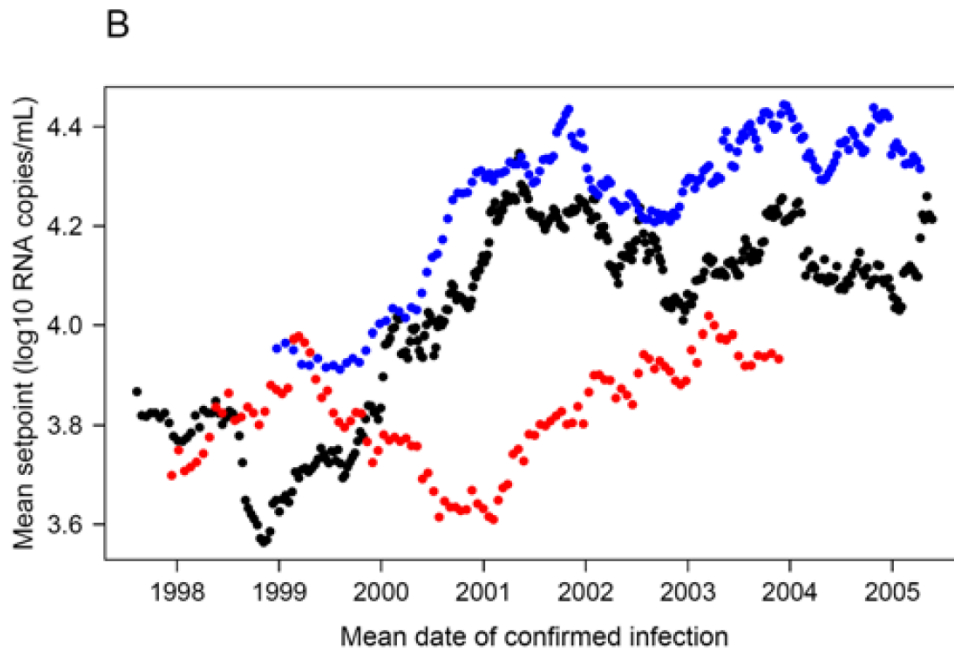
Phase der Infektion in eine chronische Latenzphase übergeht, die ohne Behandlung i.d.R. letal verläuft.

Untersuchungen, die zum Thema *HIV Virulenz* angestellt worden sind, betrachten z.B. Veränderungen im viralen *Setpoint*. Da virale Faktoren eine wesentliche Einflussgröße auf die Virulenz der HIV-Infektion darstellen und bei der Transmission mitübertragen werden können, scheint es eine natürliche Selektion hinsichtlich der Virulenz auf Populationsebene zu geben. Dabei werden offenbar vor allem Stämme mit mittlerer Virulenz selektiert.[30] Aus Sicht des Virus ergibt sich daraus ein evolutionärer Vorteil, da sich ein vorteilhaftes Gleichgewicht aus gegensätzlichen Effekten der HIV-Infektion einstellen kann: Der Wirt wird lange genug in einem funktionalen Zustand gehalten, der die Chancen für eine Übertragung der Infektion erhöht und sich damit günstig auf die Überlebenswahrscheinlichkeit des Virus auswirkt.

Das enorme Evolutions-Potential und der vergleichsweise kurz zurückliegende Sprung vom Primaten zum Menschen schließen nicht aus, dass die Virulenz von HIV noch weiterem Wandel unterworfen ist,[23] was großen Einfluss sowohl auf die Therapierbarkeit als auch auf epidemiologische Aspekte der Infektion haben könnte. Erste Hinweise auf eine mögliche Veränderung des natürlichen Verlaufs der HIV-Infektion ergaben sich aus zwei großen Studien, die aufzeigen konnten, dass sich Serokonverter im Laufe der Epidemie mit zunehmend niedrigeren CD4-Lymphozytenzahlen bei Diagnosestellung präsentierten.[22, 31] Weitere Untersuchungen, die eine Zunahme der Virulenz von HIV, gemessen am

Abfall der CD4-Lymphozyten über die Zeit, vermuteten, gelangten zu unterschiedlichen Ergebnissen, wie beispielsweise an nordamerikanischen, Schweizer und italienischen Kohorten durchgeführte Studien [23, 31-33]. Während in einer US-Studie Hinweise gefunden wurden, dass über die letzten zwei Dekaden eine Beschleunigung des CD4-Verfalls stattgefunden hat,[33] wurde dieses Ergebnis in der Schweizer Kohorte nicht bestätigt.[32] In der italienischen Kohorte zeichnete sich ab, dass bestimmte Ko-Faktoren, wie beispielweise der Infektionsmodus, einen zusätzlichen Einfluss auf die Progression haben.[23]





Abbildungen 4A und 4B. Moving averages of the CD4 slope and the viral setpoint per riskgroup. The figure shows time trends of the CD4 slope (A) and the viral setpoint (B) in the heterosexual (HET, black dots), Intravenous drug-user (IDU, red dots), and men having sex with men (MSM, blue dots) exposure categories. This fine-scale representation suggests two stages in the time evolution of CD4 slopes within the riskgroups: in the first stage, IDUs lost their initial advantage of slower CD4 decline compared with HETs and MSM. After the convergence of the three categories, the second half of the observed epidemic has been characterized by a steady coupled trend towards steeper CD4 slopes in all groups. Trends in the viral setpoint seem to be strongly coupled between HETs and MSM with a recent deceleration of the increasing trend; the setpoint of IDUs seems to have fluctuated with no clear trend. Each point in the graphs represents the averaged value of 50 patients and is dated to their mean date of confirmed infection. The window of averaging moved along the list of patients sorted according to the date of confirmed infection: the first point represents the average of the first 50 patients, the second point represents the average calculated over the second through the 51st patient, etc. The same datasets were used as in the multivariate regression analyses, i.e. outliers below the 5% and above the 95% quantiles were removed from the set of CD4 slopes.

doi:10.1371/journal.ppat.1000454.9002

Abbildungen 4A und 4B aus [23]

Auch weitere Studien, die eine Veränderung im natürlichen Verlauf von HIV untersuchten, zeigen zum Teil abweichende Resultate. Eine dänische Kohorten-Studie an unbehandelten Patienten, die zwischen 1995 und 2009 diagnostiziert wurden, konnte keine Veränderung des viralen Setpoints, der Verfallsgeschwindigkeit von CD4-Lymphozyten, oder des Intervalls bis zum Unterschreiten einer CD4-Zell-Zahl von 350/ μ l ausforschen.[3] Eine weitere US-Studie hingegen konnte wiederum aufzeigen, dass Serokonverter in den letzten Jahren einen Trend hin zu einer schnelleren Progression zu CD4-Zell-Zahlen unter 500/ μ l zu entwickeln scheinen als gegen Beginn der Epidemie.[22]

Andererseits ist die immundeskrutkive Machenschaft von HIV für die Produktion neuer, infektiöser Viruspartikel notwendig – zahlreiche Studien haben gezeigt, dass die Höhe der Viruslast und die Übertragungswahrscheinlichkeit von HIV stark miteinander korrelieren.[12, 34, 35] Die Höhe der Viruslast bei unbehandelten Patienten ist jedoch nur unwesentlich am individuellen Verfall der CD4-Zellen beteiligt, da hier vermutlich andere Faktoren eine Rolle spielen[36], wie z.B. die mikrobielle Translokation in der Darmmukosa.[37] Allerdings scheint der CD4-Verfall eng mit dem Phänomen der chronischen Immunaktivierung bei HIV-Infizierten korreliert zu sein[38], und damit mit der Progressionswahrscheinlichkeit zu AIDS, die maßgeblich von der Höhe der CD4-Zellen abhängt.[39] Deshalb ist CD4-Verfall geeigneter Parameter, um die Zunahme des Progressionsrisikos, und damit der Virulenz der HIV-Infektion zu erfassen.

Zahlreiche Autoren haben sich mit dieser Thematik befasst, und insbesondere die CD4-Zellen als Biomarker betrachtet, um ein besseres Verständnis über die zur Disposition gestellte Hypothese, ob die Virulenz von HIV im Laufe der Epidemie zugenommen hat, zu erhalten. Während Autoren, wie Dr. Nancy Crum-Cianflone vom *TriService AIDS Clinical Consortium* an der *University of the Health Sciences*, in Bethesda, Maryland, in den USA und Kollegen sich primär mit der Fragestellung auseinandergesetzt haben, ob sich die CD4-Zellzahlen von Serokonvertern im Laufe der Zeit verändert haben, und entsprechende Tendenzen nachweisen konnten [22, 33] haben andere Autoren speziell den CD4-Verfall bei HIV-Infizierten im unbehandelten Krankheitsintervall über die Zeit beobachtet. Hier sind die Ergebnisse nicht eindeutig ausgerichtet. So hat z.B. Dr. Viktor Müller vom Schweizer Universitätshospital in Zürich zusammen mit Kollegen anderer Schweizer Universitäten verschiedene Virulenzfaktoren, wie z.B. den CD4-Verfall, den Abfall des CD4:CD8 Quotienten, und die Viruslast unbehandelter Patienten anhand der Schweizer Kohortenstudie untersucht, und über einen Zeitraum von 20 Jahren keine Korrelation zum Zeitpunkt der Diagnose feststellen können.[32] Andere Studiengruppen, die z.B. eine italienische Kohorte von unbehandelten HIV-Patienten hinsichtlich des CD4-Slopes und des viralen *Setpoints* untersucht und dabei detaillierte Betrachtungen unterschiedlicher Risikogruppen miteinbezogen haben, konnten einen deutlichen Trend hin zu erhöhter Virulenz verzeichnen, speziell bei Risikogruppen mit hoher Exposition.[23] Die Ergebnisse wiederum einer Gruppe unter der Leitung von Dr. Marie Helleberg vom Department für Infektiöse Medizin des Rigshospitals in Kopenhagen, Dänemark, zeigten keine signifikanten Veränderungen im

Trend hin zu viralem Setpoint, CD4-Verfall, oder der Zeit bis zum Unterschreiten einer Grenze von 350 CD4-Zellen/ μ l bei chronisch HIV-Infizierten[3].

5 Kommentar und Wertung der Ergebnisse unterschiedlicher Studien

Sicherlich sind nicht die Ergebnisse der unterschiedlichen Gruppen geradeheraus richtig oder falsch, sondern vielmehr spiegeln sie die Realität der erfassten Kohorten wider. Wie auch in der ClinSurv Datenbank, ist davon auszugehen, dass die Datensätze anderer Kohorten Limitationen aufweisen, die maßgeblich Einfluss auf entsprechende Analysen nehmen und zu einer Verfälschung der beobachteten Parameter gegenüber der klinischen Realität führen. Es ist deshalb besonders wichtig, weitere Untersuchungen zur Dynamik der HIV-Virulenz anzustellen, denn dem Wesen der Empirie entsprechend, bereichert jede neue Arbeit zum Thema den Wissensstand, ungeachtet ob sie nun gängige Hypothesen zu bestätigen oder widerlegen vermag.

In der ClinSurv-Kohorte jedenfalls zeigen sich deutliche Tendenzen hin zu einer Zunahme der Virulenz der unbehandelten HIV-Infektion über den Zeitraum der letzten 25 Jahre, gemessen an der Beschleunigung des CD4-Verfalls. Diese Erkenntnisse sind umso wichtiger, da sie maßgeblich Einfluss auf prognostische und therapeutische Ziele in einer globalen Landschaft aus Infektionsdynamik und Therapierbarkeit nehmen, die einem rapiden Wandel unterworfen ist.

6 Zusammenfassung

Seit Beginn der AIDS Epidemie in den frühen 1980er Jahren hat sich immer wieder die Frage gestellt, ob sich nach dem Sprung vom Schimpansen auf den Menschen als Wirt [1] im Rahmen des Adaptationsprozesses Veränderungen in der Pathogenität von HIV ergeben haben. Um eine gute Vergleichbarkeit früherer und späterer Verläufe von HIV-Infektionen bei Patienten zu gewährleisten, ist es mit dem Wissen um die dramatischen Fortschritte in der Entwicklung der antiretroviralen Therapie also notwendig, den natürlichen, unbehandelten Verlauf der Infektion zu beurteilen. Als geeignet erscheint die Geschwindigkeit des CD4-Verfalls, da der Pathogenität der HIV-Infektion bis hin zum Vollbild AIDS maßgeblich der Verlust von CD4-Lymphozyten zugrunde liegt.[40] Die Daten zur Analyse entstammen der ClinSurv HIV Datenbank. Es wurden nur Patienten selektiert, die seit mindestens einem Jahr HIV-positiv (um Verfälschungen durch Effekte in der frühen Phase der Infektion zu vermeiden) und während des Beobachtungszeitraums therapienaiv waren. Der CD4-Verfall dieser Patienten wurde dann jeweils über drei Jahre hinweg erfasst, es sei denn, der Beginn einer ART verkürzte das Beobachtungsintervall entsprechend. Zur besseren Beurteilung wurden die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt, die sich jeweils durch den Eingang in die ClinSurv Datenbank im Zeitraum 1985–1995 oder 1999–2009 unterschieden. Der Vergleich dieser beiden Gruppen ergab einen statistisch signifikanten Unterschied im medianen jährlichen Verlust, welcher bei 48 bzw. 68 CD4-Zellen/Jahr lag. Zur weiteren Analyse und im Wissen um die Tatsache, dass sich die Eingangskriterien in die ClinSurv Datenbank zum

1.1.1999 geändert haben, wurden in einer zweiten Analyse Kohorten geschaffen, die sich jeweils durch das Eingangsjahr in die Datenbank definieren. Die Verfallsgeschwindigkeit über den Zeitraum von 1986 bis 1998 nahm durchschnittlich um 0,69 CD4-Zellen pro Jahr zu, was die Hypothese einer Zunahme der Virulenz von HIV bestätigt. Die mittlere Zunahme der Verfallsgeschwindigkeit zwischen 1999 und 2007 lag sogar bei 4,56 CD4-Zellen pro Jahr, was wohl den modifizierten Aufnahmekriterien der ClinSurv Datenbank geschuldet ist. Ein besseres Verständnis, ob HIV aggressiver geworden ist, hat weitreichende Bedeutung für die Therapierbarkeit und epidemiologische Aspekte der Infektion. Eine genauere Prognose des CD4-Verfalls jedenfalls trägt dazu bei, den optimalen Zeitpunkt eines Therapiebeginns bereits früher abschätzen zu können.

7 Danksagung

Für ihre unermüdliche Geduld und Unterstützung danken möchte ich Herrn Christian Kollan, stellvertretend für das Robert Koch-Institut und seine Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter, sowie meinem statistischen Berater Herrn Thanh Le. Besonders danke ich Herrn Prof. Bogner, der diese Arbeit erst möglich gemacht hat, und Herrn Dr. Seybold aus der Medizinischen Poliklinik, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität.

8 Literatur

1. Sharp, P.M. and B.H. Hahn, *The evolution of HIV-1 and the origin of AIDS*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2010. **365**(1552): p. 2487-94.
2. Barre-Sinoussi, 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.
3. Helleberg, M., et al., *No change in viral set point or CD4 cell decline among antiretroviral treatment-naive, HIV-1-infected individuals enrolled in the Danish HIV Cohort Study in 1995-2010*. HIV Med, 2013. **14**(6): p. 362-9.
4. Hogan, C.M., et al., *The setpoint study (ACTG A5217): effect of immediate versus deferred antiretroviral therapy on virologic set point in recently HIV-1-infected individuals*. J Infect Dis, 2012. **205**(1): p. 87-96.
5. Grijsen, M.L., et al., *No treatment versus 24 or 60 weeks of antiretroviral treatment during primary HIV infection: the randomized Primo-SHM trial*. PLoS Med, 2012. **9**(3): p. e1001196.
6. Bofill, M., et al., *Increased numbers of primed activated CD8+CD38+CD45RO+ T cells predict the decline of CD4+ T cells in HIV-1-infected patients*. Aids, 1996. **10**(8): p. 827-34.
7. Iuliano, R., et al., *Correlation between plasma HIV-1 RNA levels and the rate of immunologic decline*. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol, 1997. **14**(5): p. 408-14.
8. *HIV/AIDS RKI-Ratgeber für Ärzte*. 2013 20.12.2013 [cited 2014 20.12.2014]; Available from: http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_HIV_AIDS.html.
9. Korenromp, E.L., et al., *Clinical prognostic value of RNA viral load and CD4 cell counts during untreated HIV-1 infection--a quantitative review*. PLoS One, 2009. **4**(6): p. e5950.
10. Babiker, A.G., et al., *Considerations in the rationale, design and methods of the Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment (START) study*. Clin Trials, 2013. **10**(1 Suppl): p. S5-S36.
11. *The START Study*. [cited 2014 20.12.2014]; Available from: <http://www.thestartstudy.org/>.
12. Attia, S., et al., *Sexual transmission of HIV according to viral load and antiretroviral therapy: systematic review and meta-analysis*. AIDS, 2009. **23**(11): p. 1397-404.
13. Anglemyer, A., et al., *Antiretroviral therapy for prevention of HIV transmission in HIV-discordant couples*. Cochrane Database Syst Rev, 2013. **4**: p. CD009153.
14. Sturmer, M., et al., *Is transmission of HIV-1 in non-viraemic serodiscordant couples possible?* Antivir Ther, 2008. **13**(5): p. 729-32.
15. *Klinische Surveillance der HIV-Erkrankung (ClinSurv)*. 2012 30.03.2012 [cited 2014 20.12.2014]; Available from:

- <http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/HIVAIDS/Epidemiologie/Surveillance/ClinSurv/ClinSurvHIV.html>.
16. Bogner, J.R., *Förderung klinischer AIDS-Forschung in Deutschland*, in *AIDS Nachrichten aus Forschung und Wissenschaft*. 1994, AIDS-Zentrum am Robert Koch Institut.
 17. *1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults*. MMWR Recomm Rep, 1992. **41**(RR-17): p. 1-19.
 18. Batzing-Feigenbaum, J., et al., *Cohort profile: the German ClinSurv HIV project--a multicentre open clinical cohort study supplementing national HIV surveillance*. HIV Med, 2011. **12**(5): p. 269-78.
 19. *Infektionsschutzgesetz - IfSG*. 2013 [cited 2014 20.12.2014]; Available from: http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/IfSG/ifsg_node.html.
 20. *Ratgeber HIV-AIDS des RKI - Meldepflicht*. [cited 2014 June 7]; Available from: <http://www.gapinfo.de/gesundheitsamt/alle/seuche/infekt/viru/hiv/rg/11.htm>.
 21. Schmidt, D., Kollan, C., Fätkenheuer, G. et al, *HIV Resistenz im klinischen Alltag Ergebnisse aus der ClinSurv Resistenzstudie*, in *Projekttreffen der epidemiologischen und molekularbiologischen Surveillance von HIV in Deutschland*. 2013, Robert Koch-Institut: Berlin.
 22. Crum-Cianflone, N., et al., *Is HIV becoming more virulent? Initial CD4 cell counts among HIV seroconverters during the course of the HIV epidemic: 1985-2007*. Clin Infect Dis, 2009. **48**(9): p. 1285-92.
 23. Muller, V., et al., *Increasing clinical virulence in two decades of the Italian HIV epidemic*. PLoS Pathog, 2009. **5**(5): p. e1000454.
 24. Casadevall, A. and L. Pirofski, *Host-pathogen interactions: the attributes of virulence*. J Infect Dis, 2001. **184**(3): p. 337-44.
 25. Alizon, S., et al., *Virulence evolution and the trade-off hypothesis: history, current state of affairs and the future*. J Evol Biol, 2009. **22**(2): p. 245-59.
 26. Pasteur, L., C.C. E., and R. E., *Compte rendu sommaire de L. Pasteur des expériences faites à Pouilly-le-Fort, près Melun, sur la vaccination charbonneuse*. Comptes-rendus des séances de l'Académie des Sciences, 1881. **92**: p. 1378-1383.
 27. Ewald, P.W., *Evolution of virulence*. Infect Dis Clin North Am, 2004. **18**(1): p. 1-15.
 28. Ewald, P.W., *Infectious Disease and the Evolution of Virulence*, W.E. Foundation, Editor. 2001.
 29. Lipsitch, M. and E.R. Moxon, *Virulence and transmissibility of pathogens: what is the relationship?* Trends Microbiol, 1997. **5**(1): p. 31-7.
 30. Shirreff, G., et al., *Transmission selects for HIV-1 strains of intermediate virulence: a modelling approach*. PLoS Comput Biol, 2011. **7**(10): p. e1002185.
 31. Dorrucchi, M., et al., *Temporal trends in postseroconversion CD4 cell count and HIV load: the Concerted Action on Seroconversion to AIDS and Death in Europe Collaboration, 1985-2002*. J Infect Dis, 2007. **195**(4): p. 525-34.

32. Muller, V., et al., *Stable virulence levels in the HIV epidemic of Switzerland over two decades*. AIDS, 2006. **20**(6): p. 889-94.
33. Crum-Cianflone, N.F., et al., *Are HIV-positive persons progressing faster after diagnosis over the epidemic?* J Acquir Immune Defic Syndr, 2010. **54**(4): p. e6-7.
34. Hall, H.I., et al., *HIV transmission in the United States: considerations of viral load, risk behavior, and health disparities*. AIDS Behav, 2013. **17**(5): p. 1632-6.
35. Das, M., et al., *Decreases in community viral load are accompanied by reductions in new HIV infections in San Francisco*. PLoS One, 2010. **5**(6): p. e11068.
36. Rodriguez, B., et al., *Predictive value of plasma HIV RNA level on rate of CD4 T-cell decline in untreated HIV infection*. JAMA, 2006. **296**(12): p. 1498-506.
37. Marchetti, G., et al., *Microbial translocation predicts disease progression of HIV-infected antiretroviral-naive patients with high CD4+ cell count*. AIDS, 2011. **25**(11): p. 1385-94.
38. Sousa, A.E., et al., *CD4 T Cell Depletion Is Linked Directly to Immune Activation in the Pathogenesis of HIV-1 and HIV-2 but Only Indirectly to the Viral Load*. The Journal of Immunology, 2002. **169**(6): p. 3400-3406.
39. Jaen, A., et al., *Determinants of HIV progression and assessment of the optimal time to initiate highly active antiretroviral therapy: PISCIS Cohort (Spain)*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2008. **47**(2): p. 212-20.
40. Detels, R., et al., *Patterns of CD4+ cell changes after HIV-1 infection indicate the existence of a codeterminant of AIDS*. J Acquir Immune Defic Syndr, 1988. **1**(4): p. 390-5.

Eidesstattliche Versicherung

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin/Doktorand