

**Aus dem Institut für Virologie und Immunbiologie  
der Universität Würzburg  
Lehrstuhlinhaber: Univ.-Prof. Dr. med. L. Dölken**

# **Einfluss einer Prednisolon-Behandlung auf B-Zell- Populationen bei Patienten mit HIV-Infektion**

**Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät  
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

vorgelegt von

**Benedikt Mann**

aus Uffing am Staffelsee

**Würzburg, Juli 2019**

**Referent bzw. Referentin:** apl. Prof. Dr. C. Scheller

**Korreferent bzw. Korreferentin:** Univ.-Prof. Dr. M. Lutz

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Matthias Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung:** 22.01.2021

**Der Promovend ist Arzt**

**Gewidmet  
meiner Ehefrau, Julia Mann  
und meinen Eltern, Andrea und Christoph Anderle**

***„It is bad enough that people are dying of AIDS, but no one should die of ignorance.“***

**Elizabeth Taylor**

## **Inhaltsverzeichnis**

1	Einleitung .....	1
1.1	Epidemiologie .....	1
1.2	Überblick HIV-Infektion .....	2
1.3	Klinik/Klassifikation .....	3
1.3.1	Klinischer Verlauf .....	3
1.3.2	Klassifikationsmöglichkeiten .....	4
1.4	Immunpathogenese und Immunaktivierung .....	6
1.4.1	Allgemeines .....	6
1.4.2	Rolle und Veränderungen der B-Zellen .....	7
1.4.3	Immunaktivierung am Beispiel weiterer Progressionsmarker .....	9
1.4.3.1	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> -Ratio .....	9
1.4.3.2	CD38 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> -Phänotyp bei CD8 <sup>+</sup> T-Zellen .....	9
1.4.3.3	suPAR .....	10
1.4.3.4	sCD14 .....	10
1.4.4	Long-Term-Non-Progressors/Elite-Controllers .....	11
1.5	Therapie .....	11
1.5.1	Therapeutische Grundsätze .....	11
1.5.2	Therapie in Deutschland .....	12
1.5.3	Therapie weltweit und in Entwicklungsländern .....	14
1.5.4	Kortikosteroide in der HIV-Therapie .....	15
1.6	ProCort-Studie .....	15
1.7	Immunological Nonresponders .....	16
1.7.1	Inadäquater CD4 <sup>+</sup> -Zellzahl-Anstieg trotz ausreichender Suppression der Viruslast .....	16
1.7.2	Mangelnde Suppression der Viruslast .....	16
2	Zielsetzung .....	18
3	Material und Methoden .....	19
3.1	Material .....	19

## Inhaltsverzeichnis

3.1.1	Geräteliste .....	19
3.1.2	Verbrauchsmaterialien .....	19
3.1.3	Antikörper und Kits .....	20
3.1.4	Puffer und Reagenzien .....	21
3.1.5	Software .....	21
3.2	Methoden.....	21
3.2.1	Theoretischer Hintergrund der Zelldifferenzierung und Definition der Subpopulationen .....	21
3.2.2	Vorversuche .....	22
3.2.2.1	Verdünnungsreihen der Antikörper .....	22
3.2.2.2	Optimierung/Überprüfung der Inkubationszeit .....	23
3.2.3	Vorbereitung der Antikörper im BSL2-Labor .....	24
3.2.4	Auftauen und Vitalitätsprüfung der Proben .....	25
3.2.5	Extrazelluläre Färbung der PBMCs .....	25
3.2.6	Durchflusszytometrie .....	26
3.3	Statistik .....	27
3.4	Korrelation mit weiteren Befunden aus der Arbeitsgruppe .....	28
4	Ergebnisse .....	29
4.1	Stichprobenbeschreibung .....	29
4.2	Veränderungen der B-Zell-Subpopulationen .....	31
4.3	Korrelation mit Fremddaten aus der gleichen Studie .....	37
4.3.1	Korrelation zur Medikamentencompliance .....	37
4.3.2	Korrelation mit T-Zellen.....	39
4.3.3	Immunaktivierung.....	43
4.3.4	Krankheitsprogression .....	49
5	Diskussion.....	51
5.1	B-Zellveränderungen und Immunaktivierung .....	52
5.2	Probleme der Probensammlung und Qualitätskontrolle .....	55
5.3	Bewertung des Kollektivs.....	56
5.4	Begleiterkrankungen und unerwünschte Nebenwirkungen .....	57

## Inhaltsverzeichnis

5.5	Immunmodulierende Therapieoptionen .....	59
5.6	Limitationen .....	60
5.7	Ausblick .....	62
6	Zusammenfassung .....	63
7	Literaturverzeichnis .....	65

## **Abbildungsverzeichnis**

Abb. 1:	Gatingstrategie der Durchflusszytometrie.....	27
Abb. 2:	Consort-Flow-Diagramm .....	30
Abb. 3:	Anteil der CD27 <sup>+</sup> Memory-B-Zellen.....	32
Abb. 4:	Anteil der CD27 <sup>+</sup> CD21 <sup>+</sup> resting Memory-B-Zellen.....	34
Abb. 5:	Anteil der CD27 <sup>+</sup> CD21 <sup>-</sup> activated Memory-B-Zellen.....	36
Abb. 6:	Positive Korrelation zwischen dem Anteil der B-Zell- Subpopulationen und der Medikamentencompliance in der Prednisolon-Gruppe.....	38
Abb. 7:	Korrelation zwischen dem Anteil der B-Zell-Subpopulationen und der CD4 <sup>+</sup> -Zellzahl in der Prednisolon-Gruppe.....	40
Abb. 8:	Korrelation zwischen dem Anteil der B-Zell-Subpopulationen und der CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> -Ratio in der Prednisolon-Gruppe .....	42
Abb. 9:	Negative Korrelation zwischen dem Anteil der B-Zell- Subpopulationen und der CD8 <sup>+</sup> /CD38 <sup>+</sup> /HLADR <sup>+</sup> activated CTL.....	44
Abb. 10:	Korrelation zwischen dem Anteil der B-Zell-Subpopulationen und der Konzentration von suPAR.....	46
Abb. 11:	Negative Korrelation zwischen dem Anteil der B-Zell- Subpopulationen und der Konzentration von sCD14 .....	48
Abb. 12:	Krankheitsprogression (Kaplan Meier).....	50

## **Tabellenverzeichnis**

Tab. 1:	Einteilung der klinischen Kategorien nach den U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (MMWR 1993).....	4
Tab. 2:	HIV/AIDS-Klassifikation nach den U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (MMWR 1993) .....	5
Tab. 3:	B-Zellpopulationen und deren gebräuchliche Marker.....	7
Tab. 4:	Übersicht der empfohlenen Therapiekombinationen nach den Deutsch-Österreichischen Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektionen (Deutsche AIDS-Gesellschaft e.V. (DAIG), 2017).....	14
Tab. 5:	Untersuchte Zellpopulationen und definierende Antikörper .....	22
Tab. 6:	Verdünnungsreihe der Antikörper am Beispiel von CD21-FITC .....	23
Tab. 7:	Inkubationszeiten .....	23
Tab. 8:	Zusammensetzung des Mastermixes CD21/27/10 für 10 Röhren.....	24
Tab. 9:	Zusammensetzung des Mastermixes CD19 für 20 Röhren .....	24
Tab. 10:	Geschlechterverteilung der ausgewerteten Studienteilnehmer .....	31



## Abkürzungsverzeichnis

AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
Ak	Antikörper
ART	Antiretrovirale Therapie
BMI	Body Mass Index
BSL	Biosafety level
CD	Cluster of differentiation (Unterscheidungsgruppen)
CDC	U.S. Centers for Disease Control and Prevention
CTL	Cytotoxic T-lymphocyte (zytotoxische T-Lymphozyten)
/c	Cobicistat
DAIG	Deutsche AIDS Gesellschaft
EC	Elite Controller
et al.	et alii
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorting (Durchflusszytometrie)
FcRL4	Fc Rezeptor Like 4
FSC	Forward Scatter
FTC	Emtricitabin
GIT	Gastrointestinaltrakt
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
INI	Integrase-Inhibitor
IRIS	Immune Reconstitution Inflammatory Syndrom (Immunrekonstitutionssyndrom)
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
LPS	Lipopolysaccharid
LTNP	Long-Term-Non-Progressor
Min	Minute
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
NIH	National Institutes of Health
NNRTI	nicht-nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren
Nr.	Nummer
NRTI	Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (Nukleosidanaloga)
NtRTI	Nukleotidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (Nukleotidanaloga)
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell (periphere mononukleare Blutzellen)
PGL	Persistierende generelle Lymphadenopathie
PI	Protease-Inhibitor
/r	Ritonavir
sCD14	Soluble (lösliches) CD14-Protein
SSC	Side Scatter
suPAR	Soluble urokinase plasminogen activator receptor

TAF	Tenofovir-Alafenamid
TFH	Follikuläre T-Helferzellen
UN	Vereinte Nationen
UNAIDS	Joint United Nations Programme on HIV/AIDS
v.a.	vor allem
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel

# **1 Einleitung**

## **1.1 Epidemiologie**

Laut UNAIDS gab es 2016 36,7 Mio. HIV-Infizierte weltweit. Davon waren 17,8 Mio Frauen, 16,7 Mio Männer und 2,1 Mio Kinder (< 15 Jahren). Die Zahl der Neuinfektionen betrug im gleichen Jahr 1,8 Mio. Menschen. Medizinische Hilfe in Form von antiretroviraler Therapie (ART) bekamen 53% der Betroffenen im Jahr 2016 (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 2017a).

Mit einem Blick auf die "Sustainable Development Goals" der Vereinten Nationen (UN) erkennt man die Wichtigkeit und Aktualität der Erkrankung. Beim dritten Ziel „Gesundheit“ stellte HIV/AIDS im Rahmen der infektiösen Erkrankungen trotz des Rückgangs der Neuinfektionen von 45% zwischen 2000 und 2015 weiterhin ein bedeutendes, medizinisches Problem dar. Dies gilt vor allem für Subsahara-Afrika, da sich dort im Jahr 2015 1,5 Neuinfektionen pro 1000 Menschen im Vergleich zu 0,3 weltweit feststellen ließen (United Nations - Economic and Social Council, 2017). Anhand der Zahlen zur weltweiten Verteilung wird das ungleiche Vorkommen sehr eindrücklich sichtbar. Mit einer Anzahl von 25,73 Mio. infizierten Menschen lebten 2016 70,1% aller Erkrankten weltweit in Afrika. Innerhalb Afrikas sind östliche und südliche Länder (19,4 Mio. Erkrankte) deutlich mehr betroffen als West- und Zentralafrika (6,1 Mio. Erkrankte) und Nordafrika und der Mittlere Osten (230 000 Erkrankte) (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 2017a). Beim Blick auf die medizinische Versorgung werden die Unterschiede noch deutlicher. Während in West-, Zentraleuropa und Nordamerika 2016 von 2,1 Mio. Erkrankten 1,7 Mio. ART erhielten (81%), waren es in den afrikanischen Ländern und im Mittleren Osten im Durchschnitt nur 53,8% (13 854 400 von 25 730 000) (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 2017a). Erstaunlich ist somit auch nicht, dass laut der WHO HIV/AIDS nach wie vor in Ländern mit niedrigem Einkommen die 5. häufigste Todesursache ist (World Health Organization (WHO), 2015).

Seit dem Höhepunkt der durch AIDS-verursachten Todesfälle im Jahr 2005 (1.9 Mio.) ist es zu einem Rückgang um 48% gekommen. Dennoch waren es im Jahr 2016 noch 1 Mio. Menschen, die an AIDS-assoziierten Erkrankungen

weltweit verstorben sind (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 2017a).

Gemäß den Schätzungen des Robert Koch Instituts (RKI) lebten Ende 2016 circa 88 400 HIV-Infizierte in Deutschland. Davon erhielten 86% eine ART. In diesem Jahr wurden 3100 Neuinfektionen geschätzt (an der Heiden et al., 2016).

Eine Tatsache, die nicht unterschätzt werden darf, sind die unterschiedlichen Verteilungen der Art der Neuinfektionen im weltweiten Vergleich. Die Gruppe derer, die über intravenösen Drogenkonsum im Jahr 2014 neuinfiziert wurden, stellte mit 51% in Osteuropa und Zentralasien den größten Teil der Neuinfektionen dar, während es in West-, Zentraleuropa und Nordamerika 15% waren. Innerhalb Afrikas ist diese Art der Neuinfektion auch sehr stark von der Region abhängig. Während sich im Mittleren Osten und Nordafrika 28% der Neuinfizierten durch injizierte Drogen an HIV ansteckten, waren es im östlichen und südlichen Afrika nur 2% (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 2016).

Neben den epidemiologischen Daten zeigen auch die immensen Kosten, die mit der HIV-/AIDS-Bekämpfung zusammenhängen, die Relevanz für die Gesellschaft. In Ländern mit geringem und mittlerem Einkommen standen 2016 19,1 Milliarden US\$ für die Bekämpfung von HIV zur Verfügung. Für 2020 schätzt UNAIDS, dass 26,2 Milliarden US\$ benötigt werden (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 2017a).

### **1.2 Überblick HIV-Infektion**

Das HI-Virus befällt die Zellen des Immunsystems und schwächt dadurch die menschliche Abwehr gegen Infektionen und bestimmte Tumorarten (World Health Organization (WHO), 2017). Übersetzt bedeutet HIV „human immunodeficiency virus“ und es gehört zur Gruppe der Retroviren (Deutsche AIDS-Gesellschaft e.V. (DAIG)). Im Zuge der Infektion werden vor allem CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten und Makrophagen angegriffen und zerstört. Die Replikation des Virus innerhalb dieser Zellen hindert sie an der Ausführung ihrer physiologischen Funktion. CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten haben eine elementare Rolle für die spezifische (zelluläre) Immunabwehr, wohingegen Makrophagen durch Phagozytose

Bakterien, Viren und andere Fremdkörper aufnehmen und abbauen (Campell et al., 2009, Deutsche AIDS-Gesellschaft e.V. (DAIG)).

Die folgenden Ausführungen und Ergebnisse der Arbeit wurden mit Blutproben, die mit HIV-1 infiziert waren, erarbeitet. Daneben gibt es die HIV-2-Infektion, die vor allem in Westafrika vorkommt und weltweit betrachtet eine marginale Position einnimmt.

### **1.3 Klinik/Klassifikation**

#### **1.3.1 Klinischer Verlauf**

Der Erkrankungsverlauf der HIV-Infektion nimmt meist einen typischen Verlauf. Nach der Primärinfektion können Symptome wie Fieber, Myalgie, allgemeines Unwohlsein und ein makulopapulöser Ausschlag auftreten. Die sogenannte akute HIV-Erkrankung wird trotz medizinischer Betreuung häufig nicht als solche diagnostiziert, da sie nach 2 – 6 Wochen selbstständig wieder abklingt und wie zuvor erwähnt nur relativ unspezifische Krankheitserscheinungen mit sich bringt (Longmore et al., 2014). Innerhalb dieses Zeitraums liegt neben dem Stadium AIDS die höchste Viruslast vor. Entsprechend ist auch die Infektiosität sehr hoch und birgt bei undiagnostizierter HIV-Infektion die Gefahr der Übertragung auf das Umfeld (Robb et al., 2016, Schacker et al., 1996). Die diagnostische Konsequenz daraus ist, dass man sich während der akuten HIV-Erkrankung nicht auf die klinische Manifestation verlassen sollte, sondern frühzeitig die Zweistufendiagnostik mittels Antikörper-Suchtest und Antigen- bzw. Nukleinsäure-Bestätigungstest einbeziehen sollte (Robb et al., 2016).

Über die nächsten Jahre folgt eine asymptomatische Phase, in der die Zahl der CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten (kurz: CD4<sup>+</sup>-Zellzahl) allerdings stetig abnimmt. Bei 30% der Betroffenen zeigt sich in dieser Zeit eine persistierende generelle Lymphadenopathie (PGL) (Longmore et al., 2014).

Ab einer CD4<sup>+</sup>-Zellzahl unter 350/µl treten erneut klinische Symptome auf, die mitunter abhängig von der verbleibenden CD4<sup>+</sup>-Zellzahl ganz unterschiedlich ausfallen können (Volberding and Deeks, 2010).

## Einleitung

Das Endstadium AIDS bedeutet „acquired immunodeficiency syndrome“ und ist die chronische Folge der HIV-Infektion, die sich je nach Patient nach 2 – 15 Jahren entwickeln kann (World Health Organization (WHO), 2007, Deutsche AIDS-Gesellschaft e.V. (DAIG)). Dieses Stadium liegt entsprechend der Tab. 2 vor, wenn ein Patient mit nachgewiesener HIV-Infektion entweder eine CD4<sup>+</sup>-Zellzahl < 200/μl hat (Stadium 3) oder eine AIDS-definierende Erkrankung vorliegt (Stadium C).

### 1.3.2 Klassifikationsmöglichkeiten

Zur Einteilung der HIV-Infektion werden aktuell die folgenden zwei Klassifikationen angewendet.

Nach den U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) wird das Erkrankungsstadium von Erwachsenen und Jugendlichen über 13 Jahren gemäß einer laborchemischen Kategorie (CD4<sup>+</sup>-Zellzahl) und einer klinischen Kategorie gemäß der folgenden Auflistung (Tab. 1) festgestellt (US Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 1992).

**Tab. 1: Einteilung der klinischen Kategorien nach den U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (MMWR 1993)**

Kategorien	Klinische Manifestationen
Kategorie A	<ul style="list-style-type: none"><li>• asymptomatische HIV-Infektion</li><li>• persistierende generelle Lymphadenopathie</li><li>• akute HIV-Infektion (primär)</li></ul>
Kategorie B	→ Krankheitssymptome oder Erkrankungen, die entweder einer HIV-Infektion zugeordnet werden können oder auf eine Störung der zellulären Immunität hinweisen und nicht in die AIDS-definierende Kategorie C fallen (Hartmann et al., 2017) <ul style="list-style-type: none"><li>• Bazilläre Angiomatose</li><li>• Oropharyngeale Candida-Infektion</li><li>• Vulvovaginale Candida-Infektionen, die entweder chronisch (länger als ein Monat) oder nur schlecht therapierbar sind</li><li>• Zervikale Dysplasien oder Carcinoma in situ</li><li>• Konstitutionelle Symptome wie Fieber über 38,5 Grad Celsius oder länger als vier Wochen bestehende Diarrhöe</li><li>• Orale Haarleukoplakie</li><li>• Herpes Zoster bei Befall mehrerer Dermatome oder nach Rezidiven in einem Dermatome</li></ul>

## Einleitung

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Idiopathische Thrombozytopenische Purpura</li> <li>• Listeriose</li> <li>• Entzündungen des kleinen Beckens, besonders bei Komplikationen eines Tuben- oder Ovarialabszesses</li> <li>• Periphere Neuropathie</li> </ul>
Kategorie C	<p>→ AIDS-definierende Erkrankungen</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pneumocystis jirovecii-Pneumonie</li> <li>• Toxoplasma-Enzephalitis</li> <li>• Ösophageale Candida-Infektion oder Befall von Bronchien, Trachea oder Lunge</li> <li>• Chronische Herpes simplex-Ulcera oder Herpes-Bronchitis, -Pneumonie oder -Ösophagitis</li> <li>• CMV-Retinitis</li> <li>• generalisierte CMV-Infektion (nicht von Leber oder Milz)</li> <li>• Rezidivierende Salmonellen-Septikämien</li> <li>• Rezidivierende Pneumonien innerhalb eines Jahres</li> <li>• Extrapulmonale Kryptokokken-Infektionen</li> <li>• Chronische intestinale Kryptosporidien-Infektion</li> <li>• Chronische intestinale Infektion mit Isospora belli</li> <li>• Disseminierte oder extrapulmonale Histoplasmose</li> <li>• Tuberkulose</li> <li>• Infektionen mit Mykobakterium avium complex oder M. kansasii, disseminiert oder extrapulmonal</li> <li>• Kaposi-Sarkom</li> <li>• Maligne Lymphome (Burkitt's, immunoblastisches oder primär zerebrales Lymphom)</li> <li>• Invasives Zervix-Karzinom</li> <li>• HIV-Enzephalopathie</li> <li>• Progressiv multifokale Leukenzephalopathie</li> <li>• Wasting-Syndrom</li> </ul>

Eine Zusammenfassung aller Erkrankungsstadien stellt Tab. 2 dar.

**Tab. 2: HIV/AIDS-Klassifikation nach den U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (MMWR 1993)**

Laborkategorie CD4 <sup>+</sup> -Zellzahl)	Klinische Kategorie		
	A	B	C
> 500/ $\mu$ l	A1	B1	C1
200 – 499/ $\mu$ l	A2	B2	C2
< 200/ $\mu$ l	A3	B3	C3

Die Klassifikation der WHO orientiert sich im Gegensatz zur amerikanischen CDC-Klassifikation ausschließlich an klinischen Parametern und ist somit unabhängig von laborchemischen Gegebenheiten, die je nach Land sehr unterschiedlich vorhanden sind, anwendbar. Unterteilt wird in die primäre HIV-Infektion und weitere vier klinische Stadien (World Health Organization (WHO), 2007, AIDS Education and Training Center (AETC), 2014).

### **1.4 Immunpathogenese und Immunaktivierung**

#### **1.4.1 Allgemeines**

Entsprechend des Namens führt das Humane Immundefizienz-Virus (HIV) zur Beeinträchtigung des Immunsystems. Wichtige Bestandteile dieses Systems, die durch das HI-Virus entscheidend beeinträchtigt werden, sind die T- und B-Lymphozyten (T-/B-Zellen). Hierbei ist vor allem interessant wie sich diese beiden Zellgruppen und deren Subpopulationen gegenseitig beeinflussen.

Während der frühen HIV-Infektion kommt es sowohl zum Absterben von infizierten wie auch nicht infizierten CD4<sup>+</sup>-Zellen. Beim Vergleich der CD4<sup>+</sup>-Zellzahl des peripheren Blutes und des Gastrointestinaltraktes (GIT) zeigt sich in der Lamina propria des GIT eine über 50% stärkere Depletion (Brenchley et al., 2004, Mehandru et al., 2004, Marchetti et al., 2013). Des Weiteren zeigen die gastrointestinalen CD4<sup>+</sup>-Zellen sowohl ein 3-90 fach höheres Vorkommen von HIV-DNA als auch eine durchschnittlich 10 fach größere HIV-RNA-Anzahl im Vergleich zu CD4<sup>+</sup>-Zellen im peripheren Blut (Mehandru et al., 2007).

Neben den genannten Faktoren, die zu einer Schwächung des Immunsystems führen, tritt gleichzeitig eine Immunaktivierung auf. Deutlich wird das beim Blick auf die prozentuale Zunahme der activated Memory-B-Zellen im GIT. Weiterhin werden in der frühen Infektionsphase verstärkt zytotoxische Stoffe ausgeschüttet (Mehandru et al., 2007).

Die Immunaktivierung trägt neben der Entstehung von AIDS-definierenden Erkrankungen auch zur Zunahme von koronarer Herzerkrankung, Osteoporose, hepatischen und renalen Erkrankungen und speziellen Formen des Non-Hodgkin-Lymphoms bei (Stellbrink et al., 2010).



Auch Monozyten und Makrophagen kommt eine entscheidende Rolle in der Immunpathogenese der HIV-Infektion zu. Sie dienen dem HI-Virus als Reservoir (v.a. Alveolarmakrophagen in der Lunge) und sind somit für den therapeutischen Zugriff wenig zugänglich (Merino et al., 2017).

#### 1.4.2 Rolle und Veränderungen der B-Zellen

Neben den Veränderungen der T-Zellen wurde auch die Beeinträchtigung der B-Zellen bereits früh beschrieben (Lane et al., 1983). Hierbei sind sowohl die Zu- oder Abnahme bestimmter Subpopulationen als auch die damit zusammenhängende Immunaktivierung zu nennen. Hauptmerkmale dieser Aktivierung sind eine Hypergammaglobulinämie durch spontan sezernierende Zellen (kurzlebige Plasmablasten) und eine verminderte B-Zell-Proliferationsantwort auf T-Zell-unabhängige B-Zell-Mitogene. Die Schlussfolgerung hieraus ist eine polyklonale Aktivierung der B-Zellen bei HIV-infizierten Patienten (Lane et al., 1983).

Um genauer über die Immunaktivierung von B-Zellen sprechen zu können, ist eine Unterteilung in Subpopulationen anhand von „Cluster of differentiation“ (CD)-Molekülen notwendig. In Tab. 3 sind bestimmte B-Zellpopulationen und deren definierende Antikörper aufgeführt.

**Tab. 3: B-Zellpopulationen und deren gebräuchliche Marker**

*Modifiziert nach (Amu et al., 2013)*

Cellpopulation	Antigens			
	CD19	CD10	CD27	CD21
Transitional B-Cell	+	+	-	high
Naive B-Cell	+	-	-	+
Resting Memory-B-Cell	+	-	+	+
Activated Memory-B-Cell	+	-	+	low
Tissue-like Memory-B-Cell	+	-	-	-

Beim Gesunden stellen die naiven B-Zellen zusammen mit den Memory-B-Zellen die Mehrheit der B-Zellen außerhalb des Knochenmarks dar (Moir and Fauci, 2009). Zu den bedeutsamsten Zellveränderungen im Rahmen der HIV-Infektion zählen die Abnahme der Memory-B-Zellen bzw. deren Untergruppe resting Memory-B-Zellen (CD19<sup>+</sup> CD10<sup>-</sup> CD27<sup>+</sup> CD21<sup>+</sup>), der Anstieg der transitional

## Einleitung

B-Zellen (CD19<sup>+</sup> CD10<sup>+</sup> CD27<sup>-</sup> CD21<sup>high</sup>) wie auch die Zunahme der activated Memory-B-Zellen (CD19<sup>+</sup> CD10<sup>-</sup> CD27<sup>+</sup> CD21<sup>low</sup>), der kurzlebigen Plasmablasten und der tissue like Memory-B-Zellen (CD19<sup>+</sup> CD10<sup>-</sup> CD27<sup>-</sup> CD21<sup>-</sup>) (Kaminski et al., 2012, Portugal et al., 2017, Amu et al., 2013, De Milito et al., 2001).

Ein Mechanismus der Beeinflussung von HIV auf B-Zellen stellt die direkte Bindung über den Komplement-Rezeptor CD21 dar (Kacani et al., 2000).

Ein weiterer Mechanismus wird gemäß dem Übersichtsartikel von Amu et al. durch die Anhäufung von folliculären T-Helferzellen (TFH) im Keimzentrum lymphatischen Gewebes begründet (Lindqvist et al., 2012). Hieraus resultiert zwar ein Anstieg der B-Zellen bzw. der Plasmazellen und dadurch die bereits erwähnte Hypergammaglobulinämie, jedoch sind sowohl die B-Zellen als auch deren produzierte Antikörper von niedriger Affinität (Amu et al., 2013).

Um die genaue Differenzierung der bei HIV vorherrschenden Zellreihen und die Entstehung der Hypergammaglobulinämie zu verstehen, sollte man auf die folgenden drei Subpopulationen näher eingehen:

- Activated Memory-B-Zellen
- Kurzlebige Plasmablasten
- Tissue like Memory-B-Zellen

Sowohl über die Zwischenstufe der activated Memory-B-Zellen als auch direkt entstehen bei HIV-Infizierten aus naiven B-Zellen sogenannte kurzlebige Plasmablasten. Diese produzieren gemeinsam mit den activated Memory-B-Zellen im Rahmen der HIV-Infektion den Großteil der Antikörper und stellen somit die Ursache der Hypergammaglobulinämie dar. Beide Zellreihen sind bei HIV-Erkrankten im peripheren Blut erhöht (Amu et al., 2013).

Eine weitere Subpopulation der B-Zellen, die von wissenschaftlichem Interesse ist, sind die tissue like Memory-B-Zellen. Ihre Erstbeschreibung war 2008 (Moir et al., 2008a). Die Besonderheit dieser Gruppe liegt darin begründet, dass sie bei mehreren chronischen Infektionskrankheiten wie der Tuberkulose, Malaria,

Hepatitis oder eben HIV/AIDS auftritt. Sie zeichnen sich neben der phänotypischen Unterscheidung ( $CD19^+ CD10^- CD27^- CD21^-$ ) von anderen B-Zellen durch die Expression einer Reihe inhibitorischer Rezeptoren (z.B. FcRL4) und einer Refraktärität auf allgemein bekannte Stimulatoren (z.B. B-Zell-Rezeptor) aus (Portugal et al., 2017). Die eventuelle Funktion, die sie im Rahmen der jeweiligen chronischen Infektion spielen, sind weiterhin Bestand der aktuellen Forschung.

### 1.4.3 Immunaktivierung am Beispiel weiterer Progressionsmarker

#### 1.4.3.1 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-Ratio

Als ein klinischer Biomarker zur Erfassung der chronischen Immunaktivierung hat sich die CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-Ratio herausgestellt (Serrano-Villar and Deeks, 2015). Diese ist schwankungsunabhängiger als die reine CD4<sup>+</sup>-Zellzahl und beim Gesunden  $> 1$ . In zahlreichen Studien wurde gezeigt, dass trotz ART die CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-Ratio dauerhaft erniedrigt bleibt und somit eine Bedeutung für die erhöhte Mortalität und Morbidität, die nicht auf AIDS-definierende Erkrankungen zurückzuführen ist, haben könne (Pollock et al., 2018, Seng et al., 2015, Mussini et al., 2015). Nachdem sich diese Beobachtung trotz einer normalen oder nahezu normalen CD4<sup>+</sup>-Zellzahl zeigt, deutet dies auf Beeinträchtigungen im CD8<sup>+</sup>-Kompartiment hin (Pollock et al., 2018).

#### 1.4.3.2 CD38<sup>+</sup> HLA-DR<sup>+</sup>-Phänotyp bei CD8<sup>+</sup> T-Zellen

Wie im vorausgehenden Kapitel 1.4.3.1 bereits erwähnt, zeigt die HIV-Infektion neben den Veränderungen der B- und CD4<sup>+</sup> T-Zellen auch Einfluss auf die CD8<sup>+</sup> T-Zellen. Um deren Aktivierung anzuzeigen, verwendet man unter anderem die Marker CD38<sup>+</sup> und HLADR<sup>+</sup>. Bei erkrankten Patienten mit Virämie überwiegt der Phänotyp CD38<sup>+</sup> HLADR<sup>+</sup> (Hua et al., 2014). Weiterhin zeigt die Zahl der CD8<sup>+</sup> T-Zellen mit CD38-Expression eine negative Korrelation mit der CD4<sup>+</sup> T-Zellzahl, die im Rahmen der HIV-Infektion abfällt (Xie et al., 2016). Gleichzeitig führt eine hohe Zahl an CD38<sup>+</sup> HLADR<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T-Zellen bei Therapiebeginn zu einem verringerten Wiederanstieg der CD4<sup>+</sup> T-Zellen unter ART (Sandler et al., 2011).

Eine kleine Gruppe, die als sogenannte HIV-Controller bezeichnet wird und durch niedrige Virusreplikation gekennzeichnet ist, zeigt hingegen den Phänotyp CD38<sup>-</sup> HLADR<sup>+</sup> (Hua et al., 2014).

### 1.4.3.3 suPAR

Der Biomarker „soluble urokinase plasminogen activator receptor“ (suPAR) zeigt systemische Entzündungsprozesse an und spielt eine Rolle bei der Fibrinolyse und der Zellmigration (Langkilde et al., 2012). Er entsteht bei der Abspaltung des membrangebundenen „urokinase plasminogen activator receptor“ (uPAR), einem Protein, das auf unterschiedlichen Immunzellen (u.a. aktivierten T-Zellen, Monozyten und Makrophagen) vorkommt (Toldi et al., 2013). Die Expression von uPAR ist im Rahmen der untherapierten HIV-Infektion deutlich gesteigert. Dies führt zu einer klinischen Relevanz, da erhöhte Werte mit höherem Risiko für kardiovaskuläre, chronische Lungen- und chronische Nieren- sowie Lebererkrankungen und Tumoren und letztendlich mit einer erhöhten Mortalität assoziiert sind (Kirkegaard-Klitbo et al., 2017). Vor allem im Verlauf des ersten Jahres unter ART sinkt suPAR wieder (Ostrowski et al., 2004).

### 1.4.3.4 sCD14

CD14 kommt entweder als lösliches Protein (sCD14) oder gebunden an Monozyten/Makrophagen vor und dient als Corezeptor für mikrobielle Moleküle. Insbesondere die durch sCD14 massiv gesteigerte Makrophagenantwort nach Stimulation durch Lipopolysaccharide (LPS)<sup>1</sup> zeigt seine Bedeutung für die Immunabwehr des Körpers (National Center for Biotechnology Information (NCBI), 2014). Hierbei ist von besonderer Wichtigkeit, dass die gesteigerte mikrobielle Translokation im GIT (vor allem durch LPS) maßgeblich zu einer generalisierten Immunaktivierung bei HIV-Infizierten beiträgt (Brenchley et al., 2006). Durch das gesteigerte Vorliegen von sCD14 im Blut kann die vorliegende Immunaktivierung dargestellt werden (Sandler et al., 2011). Unterstützt wird das von Sandler et al. dadurch, dass zudem eine positive Korrelation von sCD14 und Il-6-, CRP-, Serum Amyloid A- und D-Dimer-Konzentration nachgewiesen wurde.

---

<sup>1</sup> Moleküle auf der Zellmembran von gramnegativen Bakterien

Ferner ist klinisch bedeutsam, dass bei erhöhten sCD14-Spiegeln auch die Mortalität bis auf das Sechsfache gesteigert ist (Sandler et al., 2011).

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass sCD14 als Immunaktivierungsmarker, der sich speziell auf Monozyten/Makrophagen bezieht, von Bedeutung ist, da dieser langfristiger erhöht bleibt als andere Marker, die durch die ART bereits absinken (Wada et al., 2015).

### 1.4.4 Long-Term-Non-Progressors/Elite-Controllers

Dass die Immunaktivierung eine entscheidende Rolle im Krankheitsprogress spielt, lässt sich auch am Beispiel der sogenannten „Long-Term-Non-Progressors“ (LTNP) erkennen. Diese Gruppe von HIV-Infizierten hat auch nach zehnjähriger Erkrankungsdauer keine klinischen Symptome bei einer relativ normalen CD4<sup>+</sup>-Zellzahl von 500/μl (Gurdasani et al., 2014). Interessant ist hierbei, dass die Progression von LTNPs trotz hoher Viruslast ausbleibt. Ein mögliche Ursache hierfür stellt die niedrige Immunaktivierung dar, wobei proliferierende und aktivierte CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen reduziert sind (Choudhary et al., 2007). Während sich LTNPs wie beschrieben durch klinisch-immunologische Kriterien auszeichnen, ist das Hauptkriterium bei sogenannten „Elite Controllern“ (ECs) die Kontrolle der Viruslast. Ein Jahr nach der Infektion weisen sie HIV-RNA-Spiegel < 50 Kopien/ml auf (Gurdasani et al., 2014). Trotz dieser niedrigen Viruslast haben ECs eine gesteigerte Anzahl aktivierter CD4<sup>+</sup>- (3,8% vs. 2,2%, p < 0,001) und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen (15,5% vs. 5,1%, p < 0,001) bei niedrigerer CD4<sup>+</sup>-Gesamtzellzahl (Median 727 vs. 943/mm<sup>3</sup>, p = 0,059) als Uninfizierte (Hunt et al., 2008).

## 1.5 Therapie

### 1.5.1 Therapeutische Grundsätze

Durch die ART sollen die klinischen Beschwerden verhindert bzw. reduziert, die Lebenserwartung gesteigert, die HIV-Replikation unter die Nachweisgrenze gedrückt, das Übertragungsrisiko gesenkt und ein intaktes Immunsystem wiederhergestellt werden (Volberding and Deeks, 2010, Cohen et al., 2011). Mit der Umsetzung dieser Ziele kann man sowohl dem einzelnen Patienten helfen

als auch die weitere Ausbreitung der HIV-Pandemie reduzieren (Behrens, 2012, He et al., 2018).

Das finale Ziel stellt selbstverständlich die Heilung dar. Um das zu erreichen besteht trotz der effektiven Therapiemöglichkeiten ein zentrales Problem weiterhin. Die Virusmenge kann zwar unter die Nachweisgrenze gedrückt werden, schlussendlich persistiert das HI-Virus aber weiterhin im Körper. Eine Ursache hierfür stellen vermutlich infizierte langlebige Memory-T-Zellen und deren Proliferation dar (Deeks, 2011).

Infolgedessen muss die Therapie lebenslang eingenommen werden und darf nicht unterbrochen werden (Kaufmann et al., 2011, Volberding and Deeks, 2010).

Nachdem eine im Plasma nachgewiesene Viruslast unabhängig von der CD4<sup>+</sup>-Zellzahl ein erhöhtes Risiko darstellt, ist ein wesentliches Therapieziel die Senkung der Viruslast (Mellors et al., 1997).

### 1.5.2 Therapie in Deutschland

Gemäß der deutsch-österreichischen Leitlinie zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion besteht bei symptomatischen Patienten (CDC B und C) die Indikation zur Behandlung (Deutsche AIDS-Gesellschaft e.V. (DAIG), 2017). Im Gegensatz dazu bemisst sich die Indikationsstellung zur Therapie bei asymptomatischen Patienten an unterschiedlichen Entscheidungskriterien, allen voran der CD4<sup>+</sup>-Zellzahl.

Wie in der Leitlinie empfohlen, ist bei einer CD4<sup>+</sup>-Zellzahl unter 500/µl auch bei asymptomatischen Patienten eine ART eindeutig indiziert (Lundgren et al., 2015). Die vorherigen Empfehlungen zur differenzierteren Abstufung des Therapiebeginns bei CD4<sup>+</sup>-Zellzahlen zwischen 500/µl und 200/µl (Sterne et al., 2009, Palella et al., 2003, Phillips et al., 2007, Deutsche AIDS-Gesellschaft e.V. (DAIG), 2014) wurden in Fassung von 2017 in eine „soll-Empfehlung“ abgeändert.

Bei einer CD4<sup>+</sup>-Zellzahl über 500/µl ist die ART zwar auch indiziert, ein Abwarten ist jedoch auch vertretbar.

## Einleitung

Hinsichtlich des Therapiebeginns ist auch zu bedenken, dass eine Verzögerung der Therapie und somit ein weiteres Absinken der CD4<sup>+</sup>-Zellzahl eine spätere Normalisierung dieser unwahrscheinlicher macht (Moore and Keruly, 2007).

Wie in der Arbeit von El-Sadr et al. diskutiert, kann es durch die Einnahme der ART unter anderem zu hepatischen und kardiovaskulären Komplikationen wie auch zu Kopfschmerzen oder Diarrhoe kommen (Reisler et al., 2003, Friis-Moller et al., 2003, Phillips et al., 2007), die Notwendigkeit der kontinuierlichen und lebenslangen Substitution schränkt die Lebensqualität ein, die Medikation ist teuer (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 2017b) und es besteht zusätzlich die Gefahr der Resistenzbildung (Clavel and Hance, 2004, El-Sadr et al., 2006). Weiterhin stellt die Gefahr der Entwicklung von Prädiabetes und Diabetes ein großes Risiko der ART dar (Nansseu et al., 2018). Die Möglichkeit die Therapie mit Unterbrechungen durchzuführen, um etwaige therapieassoziierte Erkrankungen zu verhindern, stellte sich als nicht effektiv dar und sollte zusätzlich aufgrund der Steigerung der Morbidität und Mortalität verworfen werden (El-Sadr et al., 2006).

Zur Therapie werden nukleosidische/nukleotidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI bzw. NtRTI oder Nukleosid- bzw. Nukleotidanaloga), nicht-nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NNRTI), Ritonavir- oder Cobicistat geboosterte Protease-Inhibitoren („PI/r“ bzw. „PI/c“) und Integrase-Inhibitoren (INI) verwendet. Das empfohlene Schema ist eine Kombination aus zwei NRTI mit einem NNRTI, einem INI oder einem geboosterten PI (Walmsley et al., 2013, Deutsche AIDS-Gesellschaft e.V. (DAIG), 2017).

**Tab. 4: Übersicht der empfohlenen Therapiekombinationen nach den Deutsch-Österreichischen Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektionen (Deutsche AIDS-Gesellschaft e.V. (DAIG), 2017)**

*INI =Integrase-Inhibitor, NNRTI = nicht-nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitor, PI = Protease-Inhibitor, TAF = Tenofovir-Alafenamid, FTC = Emtricitabin, /c = Cobicistat, /r = Ritonavir*

Kombinationspartner 1			Kombinationspartner 2	
Nukleosid-/Nukleotid-kombinationen	Tenofovir-Alafenamid / Emtricitabin	+	INI	Dolutegravir
	Abacavir / Lamivudin			Raltegravir
Elvitegravir/c (+TAF/FTC)				
Alternative	Tenofovir-Disoproxilfumarat / Emtricitabin		NNRTI	Rilpivirin (+TAF/FTC)
	Tenofovir-Disoproxilfumarat + Lamivudin		PI	Darunavir/r oder Darunavir/c (+TAF/FTC)
				Alternative
		Atazanavir/c		

Der Therapieerfolg wird durch eine Plasmavirämie < 50 HIV-RNA-Kopien/ml spätestens nach 6 Monaten beschrieben.

### 1.5.3 Therapie weltweit und in Entwicklungsländern

Die soeben aufgeführte Therapie in Deutschland entspricht im Wesentlichen der in anderen entwickelten Ländern. Unterschiede bei der therapeutischen Situation sind hingegen in Entwicklungsländern festzuhalten. Aufgrund der finanziellen Situation standen bisher z.B. neuere antiretrovirale Medikamente wie Integraseinhibitoren in Ländern mit niedrigem und mittlerem Einkommen kaum zur Verfügung (Richardson et al., 2014). Des Weiteren stellt die in Deutschland empfohlene Resistenztestung vor Therapiebeginn in Afrika nicht den Standard dar (Deutsche AIDS-Gesellschaft e.V. (DAIG), 2017). Diese prätherapeutische Untersuchung erfährt aufgrund der steigenden Resistenzen gegen Medikamente zusätzlich an Bedeutung. C. Kasang hat 2011 eine Prävalenz von über 19% bei



Patienten über 25 Jahren in Mwanza/Tansania nachgewiesen (Kasang et al., 2011).

Die empfohlene First-Line-Tripletherapie für Länder mit niedrigem Einkommen besteht aus Tenofovir kombiniert mit Emtricitabin oder Lamivudin und Efavirenz (Richardson et al., 2014).

### 1.5.4 Kortikosteroide in der HIV-Therapie

In einer Studie von Ulmer et al. wurde gezeigt, dass HIV-Infizierte durch die alleinige Gabe von 5 mg Prednisolon über sechs Monate eine Stabilisierung der CD4<sup>+</sup>-Zellzahl vorweisen und somit die Zeit bis zur Einnahme von ART inklusive deren unerwünschten Nebenwirkungen verlängert werden könnte (Ulmer et al., 2005b). In der Studie war die CD4<sup>+</sup>-Zellzahl nach drei Jahren bei der Prednisolongruppe um 50,1/μl gestiegen, wohingegen sich diese in der Placebogruppe um 186,2/μl verminderte ( $p = 0,0021$ ).

Auch im Rahmen der ProCort-Studie (siehe Kap. 1.6) hat sich gezeigt, dass Prednisolon einen stabilisierenden Effekt auf die CD4<sup>+</sup>-Zellzahl bewirkt und die CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-Ratio steigert (Kasang et al., 2016). Die CD4<sup>+</sup>-Zellzahl stieg hier während zweijähriger Behandlungsdauer in der Prednisolongruppe um 77,42/μL, während sie in der Placebogruppe um 37,49/μl absank ( $p < 0,0001$ ).

Weiterhin werden Kortikoide auch beim Immumrekonstitutionssyndrom (IRIS = „Immune Reconstitution Imflammatory Syndrome“), das bei Patienten mit HIV-Infektion als gesteigertes Entzündungsgeschehen meist durch opportunistische Infektionen nach Beginn einer ART auftritt (French, 2009), verwendet. Vor allem bei der Behandlung des mykobakteriellen IRIS wird die Gabe von Prednisolon empfohlen (Meintjes et al., 2012, Lesho, 2006).

### 1.6 ProCort-Studie

Im Rahmen der ProCort-Studie wurde in unserer Arbeitsgruppe der Einfluss von gering-dosiertem Prednisolon (5 mg/Tag) auf die Progression der Erkrankung untersucht (ProCort-Studie, clinicaltrials.gov NCT01299948) (Kasang et al., 2016). Es handelt sich um eine 24-monatige, Placebo-kontrollierte, randomisierte Doppelblindstudie, die am Bugando Medical Center in Mwanza, Tansania, von

2007 bis 2011 durchgeführt wurde. Der primäre Endpunkt war die Zeit bis zum Erreichen AIDS-definierender Erkrankungen oder eine CD4<sup>+</sup>-Zellzahl unter 200 Zellen/ $\mu$ l. Obwohl die Veränderungen der Progression zum primären Studienendpunkt nicht signifikant waren, konnte allerdings gezeigt werden, dass gering-dosiertes Prednisolon bei weiblichen Studienteilnehmern zu einer signifikant verlangsamten Progression geführt hat.

Nachdem asymptomatischen HIV-Patienten in Tansania 2007 erst ab einer CD4<sup>+</sup>-Zellzahl unter 200 Zellen/ $\mu$ l ART empfohlen wurde, stellte die Gabe von Prednisolon eine therapeutische Option dar. Zudem war die lokale Verfügbarkeit von ART sehr begrenzt.

### **1.7 Immunological Nonresponders**

#### **1.7.1 Inadäquater CD4<sup>+</sup>-Zellzahl-Anstieg trotz ausreichender Suppression der Viruslast**

Obwohl seit der Einführung der ART die Morbidität und die Mortalität gesunken sind (Mocroft et al., 2003), gibt es HIV-Infizierte, die durch die ART zwar eine Senkung der Viruslast erfahren, aber keinen adäquaten CD4<sup>+</sup>-Zellzahl-Anstieg und resultierend eine erhöhte Mortalität zeigen (Engsig et al., 2014). Laut Engsig et al. sei die Mortalität bei einer CD4<sup>+</sup>-Zellzahl < 200 Zellen/ $\mu$ l nach 3 Jahren ART deutlich erhöht. Des Weiteren stellen höheres Alter, geringere CD4<sup>+</sup>-Zellzahl zu Therapiebeginn (Moore and Keruly, 2007), HIV-Übertragung durch heterosexuellen Sex und intravenösen Drogengebrauch sowie unbekannte Übertragungsart, ART-Beginn nach 1998 und Therapieverzögerung Risikofaktoren dafür dar (Engsig et al., 2014).

#### **1.7.2 Mangelnde Suppression der Viruslast**

Neben dem fehlenden CD4<sup>+</sup>-Zellzahlanstieg kommt es bei manchen Patienten auch zu einer unzureichenden Unterdrückung der Viruslast. Dieses Phänomen bezeichnet man als „virologic failure“ und wird von den amerikanischen National Institutes of Health (NIH) definiert als die Unfähigkeit die Suppression der Virusreplikation auf ein HIV-RNA-Level < 200 Kopien/ $\mu$ l zu erreichen bzw. langfristig zu halten (National Institutes of Health, 2017). Eine bedeutende Gefahr

## Einleitung

in dieser Situation stellt für den Patienten die Entwicklung von Medikamentenresistenzen durch Mutationen dar. Dies wiederum kann therapeutische Konsequenzen notwendig machen. Beachten sollte man hierbei insbesondere, dass Mutationen vor allem bei Patienten mit Zweit-/Drittlinien-Therapeutika bereits bei geringerer Viruslast auftreten (Aleman et al., 2002). Interessanterweise besteht bei einem Teil der Patienten auch eine Assoziation zwischen der ungenügenden Senkung der Viruslast und einer dennoch ansteigenden CD4<sup>+</sup>-Zellzahl (Aleman et al., 2002, Deeks et al., 2000). (Dieses Situation stellt genau die Umkehrsituation zu Kapitel 1.7.1 dar.)

## **2 Zielsetzung**

Die Immunaktivierung im Rahmen der HIV-Infektion stellt einen wesentlichen Faktor zur Krankheitsprogression dar. Nachdem diese durch die etablierte und gut wirksame ART nur teilweise verhindert wird, stellt sich die Frage nach immunmodulatorischen Therapieergänzungen um bei allen Patienten einen optimalen Therapieerfolg zu erzielen.

Afrikanische HIV-Infizierte haben als meist betroffenes Kollektiv der gesamten Welt bei gleichzeitig eingeschränkten sozioökonomischen Verhältnissen die größte Herausforderung zu meistern. Eine Konsequenz dessen ist die begrenzte Verfügbarkeit von antiretroviralen Therapeutika in vielen Regionen Afrikas. Aus diesem Grund und mit Hinblick auf die Frage nach möglichen additiven Therapieoptionen mit günstigem Einfluss auf das Immunsystem wurde deshalb ein Therapieversuch mit Glukokortikoiden in Tansania durchgeführt.

Die antiinflammatorischen und immunmodulatorischen Wirkungen von Prednisolon sind seit Jahrzehnten bekannt und wurden in der ProCort-Studie genauer untersucht. Hierbei handelt es sich um eine zweijährige, Placebo-kontrollierte, randomisierte Doppelblindstudie, bei der die Patienten 5 mg Prednisolon täglich einnahmen. Ergebnisse liegen aus diesem Gesamtkollektiv (n = 326) bereits für die Krankheitsprogression, T-Zellveränderungen und Immunaktivierungsmarkern vor.

Die Hauptfragestellungen dieser Arbeit sind wie folgt:

Wie verändern sich die B-Zell-Populationen HIV-Infizierter unter niedrig-dosierter Prednisolontherapie?

Welche Rolle spielen diese Veränderungen bei der vorliegenden Hyperimmunaktivierung?

Decken sich die Ergebnisse des untersuchten Teilkollektivs (n = 141) mit bereits bekannten Einflüssen der HIV-Erkrankung selbst und/oder der Prednisolontherapie auf spezifische Immunaktivierungsmarker?

### **3 Material und Methoden**

Die methodische Umsetzung unter Verwendung der folgenden Materialien erfolgte sowohl in einem BSL-2- als auch einem BSL-3-Labor der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. C. Scheller im Institut für Virologie und Immunbiologie der Universität Würzburg.

#### **3.1 Material**

##### **3.1.1 Geräteliste**

<b>Gerät</b>	<b>Typenbezeichnung</b>	<b>Hersteller</b>
Großraum-Autoklav		MMM Münchener Medizin Mechanik
Durchflusszytometer	FACS-Calibur	Becton, Dickinson & Company
Eismaschine	AF-10	Scotsman
Kühl- & Gefrierschränke		Bosch
Lichtmikroskop	Fluorovent	Leitz
MIDI-Rack	10 Plätze	A. Hartensteiner
Neubauer-Zählkammer		Marienfeld
Pipette	2 – 20 µl, 50 – 200 µl, 100 – 1000 µl	Gilson
Sterilwerkbank	BSB 4A	Gelaire Flow Laboratories
Vortex Zentrifuge	Rotanta 460 R	Hartenstein Hettich

##### **3.1.2 Verbrauchsmaterialien**

<b>Material</b>	<b>Volumen</b>	<b>Hersteller</b>
Cellstar Tube	50 ml	Greiner Bio-One
Cellstar Tube	15 ml	Greiner Bio-One
CryoTube™ Vials	1,8 ml	NUNC
Einmalhandschuhe		Medline
Sensicare Ice		
FACS-Röhrchen	5 ml	Becton, Dickinson & Company
Griffstopfen	12 mm Ø	A. Hartensteiner
Pipettenspitzen	0,1 – 10 µl	Roth
Pipettenspitzen	200 µl	Biozym
Pipettenspitzen	1000 µl	Gilson
Reagenzgläser		

### 3.1.3 Antikörper und Kits

#### Eigens verwendete Antikörper:

<b>Antikörper</b>	<b>Konjugierter Farbstoff</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Bestellnummer</b>
Mouse Anti-Human CD21	FITC	Becton, Dickinson & Company	RUO 561372
Mouse Anti-Human CD27	PE	Becton, Dickinson & Company	RUO 555441
Mouse Anti-Human CD19 (CD10 (HI10a))	PerCP-Cy™ 5.5 APC	Becton, Dickinson & Company Becton, Dickinson & Company	RUO 561295 IVD 332777

#### Antikörper, die zur Erstellung der Fremdbefunde verwendet wurden:

<b>Antikörper</b>	<b>Konjugierter Farbstoff</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Bestellnummer</b>
Mouse Anti-Human CD8	FITC	Becton, Dickinson & Company	IVD 345772
Mouse Anti-Human CD38	PE	Becton, Dickinson & Company	RUO 555460
Mouse Anti-Human CD3	PerCP-Cy™ 5.5	Becton, Dickinson & Company	RUO 560835
HLA-DR	APC	Becton, Dickinson & Company	RUO 559866

#### Kits, die zur Erstellung der Fremdbefunde verwendet wurden:

<b>Kit</b>	<b>Firma</b>
sCD14 ELISA-Kit	Diaclone
suPAR ELISA-Kit	ViroGates

### 3.1.4 Puffer und Reagenzien

#### **Puffer und Reagenzien**

FACS-Färbung-Puffer

#### **Zusammensetzung**

- 0,1% BSA
- 0,1% Natriumazid
- in PBS

Paraformaldehydlösung 4%

- 11 ml Formaldehydlösung (37%)
- 89 ml PBS

Phosphate Buffered Saline (PBS)

- 137 mM NaCl
- 2,7 mM KCl
- 4,3 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>
- 1,4 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
- 1,5 mM CaCl<sub>2</sub>
- 1,0 mM MgCl<sub>2</sub>

RPMI R10

- 0,5 ml Penicillin/Streptomycin
- 3,5 ml Glutamin
- in 500 ml RPMI 1640 (Rosswell Park Memorial Institute Medium) (Invitrogen)

### 3.1.5 Software

#### **Software**

EndNote X8

FlowJo Version 8.8

GraphPad Prism Version 6.0

Microsoft Excel

Microsoft Word

Cell Quest Pro 3

#### **Hersteller**

Clarivate Analytics

FlowJo LLC

GraphPad Software

Microsoft Corporation

Microsoft Corporation

Becton, Dickinson & Company

## 3.2 Methoden

### 3.2.1 Theoretischer Hintergrund der Zelldifferenzierung und Definition der Subpopulationen

Der Phänotyp einer Zelle kann mit Hilfe des „cluster of differentiation“ (CD) bestimmt werden. Dabei handelt es sich um unterschiedliche Proteine an der Oberfläche von Zellen, die eine Unterteilung in Subpopulationen möglich

machen. Die Differenzierung erfolgt über unterschiedliche Antikörper, die an die Oberflächenproteine binden. Von diesen sind mittlerweile über 350 bekannt (Actor, 2014).

Eine Übersicht über die untersuchten Zellpopulationen und ihre spezifischen Antikörper findet sich in Tab. 5.

**Tab. 5:        *Untersuchte Zellpopulationen und definierende Antikörper***

Zellpopulation	Antikörper		
	CD19	CD27	CD21
Memory-B-Cell	+		
Resting Memory-B-Cell	+	+	+
Activated Memory-B-Cell	+	+	-

Nach dieser theoretischen Einführung wird in den folgenden Kapiteln der Ablauf der Laborarbeit im Detail erklärt.

### 3.2.2    Vorversuche

#### 3.2.2.1    Verdünnungsreihen der Antikörper

Zur Optimierung der Methodik wurde eine Verdünnungsreihe der jeweiligen Antikörper durchgeführt. Damit minimale Konzentrationsunterschiede durch den Pipettiervorgang nicht so stark ins Gewicht fallen, wurde die zu pipettierende Antikörpermenge verdreifacht und mit R10 zu einer Gesamtmenge von 150 µl aufgefüllt. Für die Färbung wurden deshalb im Anschluss nur je 50 µl der entsprechenden Verdünnung verwendet. Das Verhältnis der Verdünnung blieb somit unverändert.

Von dem Anfangsvolumen (Röhrchen Nr. 1) wurden nach kurzem Vortexen stets 75 µl in das nächste Röhrchen überführt. Die Röhrchen Nr. 2 – 10 wurden zuvor mit jeweils 75 µl R10 aufgefüllt, um letztendlich in jedem Röhrchen das Gesamtvolumen von 150 µl zu erreichen.

Tab. 6 zeigt einen Überblick über die Verdünnungsverhältnisse am Beispiel des Antikörpers CD21-FITC.



**Tab. 6: Verdünnungsreihe der Antikörper am Beispiel von CD21-FITC**

<b>Röhrchen (Nr.)</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>Verdünnungsverhältnis</b>	1	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	0
<b>Antikörperkonzentration (µl)</b>	5	2,5	1,25	0,625	0,32	0,16	0,08	0,04	0,02	0

Die optimierte Testmethode wurde für die Färbungen der ProCort-Proben mit folgenden Antikörperkonzentrationen verwendet:

- 1,25 µl CD19-PerCP-Cy™ 5.5
- 1,25 µl CD21-FITC
- 10 µl CD27-PE
- 5 µl CD10 (HI10a)-APC

### 3.2.2.2 Optimierung/Überprüfung der Inkubationszeit

Anhand von zusätzlichen PBMCs wurden in diesem Versuch Messungen zur Optimierung der Inkubationszeit der Antikörperfärbungen durchgeführt. Dazu wurden jeweils 100 µl PBMC und einer der später verwendeten Antikörper in sieben Röhrchen miteinander inkubiert. Ab der Zugabe des Antikörpers wurde ein Timer gestellt, der dann die unterschiedlichen Inkubationszeiten (siehe Tab. 7) vorgab.

**Tab. 7: Inkubationszeiten**

<b>Röhrchennummer</b>	1	2	3	4	5	6	7
<b>Inkubationszeit (min)</b>	(Kein Ak)	5	10	15	20	25	30

Die Inkubationszeit wurde durch die Zugabe von 2 ml Formalin (4%) beendet.

Anhand der ausgewerteten FACS-Graphiken konnte man ab einer Inkubationszeit von 20 min eine klare Unterteilung der angefärbten

Zellpopulationen auf die unterschiedlichen Quads erkennen. Somit wurde diese Inkubationszeit für alle weiteren Messungen als Standard festgelegt.

### 3.2.3 Vorbereitung der Antikörper im BSL2-Labor

Im BSL2-Labor wurden die Antikörpermischungen der zwei Mastermixe vorbereitet. Der Mastermix CD21/27/10 soll später die Unterteilung der B-Zellen in unterschiedliche Subpopulationen (siehe Kap. 3.2.1) sichtbar machen. Gemäß Tab. 8 wurde dieser erstellt.

**Tab. 8: Zusammensetzung des Mastermixes CD21/27/10 für 10 Röhren**

Antikörper	Menge	Multiplikator	Gesamtmenge
CD21	1,25 µl	12	15 µl
CD27	10 µl	12	120 µl
CD10	5 µl	12	60 µl
Antikörper gesamt			= 195 µl
R10	105 µl		105 µl
Mastermix gesamt			= 300 µl

Der Mastermix CD19 diente sowohl als primäre Vorauswahl der B-Zellen zum Mastermix CD21/27/10 als auch als reine Kontrollfärbung ohne zusätzliche Antikörper. Die Zusammensetzung ist in Tab. 9 aufgeführt.

**Tab. 9: Zusammensetzung des Mastermixes CD19 für 20 Röhren**

Antikörper	Menge	Multiplikator	Gesamtmenge
CD19	1,25 µl	22	27,5 µl
R10	522,5 µl		522,5 µl
Mastermix gesamt			= 550 µl

Ein Durchgang bestand aus jeweils 10 Teilnehmern der Procort-Studie, die sowohl für die Färbung mit dem Mastermix CD21/27/10 als auch für die Kontrollfärbung verwendet wurden. Anhand von Tab. 8 und Tab. 9 erkennt man, dass die jeweilige Antikörpermenge durch den Multiplikator zwei zusätzliche Röhren ermöglichen würde (in Tab. 8: 12 statt 10 bzw. in Tab. 9: 22 statt 20). Dies dient als Ausgleich für mögliche Pipettierfehler.

### 3.2.4 Auftauen und Vitalitätsprüfung der Proben

Bei jedem Färbungsdurchgang wurden 10 tiefgefrorene Proben langsam aufgetaut.

Um die Vitalität der Zellen zu prüfen, wurden sie zuerst gut resuspendiert und anschließend 50 µl der Proben, 50 µl Trypanblaulösung und 100 µl PBS in ein Röhrchen pipettiert. Sowohl zur Bestimmung der Zellzahl als auch der Vitalität wurde eine Neubauer Zählkammer benutzt. Diese besteht aus einer Grundplatte aus Glas mit zwei erhöhten Seitenstegen und einem speziell vertieften Mittelsteg. Auf diesem befinden sich 4 Großquadrate mit jeweils 16 Kleinquadraten. Nachdem auf diese Grundplatte eine kleine Deckplatte gelegt wurde, pipettierte ich die angefärbte Zellsuspension an den Rand der Glasplatte in der Nähe der Zählfelder. Durch die entstehenden Kapillarkräfte wurde die Suspension unter die Deckplatte gezogen. Anschließend konnte die Zellzahl unter einem Lichtmikroskop gezählt werden. Nachdem Trypanblau bei toten Zellen die Zellwand durchdringen kann, werden diese blau angefärbt. Im Gegensatz hierzu bleiben die lebendigen Zellen davon unberührt und erscheinen unter dem Lichtmikroskop farblos.

### 3.2.5 Extrazelluläre Färbung der PBMCs

Sobald die Proben aufgetaut waren, erfolgte zuerst eine Resuspensierung durch mehrmaliges Einziehen und Ausstoßen der PBMCs mit einer Pipette.

Anschließend wurden je 50 µl PBMC (entspricht einer Zellzahl von  $10^5$  Zellen) in 20 FACS-Röhrchen überführt. Dadurch erhielt man 10 Röhrchen für die Färbung mit beiden Antikörper-Mastermixen für die genauere Zelldifferenzierung innerhalb der B-Zellen (Röhrchen A1 – A10) und 10 Röhrchen für die nur mit CD19-gefärbten Kontrollen (Röhrchen B1 – B10).

In die Röhrchen A1 – A10 wurde jeweils 25 µl des Mastermixes CD21,27,10 und 25 µl Mastermix CD19 pipetiert. Entsprechend erhielt jedes Röhrchen B1 – B10 jeweils 25 µl des Mastermixes CD19 und zum Angleichen des Volumens 25 µl R10.

Damit sich die Proteine der Zelloberflächen gut mit den Antikörpern verbinden konnten, wurden die Röhrchen nach kurzer Vermischung mit einem Vortexer 20 min bei 4°C inkubiert.

Nach der Inkubation erfolgte die Zugabe von 2 ml Formalin (4%), kurze Vermischung mittels eines Vortexers und anschließender Wartezeit von 20 Minuten, damit die Zellen mit den Antikörpern fixiert werden. Dieser Schritt soll Störungen bei der Auswertung mittels Durchflusszytometrie verhindern und zusätzlich die vollständige Inaktivierung des HIV-Virus der infizierten Patientenproben erreichen. Dadurch wurde eine weitere Bearbeitung außerhalb des BSL-3-Labors ermöglicht.

Vor der Auswertung mittels Durchflusszytometrie wurden die Proben zunächst bei 1200 Umdrehungen 5 min zentrifugiert. Währenddessen sammelten sich die Zellen am Boden des Röhrchens und ermöglichten ein Abkippen und Verwerfen der übrigen Flüssigkeit.

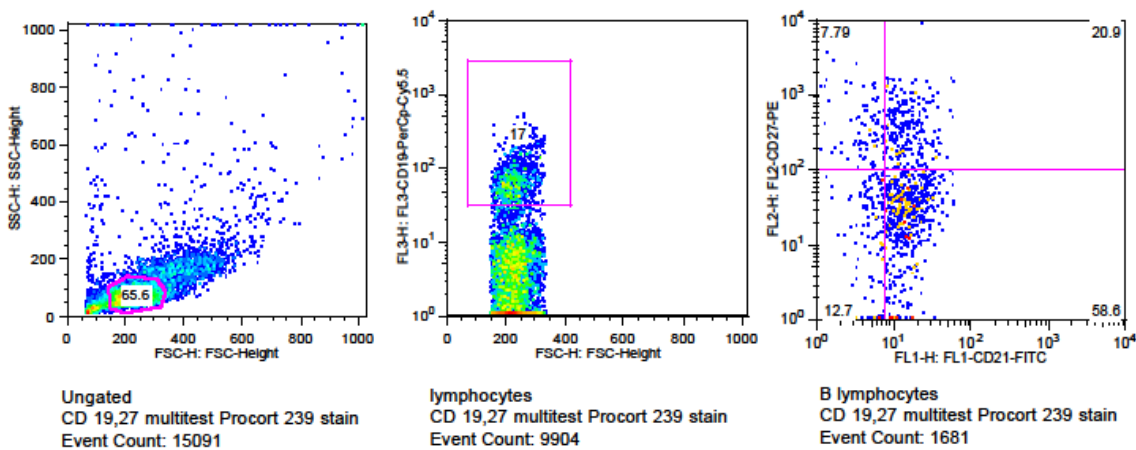
### 3.2.6 Durchflusszytometrie

Wie in Kapitel 3.2.1 beschrieben können Zellen nach der Konjugation mit spezifischen Antikörpern auf unterschiedliche Zellpopulationen aufgeteilt werden. Eine Möglichkeit dies sichtbar zu machen, stellt die Verwendung der Durchflusszytometrie dar. Die Antikörper, die für die Messungen verwendet wurden, waren jeweils an einen Fluoreszenzfarbstoff gebunden. Dieser Farbstoff emittiert nach Bestrahlung mit einem Laser Licht in einer bestimmten Wellenlänge. Das Durchflusszytometer (FACS-Calibur von Becton, Dickinson & Company) saugt die zu untersuchende Zellsuspension über eine dünne Kapillare in den Messungsbereich und detektiert und verarbeitet die Emissionen.

Die Gatingstrategie, die während mehrere Vorversuche erstellt wurde, ist in Abb. 1 dargestellt. Über einen FSC/SCC-Plot (Forward Scatter / Side Scatter) wurde die Lymphozyten-Population aufgrund der charakteristischen Größe und Granularität von Monozyten und Granulozyten unterschieden (Lymphozyten-Gate). Aus diesem Lymphozyten-Gate wurden die Zellen in einem CD19/FSC-Plot analysiert. CD19-positive Ereignisse wurden als B-Zellen definiert (B-

Lymphozyten-Gate). Aus diesem Gate wurden die Zellen in einem CD27/CD21-Plot analysiert. Es wurden folgende Zellreihen definiert:

- Memory-B-Zellen (CD19<sup>+</sup> CD27<sup>+</sup>)
- resting Memory-B-Zellen (CD19<sup>+</sup> CD27<sup>+</sup> CD21<sup>+</sup>)
- activated Memory-B-Zellen (CD19<sup>+</sup> CD27<sup>+</sup> CD21<sup>-</sup>)



**Abb. 1: Gatingstrategie der Durchflusszytometrie**

*Fenster 1: alle gezählten Signale*

*Fenster 2: Lymphozyten-Gate*

*Fenster 3: B-Lymphozyten-Gate durch CD19-Markierung (oberer, rechter Quadrant = resting Memory-B-Zellen; oberer, linker Quadrant = activated Memory-B-Zellen)*

Die Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe der FACS-Software Cell Quest Pro 3 (Becton, Dickinson & Company) und Flow Jo Version 8.8 (FlowJo LLC).

### 3.3 Statistik

Anschließend erfolgte die statistische Auswertung mit dem Programm Prism 6. Die Werte wurden zuerst mit Hilfe des D'Agostino & Pearson-Test auf Normalverteilung überprüft. Bei einem  $p < 0.05$  gelten sie als nicht normalverteilt.

Die Placebogruppe und die Prednisolongruppe sind zwei unabhängige Stichproben, da ich in dieser Arbeit nur Visite zwölf untersucht habe und jeder Patient zwingend nur einer Stichprobe angehört.

Die normalverteilten Werte wurden mit Hilfe eines t-Test nach Student ausgewertet. Die nicht normalverteilten Werte wurden mit einem U-Test nach Mann & Whitney statistisch interpretiert. Statistische Signifikanz lag bei einem p-Wert  $< 0,05$  vor.

### **3.4 Korrelation mit weiteren Befunden aus der Arbeitsgruppe**

Neben den eigenen Messungen standen fremderhobene Daten aus der gleichen Studie bzw. von den gleichen Patienten zur Verfügung. Diese wurden genutzt um die eigenen Ergebnisse damit zu korrelieren. Vor allem mit Hinblick auf die Bedeutung der B-Zellen für die Immunaktivierung wurden diese erweiterten Analysen durchgeführt. Die Arbeitsgruppe stellte dafür die Daten zur Verfügung.

Im Rahmen der Doktorarbeit von Christa Kasang wurde die Medikamentencompliance und die CD4<sup>+</sup> Zellzahl bereits im Bugando Medical Center in Tansania bestimmt. Ferner erfolgte die Bestimmung der Konzentration von suPAR und sCD14 durch sie in Würzburg (Kasang et al., 2016).

Die Ergebnisse aus der Doktorarbeit von Nadja Aeverbeck zur Feststellung der CD38<sup>+</sup> HLADR<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T-Zellen wurden entsprechend der in meiner Arbeit beschriebenen Methodik mittels Durchflusszytometrie (siehe Kap. 3.2.6) bestimmt (voraussichtliches Abgabedatum 2019).

## **4 Ergebnisse**

### **4.1 Stichprobenbeschreibung**

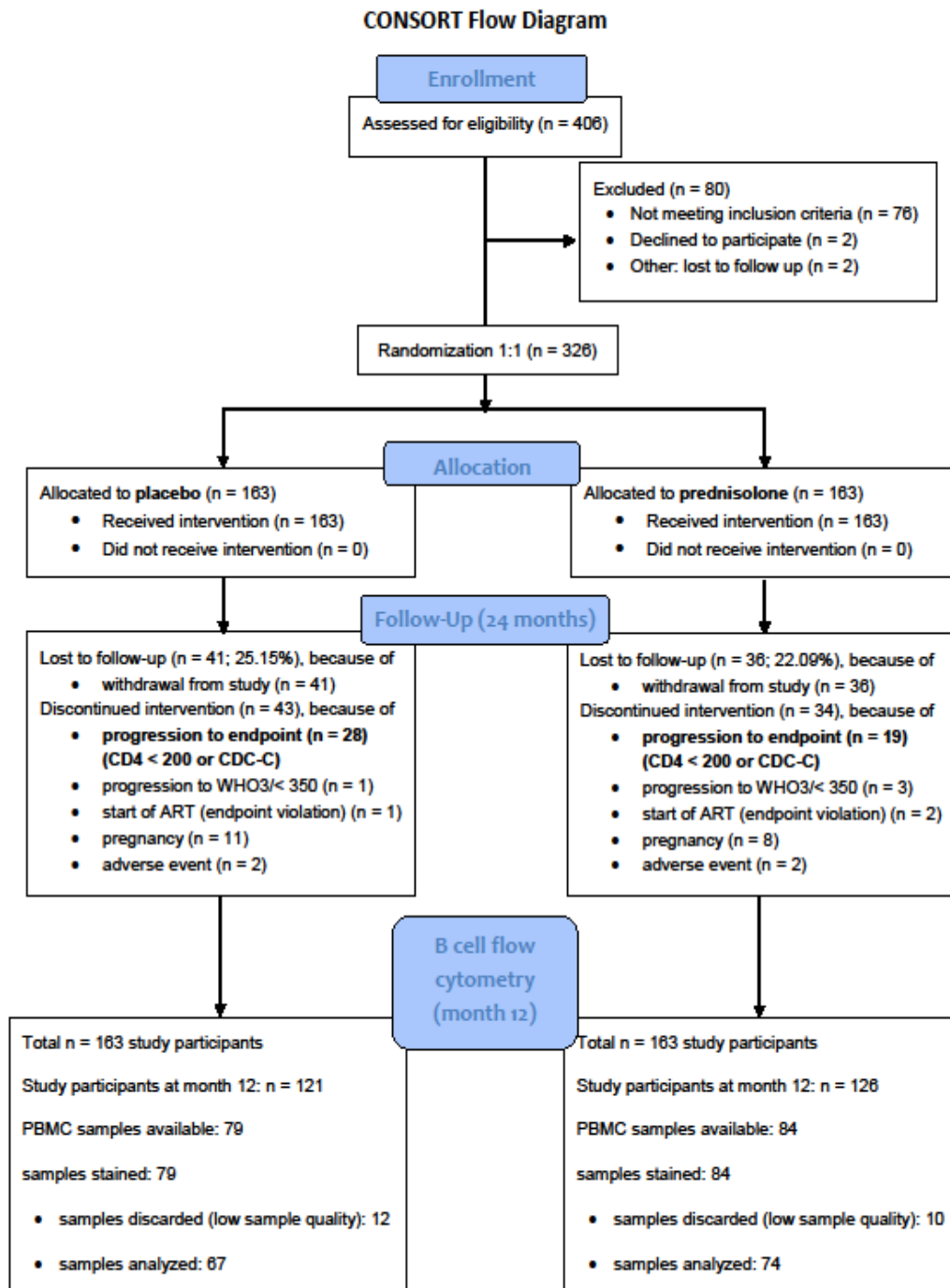
Die PBMCs entstammen ausschließlich der Visite 8 (12. Monat) aus der ProCort-Studie (siehe Kap. 1.6). Hierbei handelt es sich um PBMCs von HIV-infizierten Patienten, die entweder mit Prednisolon oder Placebo behandelt wurden. Die Proben waren bei -140°C tiefgefroren gelagert.

In der Prednisolon-Gruppe konnten von den initialen 163 Studienteilnehmern 126 im Monat 12 visitiert werden. Davon waren 84 Proben für die Labormessungen vorhanden. Aufgrund von mangelnder Probenqualität wurden 10 Proben aussortiert, was eine Gesamtzahl der auswertbaren Proben von 74 ergab. Hierbei betrug die Anzahl der Frauen 59 (80%) und die Anzahl der Männer 15 (20%). Weiterhin war die Prednisolondosis bei den Frauen 81,9 µg/kg Körpergewicht und 80,7 µg/kg Körpergewicht bei den Männern. Die Männer haben demnach 1,5% weniger Prednisolon entsprechend ihres Gewichts bekommen.

Von den insgesamt 163 Studienteilnehmern der Placebo-Gruppe waren es in dieser Gruppe 121 Teilnehmer bei Visite 8. Von diesen waren 79 PBMCs vorhanden und wurden gefärbt. Nach dem Abzug von 12 Proben, die nicht ausgewertet werden konnten, wurden letztendlich 67 PBMCs ausgewertet. Davon waren 56 Proben weiblich (84%) und 11 Proben männlich (16%).

Einen zusammenfassenden Überblick geben Abb. 2 und Tab. 10.

# Ergebnisse



**Abb. 2: Consort-Flow-Diagramm**

Überblick der Patienten im Studienverlauf und deren Auswertung im 12. Monat

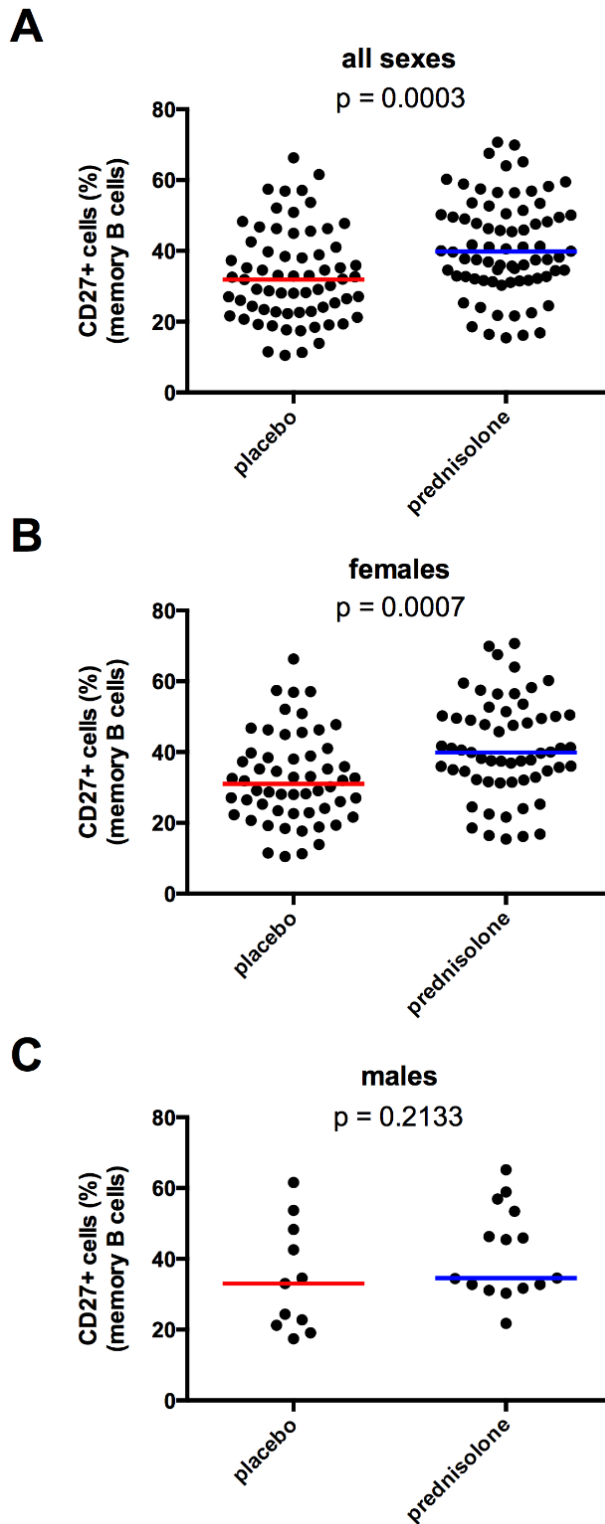


**Tab. 10: Geschlechterverteilung der ausgewerteten Studienteilnehmer**

	Prednisolon	Placebo	
Frauen	59	56	115
Männer	15	11	26
	74	67	

#### **4.2 Veränderungen der B-Zell-Subpopulationen**

In Abb. 3 sieht man, dass die HIV-infizierten Patienten, die mit Prednisolon behandelt wurden, einen größeren Anteil an Memory-B-Zellen aufweisen als die Placebo-Gruppe (Mean 41,13 [95% CI 38,01 – 44,25] vs. 32,81 [29,64 – 35,98],  $p = 0,0003$  (unpaired T-Test nach Student für normalverteilte Werte)). Während dieses Ergebnis auch bei den Frauen signifikant ist ( $p = 0,0007$ ), war der Unterschied bei den Männern nicht signifikant ( $p = 0,2133$ ).

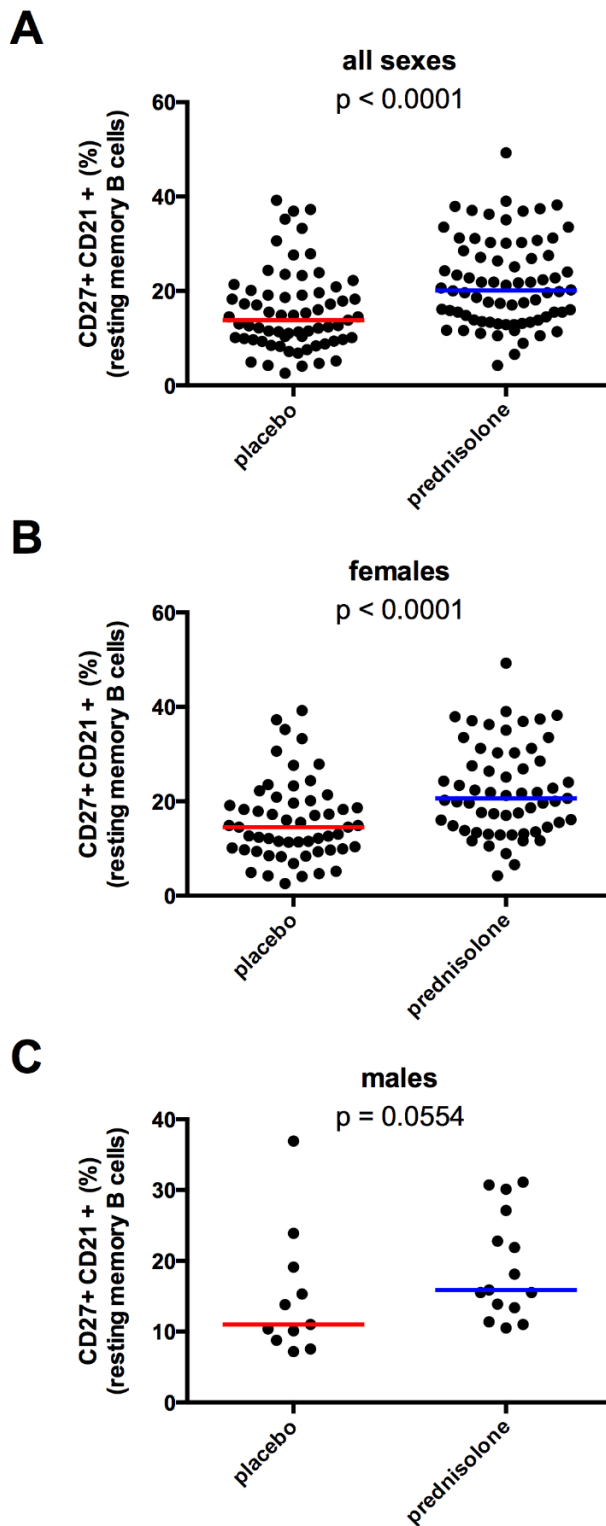


**Abb. 3:** Anteil der CD27<sup>+</sup> Memory-B-Zellen

A, B, C: Anteil der CD27<sup>+</sup> Memory-B-Zellen sowohl in der Placebo- (rot) als auch der Prednisolon-Gruppe (blau) bei allen Geschlechtern (A), Frauen (B) und Männern (C)

## Ergebnisse

Dieser Anstieg des Anteils der Memory-B-Zellen in der Prednisolon-Gruppe (siehe Abb. 3) wird insbesondere durch den Anstieg der resting Memory-B-Zellen hervorgerufen. In Abb. 4 wird der statistisch signifikante Anstieg bei beiden Geschlechtern (Median 20,10 [95% CI 19,57 – 23,86] vs. 13,80 [13,61 – 17,77],  $p < 0,0001$  (U-Test nach Mann & Whitney für nicht-normalverteilte Werte)) und bei den Frauen (Median 20,60 [95% CI 19,83 – 24,85] vs. 14,50 [13,56 – 18,13]  $p < 0,0001$  (U-Test nach Mann & Whitney für nicht-normalverteilte Werte)) deutlich. Die Männer verfehlen hier knapp einen signifikanten Anstieg ( $p = 0,0554$ ).

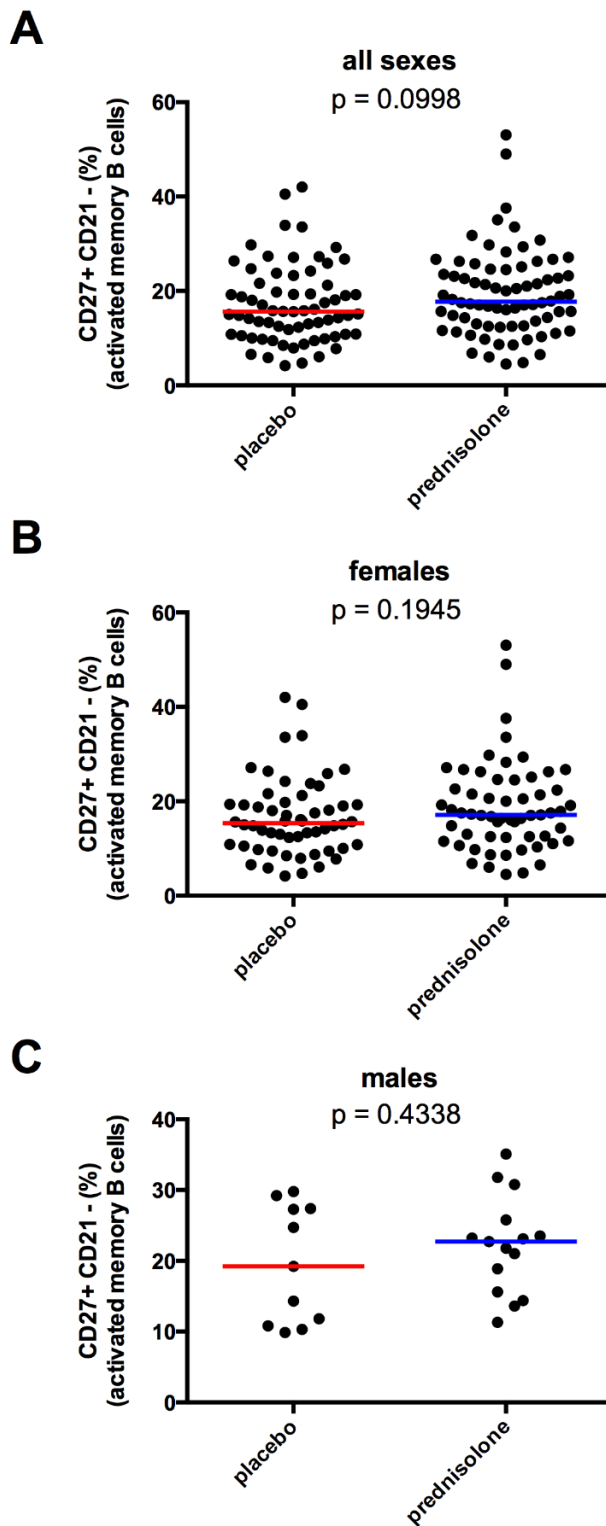


**Abb. 4:** Anteil der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>+</sup> resting Memory-B-Zellen

A, B, C: Anteil der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>+</sup> resting Memory-B-Zellen sowohl in der Placebo- (rot) als auch der Prednisolon-Gruppe (blau) bei allen Geschlechtern (A), Frauen (B) und Männern (C)

## Ergebnisse

Beim Blick auf die activated Memory-B-Zellen (siehe Abb. 5) zeigte sich weder ein großer Unterschied zwischen der Prednisolon- und der Placebogruppe bei allen Geschlechtern (Median 17,70 [95% CI 17,31 – 21,53] vs. 15,60 [15,10 – 19,14] (U-Test nach Mann & Whitney für nicht-normalverteilte Werte)), noch war dieser statistisch signifikant ( $p = 0,0998$ ). Dementsprechend waren auch die geschlechtergetrennten Ergebnisse nicht aussagekräftig.



**Abb. 5:** Anteil der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>-</sup> activated Memory-B-Zellen

A, B, C: Anteil der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>-</sup> activated Memory-B-Zellen sowohl in der Placebo- (rot) als auch der Prednisolon-Gruppe (blau) bei allen Geschlechtern (A), Frauen (B) und Männern (C)

### **4.3 Korrelation mit Fremddaten aus der gleichen Studie**

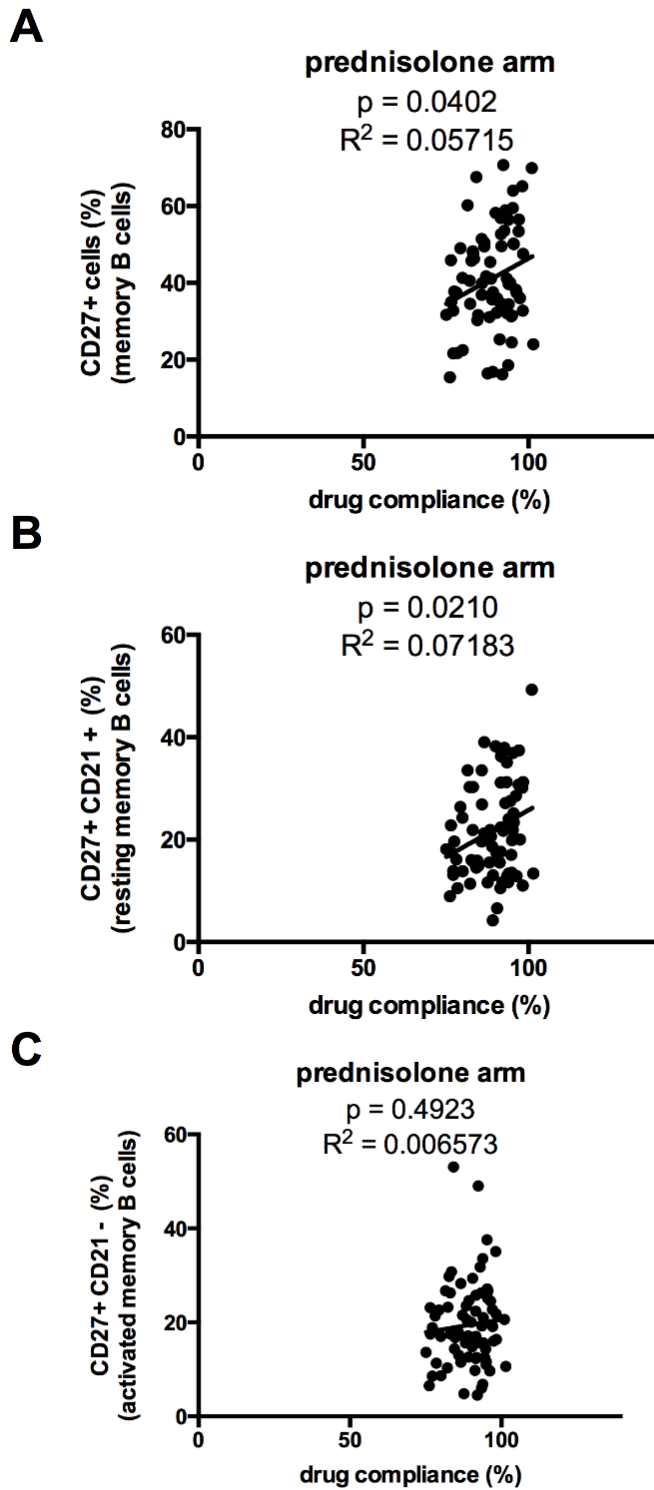
Um spezifische Aussagen bezüglich der Veränderungen der B-Zellen und deren Einfluss auf die Immunaktivierung treffen zu können, wurden meine Ergebnisse mit bereits publizierten und zuvor erhobenen Daten aus der gleichen Studie korreliert. Somit konnten die Veränderungen während der Prednisolongabe anhand mehrerer Parameter derselben Patienten analysiert werden.

#### **4.3.1 Korrelation zur Medikamentencompliance**

Nachdem die erwünschte Wirkung eines Medikaments von der Compliance des Patienten abhängt, wurden die laborchemischen Ergebnisse auch mit der Medikamentencompliance der Teilnehmer korreliert. Die Compliance wurde durch die Anzahl der Medikamente, die die Patienten zurückgebracht und somit nicht eingenommen hatten, berechnet. Wie in Abb. 6 ersichtlich zeigte sich eine signifikante, positive Korrelation sowohl der Memory-B-Zellen ( $p = 0,0402$ , lineare Regression) als auch der resting Memory-B-Zellen ( $p = 0,0210$ , lineare Regression) mit der Medikamentencompliance.

Die Daten der Medikamentencompliance stammen aus der Doktorarbeit von C. Kasang (2012) und wurden mit den eigens gemessenen Zellparametern korreliert.

Die positive Korrelation zwischen der Memory-B-Zellzahl bzw. der Zahl der resting Memory-B-Zellen und der Medikamentencompliance deutet auf eine Dosis-Wirkungs-Beziehung hin.



**Abb. 6:** *Positive Korrelation zwischen dem Anteil der B-Zell-Subpopulationen und der Medikamentencompliance in der Prednisolon-Gruppe*

*A, B, C: Korrelation zwischen dem Anteil der CD27<sup>+</sup> Memory-B-Zellen (A), der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>+</sup> resting Memory-B-Zellen (B), der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>-</sup> activated Memory-B-Zellen (C) und der Medikamentencompliance*



## Ergebnisse

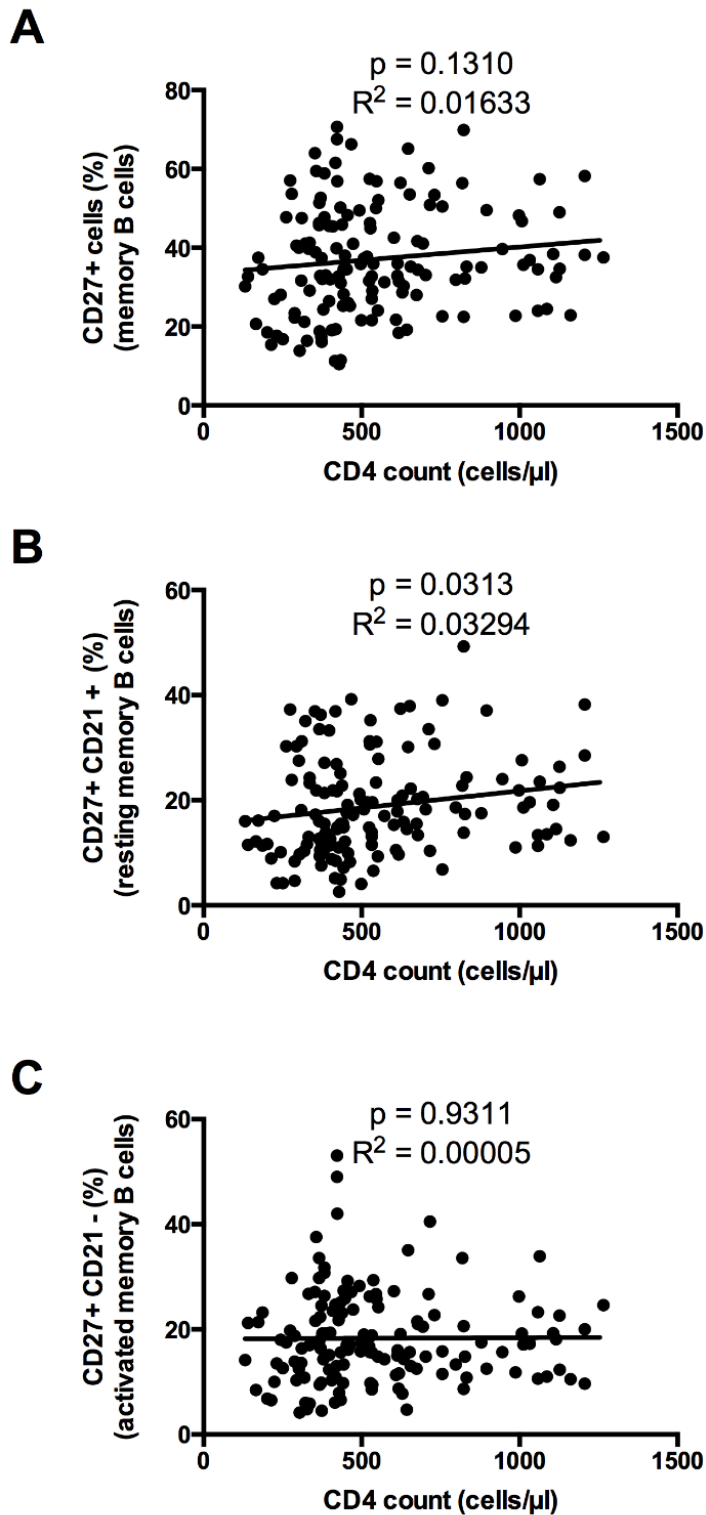
Alle folgenden Abbildungen des Ergebnisteils wurden ausschließlichs aus Werten der Prednisolon-Gruppe erstellt, um den Einfluss des Medikaments auf die jeweilige Zellreihe bzw. den Immunaktivierungsmarker zu beobachten.

### 4.3.2 Korrelation mit T-Zellen

Anhand der Korrelation der B-Zellreihen mit der T-Zellzahl ist erkennbar, dass die Anzahl der resting Memory-B-Zellen bei steigender T-Zellzahl auch signifikant anstieg ( $p = 0,0313$ , lineare Regression).

Die Memory-B-Zellen bzw. activated Memory-B-Zellen zeigten in Korrelation mit der T-Zellzahl kein signifikantes Ergebnis ( $p = 0,1310$  bzw.  $p = 0,9311$ ).

Die Daten der CD4<sup>+</sup>-Zellzahl stammen aus der Doktorarbeit von C. Kasang (2012) und wurden bereits im Bugando Medical Center in Mwanza, Tansania bestimmt.



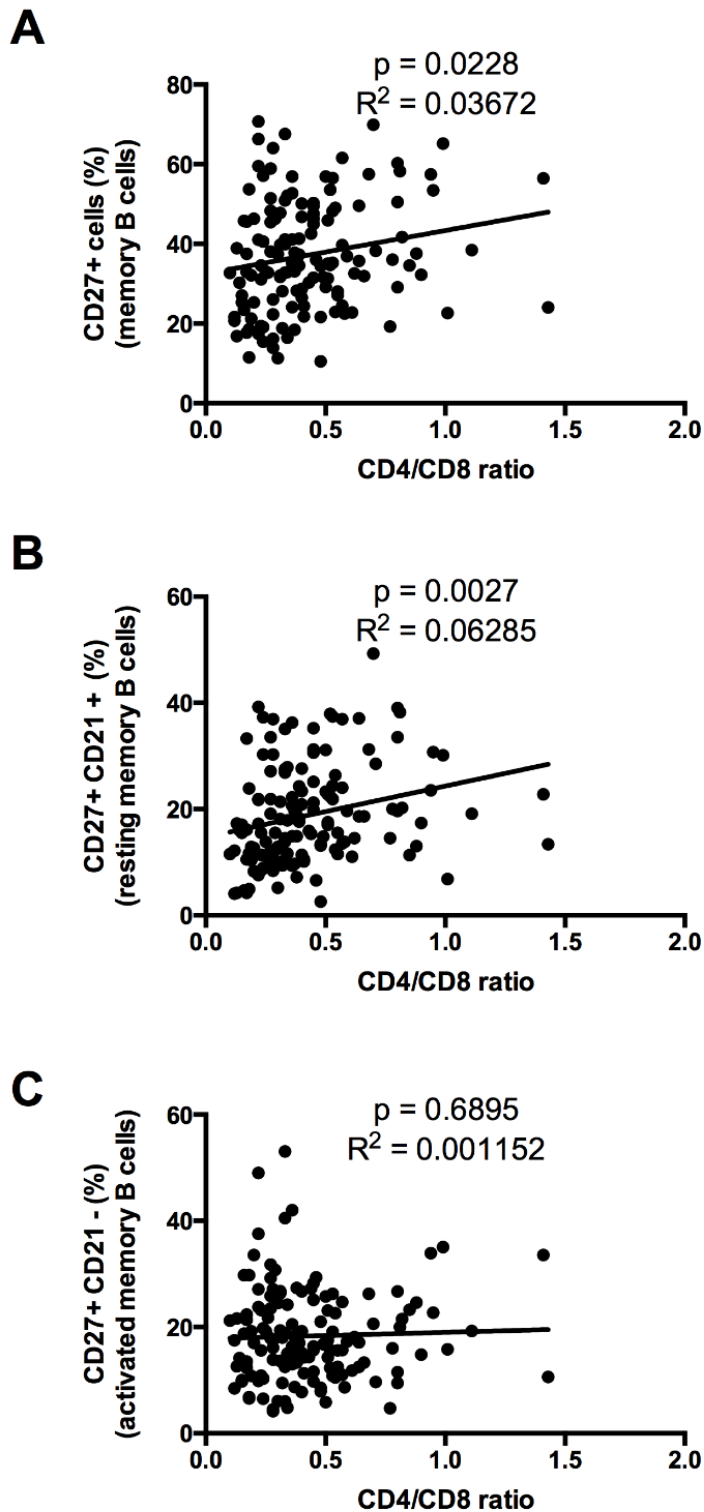
**Abb. 7:** *Korrelation zwischen dem Anteil der B-Zell-Subpopulationen und der CD4<sup>+</sup>-Zellzahl in der Prednisolon-Gruppe*

*A, B, C: Korrelation zwischen dem Anteil der CD27<sup>+</sup> Memory-B-Zellen (A), der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>+</sup> resting Memory-B-Zellen (B), der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>-</sup> activated Memory-B-Zellen (C) und der CD4<sup>+</sup>-Zellzahl*

## Ergebnisse

In Abb. 8 ist eine signifikant positive Korrelation zwischen den Memory-B-Zellen ( $p = 0,0228$ , lineare Regression) bzw. den resting Memory-B-Zellen ( $p = 0,0027$ , lineare Regression) und der  $CD4^+/CD8^+$ -Ratio festzustellen.

Die Daten der  $CD4^+/CD8^+$ -Ratio stammen aus der Doktorarbeit von C. Kasang (2012).



**Abb. 8:** *Korrelation zwischen dem Anteil der B-Zell-Subpopulationen und der CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-Ratio in der Prednisolon-Gruppe*

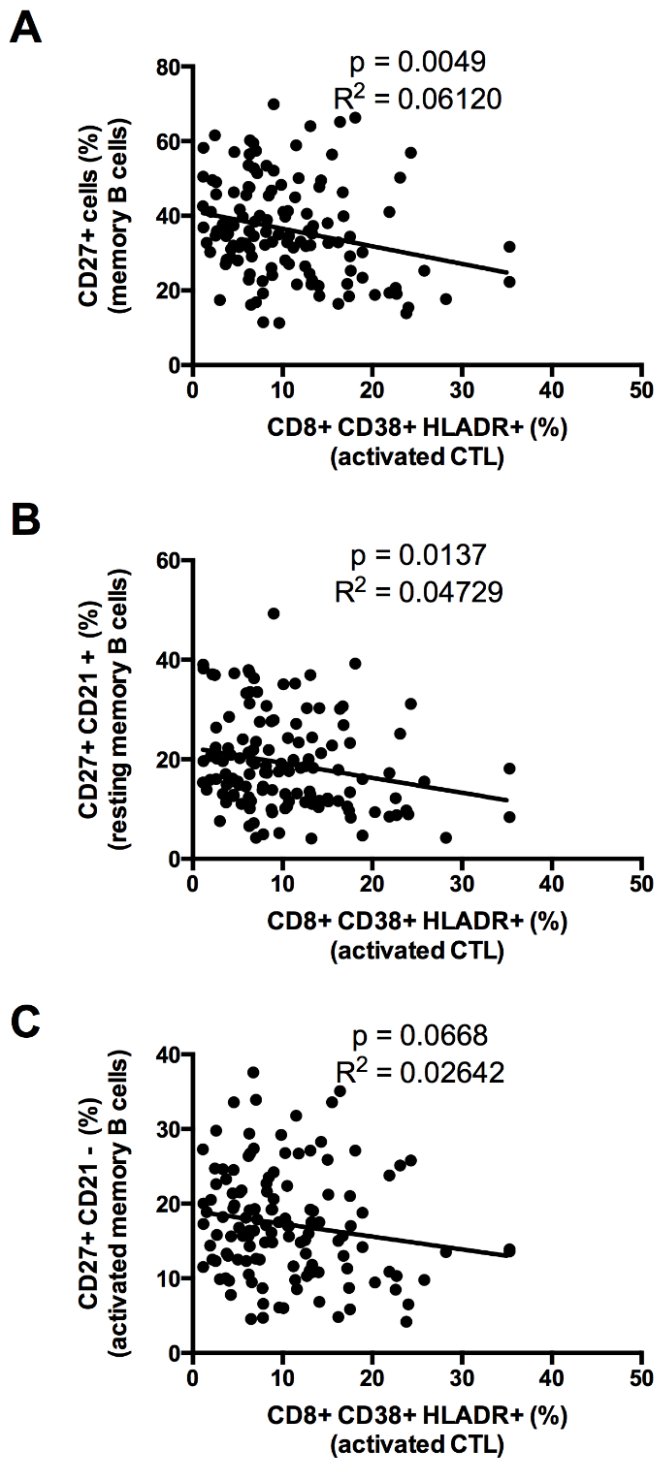
*A, B, C: Korrelation zwischen dem Anteil der CD27<sup>+</sup> Memory-B-Zellen (A), der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>+</sup> resting Memory-B-Zellen (B), der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>-</sup> activated Memory-B-Zellen (C) und der CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-Ratio*

### 4.3.3 Immunaktivierung

Als nächstes wurde die Immunaktivierung anhand unterschiedlicher Parameter bestimmt.

Nachdem  $CD38^+ HLADR^+ CD8^+$  T-Zellen eine Immunaktivierung des T-Zellkompartiments anzeigen, wurden diese mit unterschiedlichen B-Zellpopulationen korreliert, um die Immunaktivierung genauer zu untersuchen. Hierbei wurden signifikant sinkende Memory-B-Zellzahlen ( $p = 0,0049$ , lineare Regression) bzw resting Memory-B-Zellzahlen ( $p = 0,0137$ , lineare Regression) bei steigender Zahl der  $CD38^+ HLADR^+ CD8^+$  T-Zellen festgestellt.

Die Daten der  $CD38^+ HLADR^+ CD8^+$  T-Zellen stammen aus der Doktorarbeit von Nadja Aeverbeck (voraussichtliches Abgabedatum 2019)



**Abb. 9:** **Negative Korrelation zwischen dem Anteil der B-Zell-Subpopulationen und der CD8<sup>+</sup>/CD38<sup>+</sup>/HLADR<sup>+</sup> activated CTL**

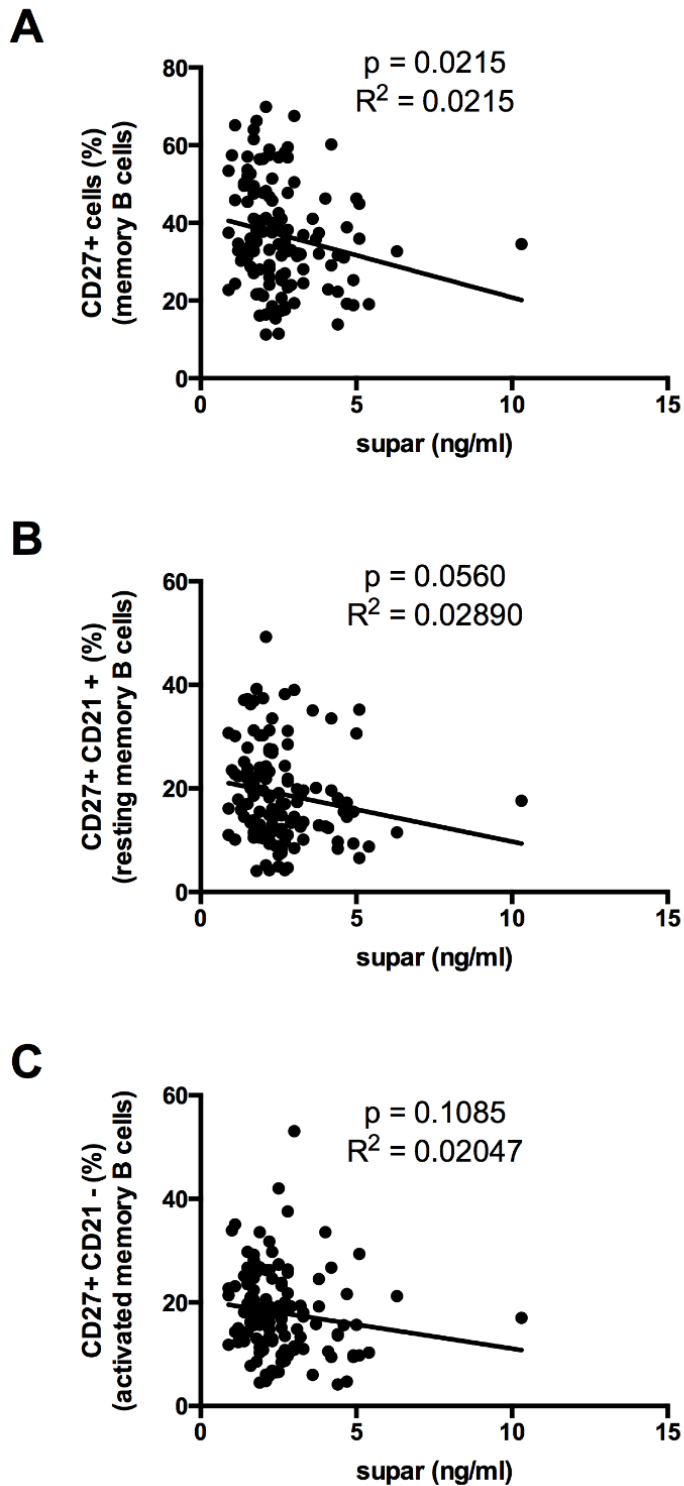
A, B, C: Korrelation zwischen dem Anteil der CD27<sup>+</sup> Memory-B-Zellen (A), der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>+</sup> resting Memory-B-Zellen (B), der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>-</sup> activated Memory-B-Zellen (C) und dem Anteil der zytotoxischen T-Lymphozyten

CTL = cytotoxic T lymphocytes (zytotoxische T-Lymphozyten)

## Ergebnisse

Zur weiteren Betrachtung der Immunaktivierung im B-Zell-Kompartiment wurden die suPAR-Konzentrationen aus den Daten der Doktorarbeit von C. Kasang (2012) verwendet. Hierbei konnte entsprechend der CD38<sup>+</sup> HLADR<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T-Zellen gezeigt werden, dass sowohl die Memory-B-Zellen ( $p = 0,0215$ , lineare Regression) als auch die resting Memory-B-Zellen ( $p = 0,0560$ , lineare Regression) steigen, wenn die Konzentration von suPAR sinkt.

## Ergebnisse



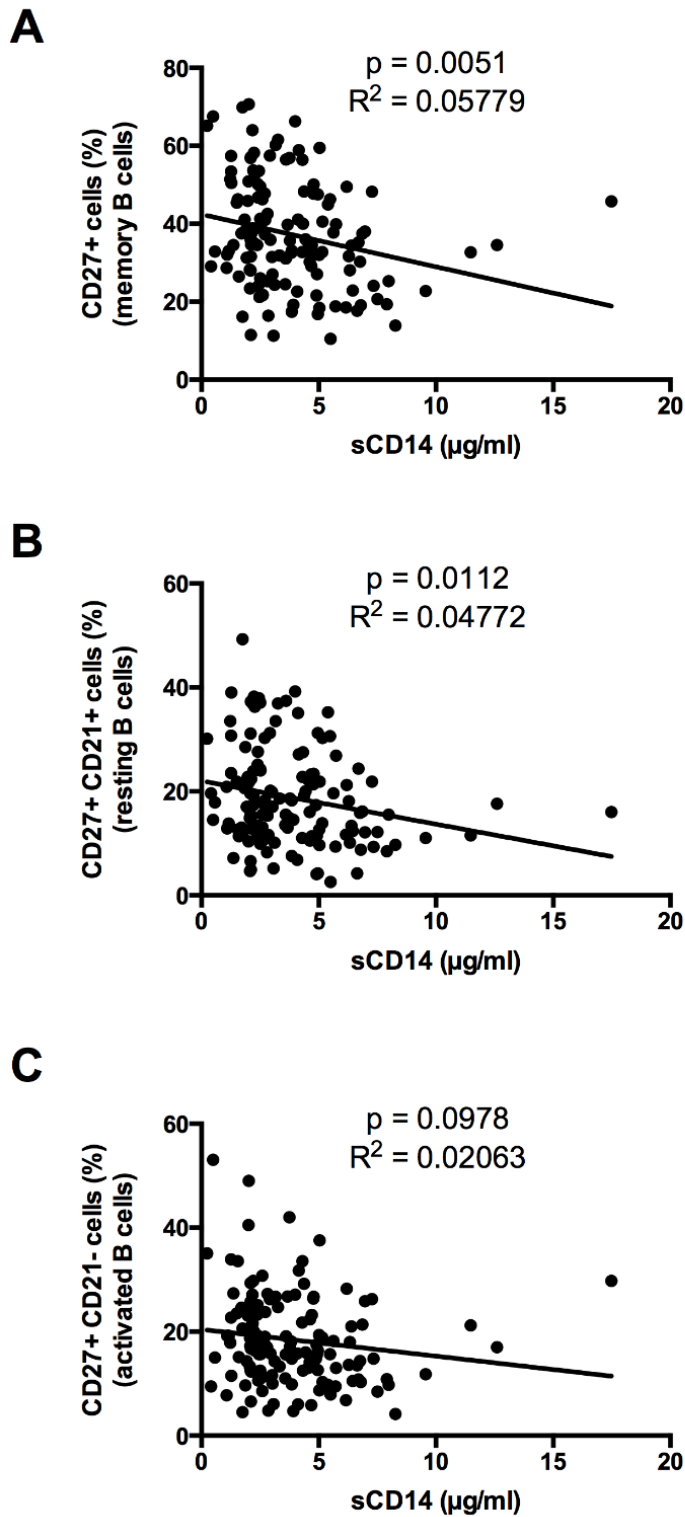
**Abb. 10:** **Korrelation zwischen dem Anteil der B-Zell-Subpopulationen und der Konzentration von suPAR**

A, B, C: Korrelation zwischen dem Anteil der CD27<sup>+</sup> Memory-B-Zellen (A), der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>+</sup> resting Memory-B-Zellen (B), der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>-</sup> activated Memory-B-Zellen (C) und der Konzentration von suPAR  
suPAR = soluble urokinase-type plasminogen activator receptor



## Ergebnisse

Als letzter Parameter zur Untersuchung der Immunaktivierung wurde sCD14 und dessen Verhältnis zu unterschiedlichen B-Zellgruppen untersucht. Die Werte der sCD14-Konzentrationen stammen aus der Doktorarbeit von C. Kasang (2012). Auch hier konnte die Tendenz gezeigt werden, dass sowohl die Memory-B-Zellen ( $p = 0,0051$ , lineare Regression) als auch die resting Memory-B-Zellen ( $p = 0,0112$ , lineare Regression) in größerer Zahl vorliegen, wenn der Immunaktivierungsmarker sCD14 in geringer Konzentration vorliegt.



**Abb. 11:** *Negative Korrelation zwischen dem Anteil der B-Zell-Subpopulationen und der Konzentration von sCD14*

*A, B, C: Korrelation zwischen dem Anteil der CD27<sup>+</sup> Memory-B-Zellen (A), der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>+</sup> resting Memory-B-Zellen (B), der CD27<sup>+</sup> CD21<sup>-</sup> activated Memory-B-Zellen (C) und der Konzentration von sCD14*

### 4.3.4 Krankheitsprogression

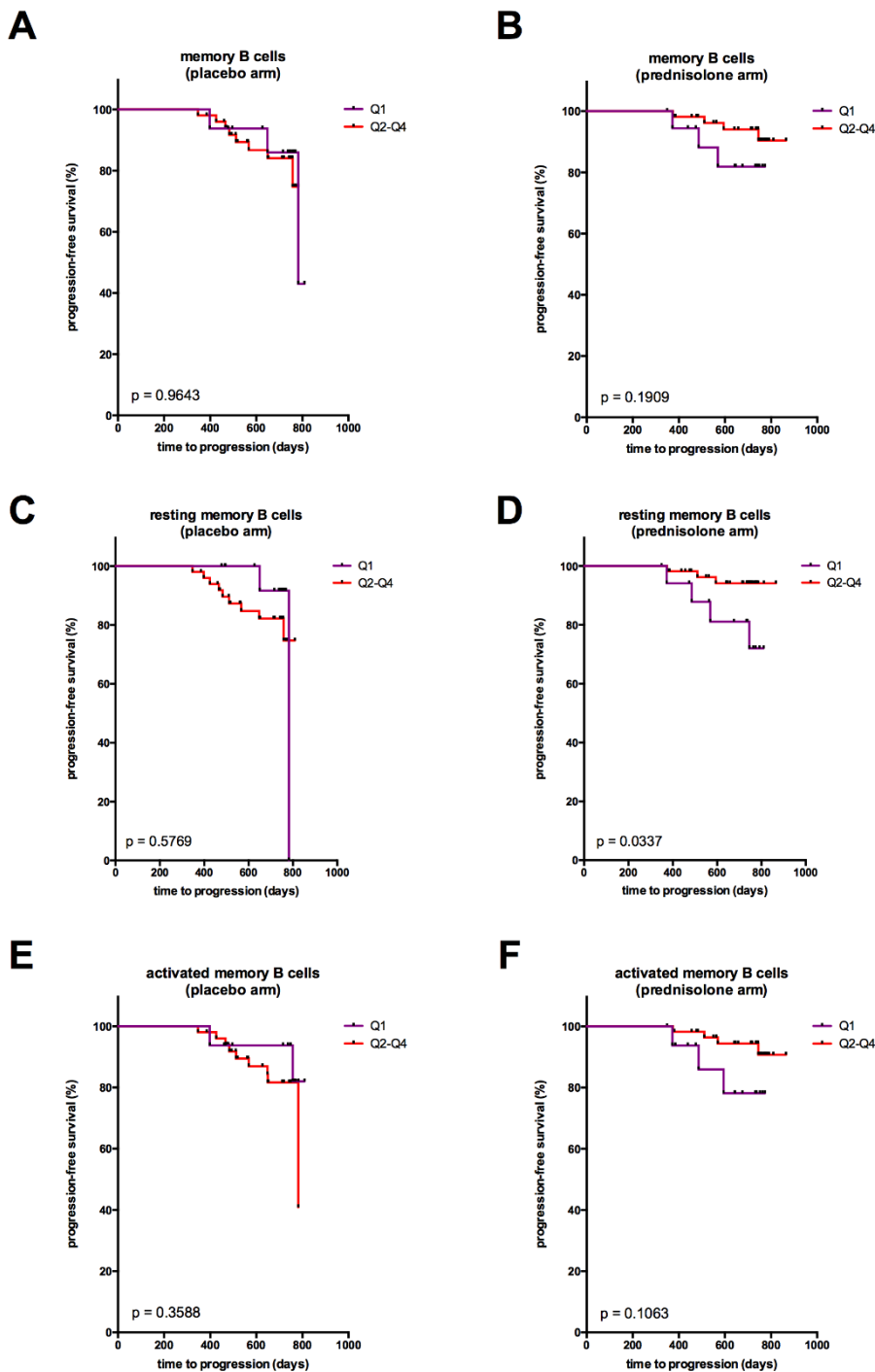
Abb. 12 soll die Zeit bis zur Krankheitsprogression hin zum Studienendpunkt bezüglich der drei untersuchten B-Zellreihen zeigen. Bei Betrachtung der p-Werte sieht man, dass die Unterschiede zwischen den beiden Graphen der jeweiligen Abbildung meist nicht signifikant sind.

Der lilafarbene Verlauf (Q1) zeigt das Viertel mit den niedrigsten Messwerten der jeweiligen Zellgruppe. Anhand des roten Verlaufs (Q2 - Q4) stellen sich die drei Viertel mit den größeren Zellzahlen dar.

Grafik D erreicht als einzige Grafik statistische Signifikanz ( $p = 0,0337$ ) und zeigt, dass eine reduzierte Anzahl von resting Memory-B-Zellen (Q1) mit einer schnelleren Progression korreliert.

Die Daten der Krankheitsprogression stammen aus der Doktorarbeit von C. Kasang (2012).

# Ergebnisse



**Abb. 12: Krankheitsprogression (Kaplan Meier)**

Progressionszeit zum Studienendpunkt bei Memory-B-Zellen (A + B), resting Memory-B-Zellen (C + D) und activated Memory-B-Zellen (E + F) im Vergleich zwischen der Placebo- (A + C + E) und der Prednisolon-Gruppe (B + D + F)  
 Q1 = Viertel mit den niedrigsten Messwerten der jeweiligen Zellpopulation (lila)  
 Q2-4 = restliche drei Viertel aller Messwerte der jeweiligen Zellpopulation (rot)

## **5 Diskussion**

Bei der globalen Betrachtung der HIV-Infektion zeigt sich, dass Afrika die größte Last zu tragen hat. Deutlich wird das mit der Tatsache, dass im Jahr 2016 70,1% aller Erkrankten weltweit in Afrika lebten (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 2017a). Die meist betroffene Region innerhalb Afrikas ist Subsahara-Afrika, in der die Rate der Neuinfektionen mit 1,5 pro 1000 Menschen deutlich über der weltweiten Rate von 0,3 liegt (United Nations - Economic and Social Council, 2017). Des Weiteren zeigt die medizinische Versorgungssituation die prekäre Lage Afrikas. Während dort im Jahr 2016 nur 53,8% der Infizierten mit ART versorgt waren, erhielten in West-, Zentraleuropa und Nordamerika 81% ART (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 2017a). Die Bewältigung dieser Aufgabe wird zusätzlich durch dramatische sozioökonomische Grundvoraussetzungen dieser Länder erschwert. Tansania hat mit 0,022 Ärzten pro 1000 Einwohner eine der schlechtesten Arzt-zu-Patienten-Verhältnisse der Welt (World Health Organization (WHO), 2014). Deutschland liegt im Vergleich hierzu bei 4,191 Ärzten pro 1000 Einwohner. Weiterhin ist das HIV-Programm des Landes zu 97,5% von ausländischer Finanzierung abhängig. Zudem wurde der Anteil der inländischen Gelder für den Gesundheitssektor von der Regierung Tansanias von 13% in den Jahren 2006/2007 auf 6% in den Jahren 2013/2014 reduziert (PEPFAR (The US President's Emergency Plan For AIDS Relief), 2015, AVERT, 2018).

Diese Beobachtungen führten zu Überlegungen bezüglich einer Therapieoptimierung der etablierten ART durch eine Kombination mit weiteren Medikamenten.

Ein wesentlicher Schwerpunkt aktueller HIV-Forschung liegt auf der Immunaktivierung. Nachdem Prednisolon immunmodulatorische Wirkungen hat und bereits im Rahmen zahlreicher Therapien etabliert ist, waren Überlegungen Prednisolon als Therapieoption im Rahmen von HIV/AIDS einzusetzen, naheliegend. Mit Blick auf die soeben erwähnten ökonomischen Hürden für die therapeutische Versorgung in Afrika ist auch der günstige Preis von Prednisolon, das seit Jahrzehnten verfügbar ist, anzuführen.

Bereits im Jahr 1995 stellten Andrieu et al. fest, dass bei HIV-Patienten 0,5 mg/kg KG über 6 Monate und anschließend 0,3 mg/kg KG nach einem Jahr zu einem CD4<sup>+</sup>-Zellzahlanstieg von 119/ $\mu$ l führte (Andrieu et al., 1995). Dieser Effekt wurde auch durch Ergebnisse von Wallis et al. unterstützt, die nach der Gabe von 40 mg/Tag über 8 Wochen gefolgt von 20 mg/Tag über 4 Wochen bei gleichzeitiger Gabe von ART einen CD4<sup>+</sup>-Zellanstieg >40% beschrieben haben (Wallis et al., 2003). Eine weitere, wesentliche Grundlage der ProCort-Studie war die Arbeit von Ulmer et al.. Die Autoren beschrieben im Rahmen einer sechsmonatigen Prednisolontherapie einen Anstieg der CD4<sup>+</sup>-Zellzahl nach drei Jahren um 50,1/ $\mu$ l (Ulmer et al., 2005a). Neben diesen Studien, die hauptsächlich die Veränderungen auf zellulärer Ebene dokumentierten, beschäftigten sich Hapgood und Tomasicchio mit dem Glukokortikoidrezeptor und den molekularen Mechanismen der HIV-Pathogenese (Hapgood and Tomasicchio, 2010). Bei der aktuellen Arbeit lag der Schwerpunkt auf B-Zellen, Immunaktivierung und deren Zusammenspiel.

### **5.1 B-Zellveränderungen und Immunaktivierung**

Um die Veränderungen im B-Zellkompartiment, deren Einfluss auf die Immunaktivierung und weitere Marker der Immunaktivierung zu untersuchen, wurde in dieser Studie eine Gruppe mit Prednisolon behandelter HIV-Infizierter (74 Patienten) mit einer Placebo-Gruppe (67 Patienten) verglichen.

Wie in Abb. 3 zu sehen ist, führte die Gabe von 5 mg Prednisolon im Vergleich zur Placebogruppe zu höheren Memory-B-Zellen (Mean 41,13 vs. 32,81,  $p = 0,0003$ ), was insbesondere durch die größere Anzahl der resting Memory-B-Zellen (Median 20,10 vs. 13,80,  $p < 0,0001$ ) (siehe Abb. 4) bedingt war. Diese Ergebnisse legen einen positive Einfluss durch die Medikation hin zu normalen Konzentrationen von Memory-B-Zellen bzw. resting Memory-B-Zellen nahe. Diese Subpopulationen repräsentieren bei Gesunden die größten Anteile der B-Zellen (Moir and Fauci, 2009) und fallen im Rahmen der HIV-Infektion ab. De Milito et al. stellten 2001 einen Anteil der Memory-B-Zellen von 11,9% aller B-Zellen bei Erkrankten im Vergleich zu 19% bei Patienten ohne AIDS fest ( $p < 0,001$ ) (De Milito et al., 2001). Nachdem die Baseline-Proben (Proben vor

## Diskussion

Therapiebeginn) der ProCort-Studie nicht verfügbar waren, waren Verlaufsuntersuchungen nicht möglich (siehe Kap. 5.6). Hinsichtlich weiterer Studien wäre allerdings speziell der Verlauf der Memory-B-Zellen unter weiteren Therapieoptionen/-ergänzungen wie das hier verwendete Prednisolon interessant, da diese Subpopulation selbst unter ART sich nicht vollständig normalisiert (De Milito et al., 2001, Moir et al., 2008b). Dass die verminderte Anzahl der Memory-B-Zellen klinische Auswirkungen hat, zeigten Titanji et al. am Beispiel von viralen und bakteriellen Infektionen bei HIV-infizierten Patienten. Sie wiesen erniedrigte Antikörperkonzentrationen gegen Masern und *Pneumococcus pneumoniae* und eine positive Korrelation derer mit den Memory-B-Zellen bei chronisch HIV-Infizierten nach (Titanji et al., 2006, Amu et al., 2013).

Weiterhin zeigten sowohl die CD4<sup>+</sup>-Zellen als auch die CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-Ratio eine positive Korrelation mit den resting Memory-B-Zellen ( $p = 0,0313$  bzw.  $p = 0,0027$ ), die CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-Ratio zusätzlich mit den Memory-B-Zellen ( $p = 0,0228$ ). Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen von Titanji et al. ( $r = 0,43$ ,  $p < 0,001$ ) und deuten darauf hin, dass resting Memory-B-Zellen möglicherweise ein Marker der Krankheitsprogression sein können (Titanji et al., 2006).

Beim Blick auf die Korrelation zwischen der Konzentration von suPAR und den B-Zellpopulationen zeigte sich, dass die suPAR-Konzentration ansteigt, wenn die Memory-B-Zellen und die resting Memory-B-Zellen abfallen (siehe Abb. 10). Diese Beobachtung deckt sich mit der Tatsache, dass im Rahmen der HIV-Infektion die suPAR-Konzentration bei untherapierten Patienten im Vergleich zu Patienten unter ART 17-fach erhöht ist ( $p < 0,001$ ) (Langkilde et al., 2012). Gleichzeitig sind die Memory-B-Zellen und die resting Memory-B-Zellen gesenkt (Amu et al., 2013). Umgekehrt wurde ebenso festgestellt, dass unter ART die suPAR-Konzentration um 1%/Jahr ( $p = 0,006$ ) abfällt (Langkilde et al., 2012) und die Memory-B-Zellen bzw. die resting Memory-B-Zellen wieder ansteigen (Moir et al., 2010, Tanko et al., 2017). Wie in Kapitel 1.5.2 beschrieben, führt die

## Diskussion

langfristige Einnahme von ART zu einer Zunahme des relativen Risikos (RR) für Herzinfarkt innerhalb der ersten vier bis fünf Jahre nach ART-Beginn um 26% ( $p < 0,001$ ) (Friis-Moller et al., 2003, El-Sadr et al., 2006). Wenn man berücksichtigt, dass laut Rasmussen et al. das Risiko für einen Herzinfarkt bei einem Anstieg der suPAR-Konzentration von 1 ng/ml ein Jahr vor dem Herzinfarkt um 29% ( $p < 0,05$ ) erhöht ist, könnte der Biomarker eine Rolle für die Früherkennung und folgende präventive Interventionen einnehmen (Rasmussen et al., 2016). Neben dem genannten kardiovaskulären Risiko erhöhen gesteigerte suPAR-Konzentrationen auch die Hazardrate von chronischen Nieren- und Lungenerkrankungen, Lebererkrankungen und Krebs und führen bei einem Anstieg der suPAR-Konzentration um 1 ng/ml zu einem Anstieg der Mortalität um 23% (Kirkegaard-Klitbo et al., 2017).

Die festgestellte negative Korrelation zwischen der niedrigen resting Memory-B-Zellzahl und der hohen sCD14-Konzentration steht im Einklang mit der Aussage von Sandler et al., dass gesteigerte Konzentrationen von sCD14 eine hohe Immunaktivierung widerspiegeln (Sandler et al., 2011). Diese hat die Abnahme der resting Memory-B-Zellen zur Folge (Amu et al., 2013).

Um die Veränderungen der B-Zellen unter dem Einfluss von Prednisolon genauer einzuordnen zu können, wurde die Literatur zu andere Anwendungsgebiete von Glukokortikoiden recherchiert.

Im Rahmen des Erythema nodosum leprosum, das als eine Komplikation bei lepromatöser oder Borderline-lepromatöser Lepra auftreten kann, untersuchten Negera et al. B-Zell-Populationen unter Prednisolonbehandlung (Negera et al., 2017). Im Bezug auf die vorliegenden Ergebnisse ist hierbei vor allem interessant, dass sowohl die activated – als auch die resting Memory-B-Zellen während der Therapie (12. Monat: 3,8% bzw. 15,2%) angestiegen sind und nach der Therapie (24. Monat: 1,3% bzw. 3,7%) jeweils unter die Werte vor Therapiebeginn (2,6% bzw. 5,8%) abgesunken sind. Um den Erfolg der



Prednisolongabe bei HIV-Infizierten zu untersuchen, sind somit Messungen vor Therapiebeginn, während der Therapie und nach abgeschlossener Therapie notwendig.

Zu den Veränderungen von B-Zellen während der Therapie der rheumatoiden Arthritis, die eine klassische Indikationen zur Prednisolontherapie darstellt, wurden ausschließlich Studien unter Rituximab und nicht unter Prednisolon gefunden (Calero et al., 2010). Ferner zeigten weitere Studien zur Therapie bei der rheumatoiden Arthritis nur die klinischen Auswirkungen einer Prednisolontherapie und nicht deren Einfluss auf B-Zellen (Safy et al., 2017).

Die ART ist bei HIV/AIDS-Patienten als die Therapie der ersten Wahl unangefochtener Standard. Deren Wirkung hat die Therapie der HIV-Infektion entscheidend verbessert (Volberding and Deeks, 2010, Cohen et al., 2011). Aufgrund dessen bezieht sich der hier diskutierte Therapieversuch mit Prednisolon auf eine kleine Population und es liegt hierfür keine umfangreichere Literatur vor. Es ist auch nicht zu erwarten, dass bei den Fortschritten der Therapie von HIV-infizierten Patienten, die weltweit beobachtet werden können, wesentliche neue Daten in absehbarer Zeit verfügbar sein werden. Dies limitiert die Beurteilung dieses Therapieansatzes auch in Zukunft.

### **5.2 Probleme der Probensammlung und Qualitätskontrolle**

Die Durchführung und Auswertung der ProCort-Studie war maßgeblich von den örtlichen Gegebenheiten des afrikanischen Landes und der räumlichen Trennung des eigentlichen Studienortes Mwanza, Tansania, vom auswertenden Labor in Würzburg, Deutschland, geprägt. Als eine Folge dessen war die nicht durchgängig eingehaltene Kühlkette ein Problem. Hierdurch war nur ein Teil der Proben messbar. Eine Übersicht über die ausgewerteten Proben ist unter Kap. 4.1 dargestellt.

Zur Methodenevaluation und Qualitätskontrolle wurden Vorversuche durchgeführt. Hierbei wurden Verdünnungsreihen der Antikörper (siehe Kap. 3.2.2.1) und eine Optimierung der Inkubationszeit (siehe Kap. 3.2.2.2) durchgeführt. Die Durchflusszytometrie erfolgte nach Standardprotokoll des Herstellers.

### **5.3 Bewertung des Kollektivs**

Eine weitere Folge der örtlichen Gegebenheiten ist die relativ hohe Drop-out-Rate von 24% innerhalb von 2 Jahren. Ein Grund hierfür stellt der Wegzug bzw. das Wegbleiben der Patienten von den Visiten, die bereits in die Studie aufgenommen wurden, dar. Drop-out-Raten in dieser Höhe sind allerdings bei Studie in Subsahara-Afrika bekannt (Barnighausen et al., 2011). Letzendlich standen 74 Prednisolon- und 67 Placebo-Proben zur Auswertung zur Verfügung. Dies beeinflusste die statistische Auswertung der Studie und beeinträchtigte die Aussagekraft hinsichtlich der Überlebenszeit (nach Kaplan-Meier) (siehe Kap. 4.3.4).

Die Ergebnisse der männlichen Studienteilnehmer verfehlten die statistische Signifikanz. Ein Grund hierfür ist vermutlich der geringen Probenanzahl von 15 Patienten in der Prednisolongruppe (20%) und 11 Patienten in der Placebogruppe (16%) geschuldet. Nachdem im östlichen und südlichen Afrika 59% der HIV-Infizierten weiblich sind, spiegelt die ungleiche Verteilung zwischen Männern und Frauen allerdings das tatsächliche Vorkommen in Afrika wider (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 2017a, Kharsany and Karim, 2016). Weiterhin war die Dosis von 5 mg Prednisolon für die männlichen Patienten vermutlich zu niedrig, und zwar aufgrund ihres Körpergewichtes, der bekannten pharmakokinetischen Unterschiede zwischen Männern und Frauen (Magee et al., 2001) und der ebenfalls differierenden Folgen im Rahmen der HIV-Infektion (Addo and Altfeld, 2014). In dem hier untersuchten Teilkollektiv der ProCort-Studie war der Unterschied hinsichtlich der Prednisolondosis im Bezug zum Körpergewicht bei Männern 1,5% im Vergleich zu Frauen (80,7 µg/kg vs. 81,9 µg/kg) und somit verschwindend gering. Dagegen war der Unterschied in der Gesamtstichprobe der ProCort-Studie mit 8,8% (80,6 µg/kg vs. 87,7 µg/kg) deutlich höher (Kasang et al., 2016). Aufgrund dessen ist das Teilkollektiv mit dem Gesamtkollektiv nicht vollständig vergleichbar und hier nicht der ausschlaggebende Grund für die Veränderungen.

Weitere Beispiele zu Unterschieden zwischen Männern und Frauen mit Bezug auf die ausgewerteten Daten stellen die suPAR-Konzentration und die Anzahl

der CD38<sup>+</sup> HLADR<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T-Zellen dar. Frauen weisen 7% höhere suPAR-Konzentrationen ( $p = 0,02$ ) und im Durchschnitt 5% mehr CD38<sup>+</sup> HLADR<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T-Zellen bei gleicher Viruslast im Vergleich zu Männer auf (Langkilde et al., 2012, Addo and Altfeld, 2014). Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen aus dem Übersichtsartikel von Addo und Altfeld, dass Frauen auch eine höhere Immunaktivierung (höhere Interferon  $\alpha$ -Produktion (Berghofer et al., 2006) und konsekutiv stärkere Aktivierung der CD8<sup>+</sup>-T-Zellen (Meier et al., 2009)) vorweisen und dementsprechend auch eine 1,6-fach schnellere Progression als Männer zeigen (Farzadegan et al., 1998, Addo and Altfeld, 2014).

### **5.4 Begleiterkrankungen und unerwünschte Nebenwirkungen**

Im Rahmen des Gesamtkollektivs der ProCort-Studie wurden Begleiterkrankungen und unerwünschte Nebenwirkungen festgehalten. Bei HIV-Infizierten fanden sich am häufigsten Infektionen des Respirationstrakts, Bauchschmerzen, Malaria und Hauterkrankungen. Unter Prednisolontherapie waren Hauterkrankungen besonders häufig, Malaria und Schmerzen dagegen seltener (Kasang et al., 2016). Nachdem sich die Beobachtungszeit für jeden Patienten der Studie über zwei Jahre erstreckte, gibt es keine Ergebnisse für noch längerfristige Folgen der therapeutischen Intervention.

Von weiterem klinischem Interesse sind beispielsweise endokrine Veränderungen im Rahmen einer Glukokortikoidtherapie. Dass sowohl die HIV-Infektion als auch deren Therapie Einfluss auf endokrine Regulationen haben, ist lange bekannt (Sellmeyer and Grunfeld, 1996). Metabolische Komplikationen wie Glukoseintoleranz, Insulinresistenz, Hyperlipidämie oder Lipodystrophie, Hypogonadismus, Nebenniereninsuffizienz und ein erhöhtes Risiko für eine verminderte Knochendichte sind als einige Beispiele zu nennen (Mirza et al., 2018). Neben diesen Störungen, die allgemein im Rahmen der HIV-Erkrankung und deren Therapie auftreten können, sind hinsichtlich der Prednisolonbehandlung im Rahmen der untersuchten Patienten die endogene Cortisolausschüttung, der Vitamin D-Stoffwechsel sowie die Knochendichte von großer Bedeutung.

## Diskussion

Nachdem eine exogene Prednisolongabe die endogene Cortisolausschüttung beeinflusst, wäre die Analyse bezüglich einer möglichen sekundären Nebennierenrindeninsuffizienz sinnvoll gewesen (Bestimmung von freiem Cortisol im 24-Stunden-Urin). Nebennierensteroid sind sehr stabil und bleiben auch bei längerer, ungekühlter Lagerung messbar.

Das Review von Joseph et al. belegt anhand einer Metaanalyse von 673 Studien, dass innerhalb von 73 bewertbaren Studien im Mittel bei 37,4% der Patienten eine Nebennierenrindeninsuffizienz bei systemischer Glukokortikoidtherapie vorliegt (Joseph et al., 2016). Die bei HIV-Infizierten häufig beobachteten Symptome wie Fatigue, Energieverlust und Gewichtsabnahme bis hin zur Anorexie könnten möglicherweise durch die klassischen Symptome der Nebennierenrindeninsuffizienz überlagert und verstärkt worden sein (Arlt and Allolio, 2003).

Wie im Übersichtsartikel von Biro und Roux beschrieben, stellt die Glukokortikoid induzierte Osteoporose die häufigste Ursache für eine sekundäre Osteoporose vor dem 50. Lebensjahr dar (Kok and Sambrook, 2009, Kanis et al., 2004). Neben der Reduktion der Knochendichte um 5 – 15% innerhalb des ersten Jahres geht die Behandlung mit Glukokortikoiden mit einer nahezu zweifachen Erhöhung des Frakturrisikos einher (RR = 1,91) (van Staa et al., 2002, Briot and Roux, 2015). Zusätzlich zur Risikoerhöhung durch die Prednisolontherapie stellt die Osteoporose sowohl eine Komplikation der HIV-Infektion als auch der ART dar (Compston, 2015, Brown and Qaqish, 2006). Des Weiteren beschreibt Compston eine reduzierte Knochendichte in ihrem Review (Compston, 2015). Shiau et al. haben, allerdings bei deutlicher Heterogenität der berücksichtigten Studien, in ihrer Metaanalyse gezeigt, dass das Frakturrisiko im Rahmen der HIV-Infektion um 58% steigt. Die Risiken, die man für Frakturen bei HIV-Infizierten gefunden hat, werden auf HIV-abhängige Risikofaktoren (geringe CD4<sup>+</sup>-Zellzahl, ART, Koinfektion mit Hepatitis C) und Risikofaktoren, die sich auch ohne AIDS negativ auf Osteoporose auswirken (z.B. hohes Alter, geringer BMI, Rauchen, Glukokortikoide), aufgeteilt (Shiau et al., 2013). Hinsichtlich der ProCort-Studie, bei der es sich um tansanische Patienten handelt, ist allerdings zu erwähnen, dass sich der Großteil der Studien bezüglich Osteoporose auf Nordamerika und

Europa bezieht. Eine der wenigen Studien, die aus einem afrikanischen Patientenkollektiv bestand, hat gezeigt, dass prämenopausale Frauen keine reduzierte Knochendichte im Vergleich mit Uninfizierten aufweisen (Hamill et al., 2013).

Dass die angesprochenen Untersuchungen nicht durchgeführt werden konnten, ist den eingeschränkten Möglichkeiten einer Labordiagnostik vor Ort und der fehlenden Möglichkeit zur Knochendichtebestimmung (DXA-Verfahren) in der tansanischen Klinik geschuldet. Hierbei wird die Schwierigkeit der Durchführung und Auswertung von klinischen Studien in Ländern mit begrenzten Ressourcen deutlich. Trotz dieser gegebenen Herausforderungen könnte eine Einschätzung des Frakturrisikos zum Beispiel mit Hilfe des Fracture Risk Assessment Tool (FRAX<sup>®</sup>) der WHO getroffen werden (Leib et al., 2011). Diese Beurteilung stützt sich auf klinische Kriterien (z.B. Raucherstatus, Alkoholkonsum u.a.m.) und ist somit unabhängig von apparativer Diagnostik.

### **5.5 Immunmodulierende Therapieoptionen**

Die hier bei Frauen belegte Wirksamkeit von Prednisolon als additive Therapie zur ART führt zu der Frage nach weiteren Therapiemöglichkeiten, die ebenfalls Einfluss auf das Immunsystem nehmen. Im Folgenden werden einige Optionen, die in der klinischen Forschung diskutiert werden, aufgeführt.

Eine Kombinationstherapie der etablierten ART mit Interleukin 2 zeigte in zwei großen Phase III-Studien (SILCAAT, ESPRIT) ausschließlich einen Anstieg der CD4<sup>+</sup>-Zellen um 53/mm<sup>3</sup> bzw. 159/mm<sup>3</sup> im Vergleich zur alleinigen ART, jedoch keine Reduktion des Risikos für opportunistische Infektionen oder Mortalität. Darüber hinaus führte die kombinierte Therapie mit Interleukin 2 zu einem Anstieg der unerwünschten Ereignisse Grad 4 (gastrointestinale bzw. psychiatrische Erkrankungen, tiefe Beinvenenthrombose) (Abrams et al., 2009, Della Chiara et al., 2010).

Der Nachweis einer therapeutischen Wirkung des PD-1-blockierende Antikörper (programmed cell death protein 1) auf T- als auch auf B-Zellen bei SIV-infizierten Rhesusaffen, könnte möglicherweise auch für Patienten mit HIV-Infektion von Bedeutung sein (Amu et al., 2013, Titanji et al., 2010).

In der Vergangenheit wurde mit Hilfe von Ciclosporin A eine Stabilisierung der CD4<sup>+</sup>-Zellzahl nachgewiesen (Andrieu et al., 1988, Levy et al., 1995). Dieser Effekt zeigte sich insbesondere in der frühen Phase der HIV-Infektion und ließ somit auf eine positive Beeinflussung des langfristigen Verlaufs der Erkrankung in Kombination mit ART hoffen (Rizzardì et al., 2002). Diese Ergebnisse wurden in aktuellen Studien allerdings nicht bestätigt (Markowitz et al., 2010, Nicolas et al., 2017). Interessant für weitere Studien ist allerdings dennoch der Nachweis von Nicolas et al., dass die Cyclosporin-Gabe das Vorkommen der nicht-integrierten Virus-DNA steigert.

Eine weitere wichtige Therapiestrategie könnte die gezielte Immunrekonstitution des Darmes sein. Dabei wird der Übertritt von mikrobiellen Proteinen und anderen Substanzen ins Blut reduziert. Da ART bereits zu einer Reduktion der LPS-Spiegel führt und somit die Immunaktivierung verringert (Brenchley et al., 2006), ist ein positiver Effekt der gezielten Therapie des Gastrointestinaltrakts zu erwarten. Entsprechend des Übersichtsartikels von Marchetti et al. hat der Einsatz von Antibiotika (dreimonatige Kombination aus Rifaximin und Sulfasalazin) positive laborchemische Effekte (Reduktion von sCD14, aktivierten CD38<sup>+</sup> HLADR<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T-Zellen und D-Dimeren) bei Makaken gezeigt (Pandrea et al., 2012). Weiterhin führte die Gabe von Probiotika (*Lactobacillus rhamnosus* Fiti) zu einem Anstieg der CD4<sup>+</sup>-Zellen im Blut tansanischer HIV-Patienten (Irvine et al., 2010) und einer nahezu zweifachen Steigerung der CD4<sup>+</sup>-Zellen im Colon von Makaken (Klatt et al., 2013). Ferner wurde sowohl auf die gestörte Enterozytenbarriere und deren immunologische Bedeutung für die Therapie (Klatt et al., 2012) als auch auf die mögliche Neutralisierung mikrobieller Produkte aus dem Darm im peripheren Blut (Hauser et al., 2010) hingewiesen (Marchetti et al., 2013).

### **5.6 Limitationen**

Im Folgenden werden einige Limitationen der Studie aufgezeigt.

Im Kapitel 5.3 wurde bereits darauf hingewiesen, dass die Vitalität der Zellen der Baseline-Proben (vor dem Start der Behandlung) durch eine unterbrochene Kühlkette geschädigt wurde. Aufgrund dessen war ein Vergleich der

## Diskussion

untersuchten Visite 8 mit der Baseline nicht möglich. Die gezeigten Ergebnisse spiegeln somit den aktuellen Stand der Patienten bezüglich der untersuchten Parameter im 12. Monat und nicht die Veränderungen im Verlauf der Behandlung wider.

Ferner ist eine Übertragung der Ergebnisse von afrikanischen Patienten aus Tansania auf westeuropäische HIV-Erkrankte nicht ohne Weiteres möglich. Während Frauen dort 59% aller Infizierten darstellen, sind in West- und Zentraleuropa und Nordamerika 49% der Betroffenen homosexuelle Männer oder unabhängig davon gleichgeschlechtliche sexuelle Aktivitäten hatten (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 2017a, Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 2016). Um die Situation für Deutschland beurteilen zu können, müsste das männliche Kollektiv auf eine vergleichbare Größe des weiblichen Kollektivs erweitert werden.

Des Weiteren stellt die gleiche Prednisolondosierung für alle Patienten unabhängig von ihrem körperlichen Status (Körpergewicht, BMI, Ernährungszustand), ihrer Komorbiditäten und ihres Geschlechtes eine wesentliche Limitation dar. Eine Differenzierung z.B. durch gewichtsadaptierte Therapie wäre für weitere Studien wünschenswert.

Eine weitere Limitation stellt die Erfassung der Compliance dar. In der ProCort-Studie wurde diese durch die zurückgebrachten Medikamente berechnet. Nachdem Compliance-Werte über 100% vorhanden waren, wird klar, dass diese Ergebnisse nur mit eingeschränkter Verlässlichkeit zu beurteilen sind.

Zur genaueren Bewertung von Nutzen und Risiko einer Prednisolontherapie müssten über die zwei Jahre der bisherigen therapeutischen Intervention hinaus Langzeitverläufe dokumentiert und ausgewertet werden. Die hier durchgeführten Untersuchungen sprechen mit den genannten Einschränkungen für ein Überwiegen des Nutzens der Therapie bei Patientinnen, nicht jedoch bei Patienten innerhalb der zwei Behandlungsjahre.

### **5.7 Ausblick**

Im Rahmen der ProCort-Studie wurde gezeigt, dass Frauen durch eine Prednisolontherapie signifikant mehr Memory-B-Zellen und hierbei insbesondere mehr resting Memory-B-Zellen im Vergleich zur Placebogruppe aufweisen. Diese Ergebnisse konnte bei den Männern nicht gezeigt werden. Deshalb sollte aufgrund des kleinen männlichen Kollektivs die Patientenzahl erweitert werden.

Daneben sind weiterhin genauere Untersuchungen bezüglich endokriner Störungen, insbesondere der Frage einer möglicherweise induzierten Nebennierenrindeninsuffizienz mit additiver Morbidität zu untersuchen. Ferner müsste darauf geachtet werden, ob die Therapie mit Prednisolon zu Störungen des Knochenstoffwechsels und einer vorzeitigen Osteopenie/Osteoporose führen kann. Unberücksichtigt blieb bisher auch, ob ein Vitamin D-Mangel vorlag. Zum jetzigen Zeitpunkt kann aufgrund der durch Leitlinien gesicherten ART höchstens von einer additiven Therapie mit immunmodulierenden Substanzen ausgegangen werden. Der Einsatz weiterer Therapeutika muss stets einer Risikoabwägung zwischen klinischem Nutzen und unerwünschten Nebenwirkungen unterliegen.



## **6 Zusammenfassung**

Die HIV-Infektion wird von einer Hyperimmunaktivierung begleitet, die vermutlich eine treibende Kraft in der Pathogenese der Entwicklung von AIDS darstellt. Die Rolle der B-Zellen im Rahmen dieser Veränderungen und dem Einfluss einer Prednisolontherapie wird durch die ProCort-Studie genauer beschrieben. Diese stellt eine zweijährige, Placebo-kontrollierte, randomisierte Doppelblindstudie dar, bei der die Patienten 5 mg Prednisolon täglich einnahmen. Mittels durchflusszytometrischen Messungen wurden bestimmte B-Zellpopulationen differenziert und quantifiziert. Die resultierenden Ergebnisse wurden weiterhin mit bekannten Immunaktivierungsmarkern korreliert.

In der Arbeit konnte gezeigt werden, dass Studienteilnehmer durch eine Prednisolontherapie signifikant mehr Memory-B-Zellen im Vergleich zur Placebogruppe aufweisen (Mean 41,13 [95% CI 38,01 – 44,25] vs. 32,81 [29,64 – 35,98],  $p = 0,0003$ ). Dieser Unterschied begründete sich insbesondere durch die höhere Zahl an resting Memory-B-Zellen (Median 20,10 [95% CI 19,57 – 23,86] vs. 13,80 [13,61 – 17,77],  $p < 0,0001$ ). Während diese Unterschiede auch geschlechtergetrennt bei den Frauen signifikant waren ( $p = 0,0007$  bzw.  $p < 0,0001$ ), zeigte sich dies bei den Männern nicht ( $p = 0,2133$  bzw.  $p = 0,0554$ ). Ferner konnte die Bedeutung der B-Zellen als prognostischer Marker der HIV-Infektion dadurch unterstützt werden, dass signifikante Korrelationen zu anderen, bereits etablierten Progressionsmarkern vorlagen. So zeigte der Anteil der Memory-B-Zellen eine positive Korrelation mit der CD4/CD8-Ratio ( $p = 0,0228$ , lineare Regression), bzw. negative Korrelationen mit bekannten Risikomarkern wie der CD8/CD38/HLADR-Aktivierung ( $p = 0,0049$ , lineare Regression) und den Plasmaspiegeln von suPAR ( $p = 0,0215$ , lineare Regression) und sCD14 ( $p = 0,0051$ , lineare Regression).

Zusammenfassend zeigt die Arbeit, dass die Veränderungen im B-Zellkompartiment Teil des Immunaktivierungsprozesses im Rahmen der HIV-Infektion sind und Prednisolon modulierende Einflüsse darauf hat. Somit trägt sie zum besseren Verständnis der Immunpathogenese und zukünftiger

## Zusammenfassung

Therapieoptionen bei. Ferner werden durch die Korellationen mit spezifischen Immunaktivierungsmarkern Hinweise für zukünftige Prognosemarker aufgezeigt.

## 7 Literaturverzeichnis

- ABRAMS, D., LEVY, Y., LOSSO, M. H., BABIKER, A., COLLINS, G., COOPER, D. A., DARBYSHIRE, J., EMERY, S., FOX, L., GORDIN, F., LANE, H. C., LUNDGREN, J. D., MITSUYASU, R., NEATON, J. D., PHILLIPS, A., ROUTH, J. P., TAMBUSSI, G. & WENTWORTH, D. 2009. Interleukin-2 therapy in patients with HIV infection. *N Engl J Med*, 361, 1548-59.
- ACTOR, J. K. 2014. Chapter 1 - A Functional Overview of the Immune System and Immune Components. *Introductory Immunology*. Amsterdam: Academic Press.
- ADDO, M. M. & ALTFELD, M. 2014. Sex-based differences in HIV type 1 pathogenesis. *J Infect Dis*, 209 Suppl 3, S86-92.
- AIDS EDUCATION AND TRAINING CENTER (AETC). 2014. *HIV Classification: CDC and WHO Staging Systems* [Online]. Available: <https://aidsetc.org/guide/hiv-classification-cdc-and-who-staging-systems> [Accessed 22.01.2018].
- ALEMAN, S., SODERBARG, K., VISCO-COMANDINI, U., SITBON, G. & SONNERBORG, A. 2002. Drug resistance at low viraemia in HIV-1-infected patients with antiretroviral combination therapy. *Aids*, 16, 1039-44.
- AMU, S., RUFFIN, N., RETHI, B. & CHIODI, F. 2013. Impairment of B-cell functions during HIV-1 infection. *Aids*, 27, 2323-34.
- AN DER HEIDEN, M., MARCUS, U., KOLLAN, C., SCHMIDT, D., VOß, L., GUNSENHEIMER-BARTMEYER, B. & BREMER, V. 2016. Schätzung der Zahl der HIV-Neuinfektionen und der Gesamtzahl von Menschen mit HIV in Deutschland. *Robert Koch-Institut - Epidemiologisches Bulletin Nr. 47*, 531-545.
- ANDRIEU, J. M., EVEN, P., VENET, A., TOURANI, J. M., STERN, M., LOWENSTEIN, W., AUDROIN, C., EME, D., MASSON, D., SORS, H. & ET AL. 1988. Effects of cyclosporin on T-cell subsets in human immunodeficiency virus disease. *Clin Immunol Immunopathol*, 47, 181-98.
- ANDRIEU, J. M., LU, W. & LEVY, R. 1995. Sustained increases in CD4 cell counts in asymptomatic human immunodeficiency virus type 1-seropositive patients treated with prednisolone for 1 year. *J Infect Dis*, 171, 523-30.
- ARLT, W. & ALLOLIO, B. 2003. Adrenal insufficiency. *Lancet*, 361, 1881-93.
- AVERT. 2018. *HIV and AIDS in Tanzania* [Online]. Available: <https://www.avert.org/professionals/hiv-around-world/sub-saharan-africa/tanzania> [Accessed 09.05.2018].
- BARNIGHAUSEN, T., CHAIYACHATI, K., CHIMBINDI, N., PEOPLES, A., HABERER, J. & NEWELL, M. L. 2011. Interventions to increase antiretroviral adherence in sub-Saharan Africa: a systematic review of evaluation studies. *Lancet Infect Dis*, 11, 942-51.
- BEHRENS, G. M. 2012. HIV 2012 : Aktuelle Forschungsergebnisse. *Internist*, 53, 1187-94.
- BERGHOFER, B., FROMMER, T., HALEY, G., FINK, L., BEIN, G. & HACKSTEIN, H. 2006. TLR7 ligands induce higher IFN-alpha production in females. *J Immunol*, 177, 2088-96.
- BRENCHLEY, J. M., PRICE, D. A., SCHACKER, T. W., ASHER, T. E., SILVESTRI, G., RAO, S., KAZAZ, Z., BORNSTEIN, E., LAMBOTTE, O., ALTMANN, D., BLAZAR, B. R., RODRIGUEZ, B., TEIXEIRA-JOHNSON, L., LANDAY, A., MARTIN, J. N., HECHT, F. M., PICKER, L. J., LEDERMAN, M. M., DEEKS, S. G. & DOUEK, D. C. 2006. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat Med*, 12, 1365-71.
- BRENCHLEY, J. M., SCHACKER, T. W., RUFF, L. E., PRICE, D. A., TAYLOR, J. H., BEILMAN, G. J., NGUYEN, P. L., KHORUTS, A., LARSON, M., HAASE, A. T. & DOUEK, D. C. 2004. CD4+ T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract. *J Exp Med*, 200, 749-59.
- BRIOT, K. & ROUX, C. 2015. Glucocorticoid-induced osteoporosis. *RMD Open*, 1, e000014.

## Literaturverzeichnis

- BROWN, T. T. & QAQISH, R. B. 2006. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. *Aids*, 20, 2165-74.
- CALERO, I., NIETO, J. A. & SANZ, I. 2010. B cell therapies for rheumatoid arthritis: beyond B cell depletion. *Rheum Dis Clin North Am*, 36, 325-43.
- CAMPELL, N. A., REECE, J. B., URRY, L. A., CAIN, M. L., WASSERMAN, S. A., MINORSKY, P. V. & JACKSON, R. B. 2009. *Biologie*, Pearson Studium.
- CHOUDHARY, S. K., VRISEKOP, N., JANSEN, C. A., OTTO, S. A., SCHUITEMAKER, H., MIEDEMA, F. & CAMERINI, D. 2007. Low immune activation despite high levels of pathogenic human immunodeficiency virus type 1 results in long-term asymptomatic disease. *J Virol*, 81, 8838-42.
- CLAVEL, F. & HANCE, A. J. 2004. HIV drug resistance. *N Engl J Med*, 350, 1023-35.
- COHEN, M. S., CHEN, Y. Q., MCCAULEY, M., GAMBLE, T., HOSSEINIPOUR, M. C., KUMARASAMY, N., HAKIM, J. G., KUMWENDA, J., GRINSZTEJN, B., PILOTTO, J. H., GODBOLE, S. V., MEHENDALE, S., CHARİYALERTSAK, S., SANTOS, B. R., MAYER, K. H., HOFFMAN, I. F., ESHLEMAN, S. H., PIWOWAR-MANNING, E., WANG, L., MAKHEMA, J., MILLS, L. A., DE BRUYN, G., SANNE, I., ERON, J., GALLANT, J., HAVLIR, D., SWINDELLS, S., RIBAUDO, H., ELHARRAR, V., BURNS, D., TAHA, T. E., NIELSEN-SAINES, K., CELENTANO, D., ESSEX, M. & FLEMING, T. R. 2011. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med*, 365, 493-505.
- COMPSTON, J. 2015. HIV infection and osteoporosis. *Bonekey Rep*, 4, 636.
- DE MILITO, A., MORCH, C., SONNERBORG, A. & CHIODI, F. 2001. Loss of memory (CD27) B lymphocytes in HIV-1 infection. *Aids*, 15, 957-64.
- DEEKS, S. G. 2011. HIV: How to escape treatment. *Nature*, 477, 36-7.
- DEEKS, S. G., BARBOUR, J. D., MARTIN, J. N., SWANSON, M. S. & GRANT, R. M. 2000. Sustained CD4+ T cell response after virologic failure of protease inhibitor-based regimens in patients with human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis*, 181, 946-53.
- DELLA CHIARA, G., FORTIS, C., TAMBUSI, G. & POLI, G. 2010. The rise and fall of intermittent interleukin-2 therapy in HIV infection. *Eur Cytokine Netw*, 21, 197-201.
- DEUTSCHE AIDS-GESELLSCHAFT E.V. (DAIG). *HIV Allgemein - Was ist HIV?* [Online]. Available: <http://www.daignet.de/site-content/hiv-allgemein/was-ist-hiv-1> [Accessed 15.01.2018].
- DEUTSCHE AIDS-GESELLSCHAFT E.V. (DAIG) 2014. *Deutsch-Österreichische Leitlinie zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion*.
- DEUTSCHE AIDS-GESELLSCHAFT E.V. (DAIG) 2017. *Deutsch-Österreichische Leitlinie zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion*.
- EL-SADR, W. M., LUNDGREN, J., NEATON, J. D., GORDIN, F., ABRAMS, D., ARDUINO, R. C., BABIKER, A., BURMAN, W., CLUMECK, N., COHEN, C. J., COHN, D., COOPER, D., DARBYSHIRE, J., EMERY, S., FATKENHEUER, G., GAZZARD, B., GRUND, B., HOY, J., KLINGMAN, K., LOSSO, M., MARKOWITZ, N., NEUHAUS, J., PHILLIPS, A. & RAPPOPORT, C. 2006. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *N Engl J Med*, 355, 2283-96.
- ENGIG, F. N., ZANGERLE, R., KATSAROU, O., DABIS, F., REISS, P., GILL, J., PORTER, K., SABIN, C., RIORDAN, A., FATKENHEUER, G., GUTIERREZ, F., RAFFI, F., KIRK, O., MARY-KRAUSE, M., STEPHAN, C., DE OLALLA, P. G., GUEST, J., SAMJI, H., CASTAGNA, A., D'ARMINIO MONFORTE, A., SKALETZ-ROROWSKI, A., RAMOS, J., LAPADULA, G., MUSSINI, C., FORCE, L., MEYER, L., LAMPE, F., BOUFASSA, F., BUCHER, H. C., DE WIT, S., BURKHOLDER, G. A., TEIRA, R., JUSTICE, A. C., STERLING, T. R., H, M. C., GERSTOFT, J., GRARUP, J., MAY, M., CHENE, G., INGLE, S. M., STERNE, J. & OBEL, N. 2014. Long-term mortality in HIV-positive individuals virally suppressed for >3 years with incomplete CD4 recovery. *Clin Infect Dis*, 58, 1312-21.

## Literaturverzeichnis

- FARZADEGAN, H., HOOVER, D. R., ASTEMBORSKI, J., LYLES, C. M., MARGOLICK, J. B., MARKHAM, R. B., QUINN, T. C. & VLAHOV, D. 1998. Sex differences in HIV-1 viral load and progression to AIDS. *Lancet*, 352, 1510-4.
- FRENCH, M. A. 2009. HIV/AIDS: immune reconstitution inflammatory syndrome: a reappraisal. *Clin Infect Dis*, 48, 101-7.
- FRIIS-MOLLER, N., SABIN, C. A., WEBER, R., D'ARMINIO MONFORTE, A., EL-SADR, W. M., REISS, P., THIEBAUT, R., MORFELDT, L., DE WIT, S., PRADIER, C., CALVO, G., LAW, M. G., KIRK, O., PHILLIPS, A. N. & LUNDGREN, J. D. 2003. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*, 349, 1993-2003.
- GURDASANI, D., ILES, L., DILLON, D. G., YOUNG, E. H., OLSON, A. D., NARANBHAI, V., FIDLER, S., GKRIANIA-KLOTSAS, E., POST, F. A., KELLAM, P., PORTER, K. & SANDHU, M. S. 2014. A systematic review of definitions of extreme phenotypes of HIV control and progression. *Aids*, 28, 149-62.
- HAMILL, M. M., WARD, K. A., PETTIFOR, J. M., NORRIS, S. A. & PRENTICE, A. 2013. Bone mass, body composition and vitamin D status of ARV-naive, urban, black South African women with HIV infection, stratified by CD(4) count. *Osteoporos Int*, 24, 2855-61.
- HAPGOOD, J. P. & TOMASICCHIO, M. 2010. Modulation of HIV-1 virulence via the host glucocorticoid receptor: towards further understanding the molecular mechanisms of HIV-1 pathogenesis. *Arch Virol*, 155, 1009-19.
- HARTMANN, M., BECHTOLD, J., BICKEL, M., BILLING, H., BRAUN, P., BRUST, J., BUCHHOLZ, B., EIGEL, G., ESSER, S., HENSEL, M., KLINKER, H., KNECHTEN, H., MOSTHAF, F., MOSTHAF, H., MÜLLER, M., PFITZER, W., PLÖGER, C., PROCACCIANTI, M., RÖMER, K., RIES, A., RUMP, J. A., SCHALLER, U. S., SCHULZE, M. H., SCHUSTER, D., STICH, A. & USADEL, S. 2017. *HIV-Leitfaden: Klinische Kategorien der CDC-Klassifikation* [Online]. Heidelberg. Available: <http://www.hivleitfaden.de/cms/index.asp?inst=hivleitfaden&snr=6911> [Accessed 20.01.2018].
- HAUSER, A. B., AZEVEDO, I. R., GONCALVES, S., STINGHEN, A., AITA, C. & PECOITS-FILHO, R. 2010. Sevelamer carbonate reduces inflammation and endotoxemia in an animal model of uremia. *Blood Purif*, 30, 153-8.
- HE, L., YANG, J., MA, Q., ZHANG, J., XU, Y., XIA, Y., CHEN, W., WANG, H., ZHENG, J., JIANG, J., LUO, Y., XU, K., ZHANG, X., XIA, S. & PAN, X. 2018. Reduction in HIV community viral loads following the implementation of a "Treatment as Prevention" strategy over 2 years at a population-level among men who have sex with men in Hangzhou, China. *BMC Infect Dis*, 18, 62.
- HUA, S., LECUROUX, C., SAEZ-CIRION, A., PANCINO, G., GIRAULT, I., VERSMISSE, P., BOUFASSA, F., TAULERA, O., SINET, M., LAMBOTTE, O. & VENET, A. 2014. Potential role for HIV-specific CD38-/HLA-DR+ CD8+ T cells in viral suppression and cytotoxicity in HIV controllers. *PLoS One*, 9, e101920.
- HUNT, P. W., BRENCHELY, J., SINCLAIR, E., MCCUNE, J. M., ROLAND, M., PAGE-SHAFER, K., HSUE, P., EMU, B., KRONE, M., LAMPIRIS, H., DOUEK, D., MARTIN, J. N. & DEEKS, S. G. 2008. Relationship between T cell activation and CD4+ T cell count in HIV-seropositive individuals with undetectable plasma HIV RNA levels in the absence of therapy. *J Infect Dis*, 197, 126-33.
- IRVINE, S. L., HUMMELEN, R., HEKMAT, S., LOOMAN, C. W., HABBEMA, J. D. & REID, G. 2010. Probiotic yogurt consumption is associated with an increase of CD4 count among people living with HIV/AIDS. *J Clin Gastroenterol*, 44, e201-5.
- JOINT UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS (UNAIDS) 2016. Global AIDS-Update. Genua, Schweiz: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS).
- JOINT UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS (UNAIDS) 2017a. Fact Sheet - Latest statistics on the status of the AIDS epidemic. United Nations.

## Literaturverzeichnis

- JOINT UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS (UNAIDS). 2017b. *UNAIDS 2018–2019 Budget* [Online]. Genua, Schweiz. Available: [http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/20170609\\_PCB40\\_2018-2019-Budget\\_17.9\\_EN.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/20170609_PCB40_2018-2019-Budget_17.9_EN.pdf) [Accessed 28.01.2018].
- JOSEPH, R. M., HUNTER, A. L., RAY, D. W. & DIXON, W. G. 2016. Systemic glucocorticoid therapy and adrenal insufficiency in adults: A systematic review. *Semin Arthritis Rheum*, 46, 133-41.
- KACANI, L., PRODINGER, W. M., SPRINZL, G. M., SCHWENDINGER, M. G., SPRUTH, M., STOIBER, H., DOPPER, S., STEINHUBER, S., STEINDL, F. & DIERICH, M. P. 2000. Detachment of human immunodeficiency virus type 1 from germinal centers by blocking complement receptor type 2. *J Virol*, 74, 7997-8002.
- KAMINSKI, D. A., WEI, C., QIAN, Y., ROSENBERG, A. F. & SANZ, I. 2012. Advances in human B cell phenotypic profiling. *Front Immunol*, 3, 302.
- KANIS, J. A., JOHANSSON, H., ODEN, A., JOHNNELL, O., DE LAET, C., MELTON, I. L., TENENHOUSE, A., REEVE, J., SILMAN, A. J., POLS, H. A., EISMAN, J. A., MCCLOSKEY, E. V. & MELLSTROM, D. 2004. A meta-analysis of prior corticosteroid use and fracture risk. *J Bone Miner Res*, 19, 893-9.
- KASANG, C., KALLUVYA, S., MAJINGE, C., KONGOLA, G., MLEWA, M., MASSAWE, I., KABYEMERA, R., MAGAMBO, K., ULMER, A., KLINKER, H., GSCHMACK, E., HORN, A., KOUTSILIERI, E., PREISER, W., HOFMANN, D., HAIN, J., MULLER, A., DOLKEN, L., WEISSBRICH, B., RETHWILM, A., STICH, A. & SCHELLER, C. 2016. Effects of Prednisolone on Disease Progression in Antiretroviral-Untreated HIV Infection: A 2-Year Randomized, Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trial. *PLoS One*, 11, e0146678.
- KASANG, C., KALLUVYA, S., MAJINGE, C., STICH, A., BODEM, J., KONGOLA, G., JACOBS, G. B., MLEWA, M., MILDNER, M., HENSEL, I., HORN, A., PREISER, W., VAN ZYL, G., KLINKER, H., KOUTSILIERI, E., RETHWILM, A., SCHELLER, C. & WEISSBRICH, B. 2011. HIV drug resistance (HIVDR) in antiretroviral therapy-naive patients in Tanzania not eligible for WHO threshold HIVDR survey is dramatically high. *PLoS One*, 6, e23091.
- KAUFMANN, G. R., ELZI, L., WEBER, R., FURRER, H., GIULIERI, S., VERNAZZA, P., BERNASCONI, E., HIRSCH, B. & BATTEGAY, M. 2011. Interruptions of cART limits CD4 T-cell recovery and increases the risk for opportunistic complications and death. *Aids*, 25, 441-51.
- KHARSANY, A. B. & KARIM, Q. A. 2016. HIV Infection and AIDS in Sub-Saharan Africa: Current Status, Challenges and Opportunities. *Open AIDS J*, 10, 34-48.
- KIRKEGAARD-KLITBO, D. M., LANGKILDE, A., MEJER, N., ANDERSEN, O., EUGEN-OLSEN, J. & BENFIELD, T. 2017. Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor Is a Predictor of Incident Non-AIDS Comorbidity and All-Cause Mortality in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. *J Infect Dis*, 216, 819-823.
- KLATT, N. R., CANARY, L. A., SUN, X., VINTON, C. L., FUNDERBURG, N. T., MORCOCK, D. R., QUINONES, M., DEMING, C. B., PERKINS, M., HAZUDA, D. J., MILLER, M. D., LEDERMAN, M. M., SEGRE, J. A., LIFSON, J. D., HADDAD, E. K., ESTES, J. D. & BRENCHLEY, J. M. 2013. Probiotic/prebiotic supplementation of antiretrovirals improves gastrointestinal immunity in SIV-infected macaques. *J Clin Invest*, 123, 903-7.
- KLATT, N. R., ESTES, J. D., SUN, X., ORTIZ, A. M., BARBER, J. S., HARRIS, L. D., CERVASI, B., YOKOMIZO, L. K., PAN, L., VINTON, C. L., TABB, B., CANARY, L. A., DANG, Q., HIRSCH, V. M., ALTER, G., BELKAID, Y., LIFSON, J. D., SILVESTRI, G., MILNER, J. D., PAIARDINI, M., HADDAD, E. K. & BRENCHLEY, J. M. 2012. Loss of mucosal CD103+ DCs and IL-17+ and IL-22+ lymphocytes is associated with mucosal damage in SIV infection. *Mucosal Immunol*, 5, 646-57.
- KOK, C. & SAMBROOK, P. N. 2009. Secondary osteoporosis in patients with an osteoporotic fracture. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 23, 769-79.

## Literaturverzeichnis

- LANE, H. C., MASUR, H., EDGAR, L. C., WHALEN, G., ROOK, A. H. & FAUCI, A. S. 1983. Abnormalities of B-cell activation and immunoregulation in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med*, 309, 453-8.
- LANGKILDE, A., PETERSEN, J., KLAUSEN, H. H., HENRIKSEN, J. H., EUGEN-OLSEN, J. & ANDERSEN, O. 2012. Inflammation in HIV-infected patients: impact of HIV, lifestyle, body composition, and demography - a cross sectional cohort study. *PLoS One*, 7, e51698.
- LEIB, E. S., SAAG, K. G., ADACHI, J. D., GEUSENS, P. P., BINKLEY, N., MCCLOSKEY, E. V. & HANS, D. B. 2011. Official Positions for FRAX((R)) clinical regarding glucocorticoids: the impact of the use of glucocorticoids on the estimate by FRAX((R)) of the 10 year risk of fracture from Joint Official Positions Development Conference of the International Society for Clinical Densitometry and International Osteoporosis Foundation on FRAX((R)). *J Clin Densitom*, 14, 212-9.
- LESHO, E. 2006. Evidence base for using corticosteroids to treat HIV-associated immune reconstitution syndrome. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 4, 469-78.
- LEVY, R., JAIS, J. P., TOURANI, J. M., EVEN, P. & ANDRIEU, J. M. 1995. Long-term follow-up of HIV positive asymptomatic patients having received cyclosporin A. *Adv Exp Med Biol*, 374, 229-34.
- LINDQVIST, M., VAN LUNZEN, J., SOGHOIAN, D. Z., KUHL, B. D., RANASINGHE, S., KRANIAS, G., FLANDERS, M. D., CUTLER, S., YUDANIN, N., MULLER, M. I., DAVIS, I., FARBER, D., HARTJEN, P., HAAG, F., ALTER, G., SCHULZE ZUR WIESCH, J. & STREECK, H. 2012. Expansion of HIV-specific T follicular helper cells in chronic HIV infection. *J Clin Invest*, 122, 3271-80.
- LONGMORE, M., WILKINSON, I. B., BALDWIN, A. & WALLIN, E. 2014. *Oxford Handbook of Clinical Medicine*, New York, USA, Oxford University Press.
- LUNDGREN, J. D., BABIKER, A. G., GORDIN, F., EMERY, S., GRUND, B., SHARMA, S., AVIHINGSANON, A., COOPER, D. A., FATKENHEUER, G., LLIBRE, J. M., MOLINA, J. M., MUNDERI, P., SCHECHTER, M., WOOD, R., KLINGMAN, K. L., COLLINS, S., LANE, H. C., PHILLIPS, A. N. & NEATON, J. D. 2015. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *N Engl J Med*, 373, 795-807.
- MAGEE, M. H., BLUM, R. A., LATES, C. D. & JUSKO, W. J. 2001. Prednisolone pharmacokinetics and pharmacodynamics in relation to sex and race. *J Clin Pharmacol*, 41, 1180-94.
- MARCHETTI, G., TINCATI, C. & SILVESTRI, G. 2013. Microbial translocation in the pathogenesis of HIV infection and AIDS. *Clin Microbiol Rev*, 26, 2-18.
- MARKOWITZ, M., VAIDA, F., HARE, C. B., BODEN, D., MOHRI, H., HECHT, F. M., KALAYJIAN, R. C., CONRAD, A., MILDVAN, D., ABERG, J., HOGAN, C., KILBY, J. M., BALFOUR, H. H., JR., SCHAFER, K., RICHMAN, D. & LITTLE, S. 2010. The virologic and immunologic effects of cyclosporine as an adjunct to antiretroviral therapy in patients treated during acute and early HIV-1 infection. *J Infect Dis*, 201, 1298-302.
- MEHANDRU, S., POLES, M. A., TENNER-RACZ, K., HOROWITZ, A., HURLEY, A., HOGAN, C., BODEN, D., RACZ, P. & MARKOWITZ, M. 2004. Primary HIV-1 infection is associated with preferential depletion of CD4+ T lymphocytes from effector sites in the gastrointestinal tract. *J Exp Med*, 200, 761-70.
- MEHANDRU, S., POLES, M. A., TENNER-RACZ, K., MANUELLI, V., JEAN-PIERRE, P., LOPEZ, P., SHET, A., LOW, A., MOHRI, H., BODEN, D., RACZ, P. & MARKOWITZ, M. 2007. Mechanisms of gastrointestinal CD4+ T-cell depletion during acute and early human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol*, 81, 599-612.
- MEIER, A., CHANG, J. J., CHAN, E. S., POLLARD, R. B., SIDHU, H. K., KULKARNI, S., WEN, T. F., LINDSAY, R. J., ORELLANA, L., MILDVAN, D., BAZNER, S., STREECK, H., ALTER, G., LIFSON, J. D., CARRINGTON, M., BOSCH, R. J., ROBBINS, G. K. & ALTFELD, M. 2009. Sex



## Literaturverzeichnis

- differences in the Toll-like receptor-mediated response of plasmacytoid dendritic cells to HIV-1. *Nat Med*, 15, 955-9.
- MEINTJES, G., SCRIVEN, J. & MARAIS, S. 2012. Management of the immune reconstitution inflammatory syndrome. *Curr HIV/AIDS Rep*, 9, 238-50.
- MELLORS, J. W., MUNOZ, A., GIORGI, J. V., MARGOLICK, J. B., TASSONI, C. J., GUPTA, P., KINGSLEY, L. A., TODD, J. A., SAAH, A. J., DETELS, R., PHAIR, J. P. & RINALDO, C. R., JR. 1997. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med*, 126, 946-54.
- MERINO, K. M., ALLERS, C., DIDIER, E. S. & KURODA, M. J. 2017. Role of Monocyte/Macrophages during HIV/SIV Infection in Adult and Pediatric Acquired Immune Deficiency Syndrome. *Front Immunol*, 8, 1693.
- MIRZA, F. S., LUTHRA, P. & CHIRCH, L. 2018. Endocrinological aspects of HIV infection. *J Endocrinol Invest*.
- MOCROFT, A., LEDERGERBER, B., KATLAMA, C., KIRK, O., REISS, P., D'ARMINIO MONFORTE, A., KNYSZ, B., DIETRICH, M., PHILLIPS, A. N. & LUNDGREN, J. D. 2003. Decline in the AIDS and death rates in the EuroSIDA study: an observational study. *Lancet*, 362, 22-9.
- MOIR, S., BUCKNER, C. M., HO, J., WANG, W., CHEN, J., WALDNER, A. J., POSADA, J. G., KARDAVA, L., O'SHEA, M. A., KOTTILIL, S., CHUN, T. W., PROSCHAN, M. A. & FAUCI, A. S. 2010. B cells in early and chronic HIV infection: evidence for preservation of immune function associated with early initiation of antiretroviral therapy. *Blood*, 116, 5571-9.
- MOIR, S. & FAUCI, A. S. 2009. B cells in HIV infection and disease. *Nat Rev Immunol*, 9, 235-45.
- MOIR, S., HO, J., MALASPINA, A., WANG, W., DIPOTO, A. C., O'SHEA, M. A., ROBY, G., KOTTILIL, S., ARTHOS, J., PROSCHAN, M. A., CHUN, T. W. & FAUCI, A. S. 2008a. Evidence for HIV-associated B cell exhaustion in a dysfunctional memory B cell compartment in HIV-infected viremic individuals. *J Exp Med*, 205, 1797-805.
- MOIR, S., MALASPINA, A., HO, J., WANG, W., DIPOTO, A. C., O'SHEA, M. A., ROBY, G., MICAN, J. M., KOTTILIL, S., CHUN, T. W., PROSCHAN, M. A. & FAUCI, A. S. 2008b. Normalization of B cell counts and subpopulations after antiretroviral therapy in chronic HIV disease. *J Infect Dis*, 197, 572-9.
- MOORE, R. D. & KERULY, J. C. 2007. CD4+ cell count 6 years after commencement of highly active antiretroviral therapy in persons with sustained virologic suppression. *Clin Infect Dis*, 44, 441-6.
- MUSSINI, C., LORENZINI, P., COZZI-LEPRI, A., LAPADULA, G., MARCHETTI, G., NICASTRI, E., CINGOLANI, A., LICHTNER, M., ANTINORI, A., GORI, A. & D'ARMINIO MONFORTE, A. 2015. CD4/CD8 ratio normalisation and non-AIDS-related events in individuals with HIV who achieve viral load suppression with antiretroviral therapy: an observational cohort study. *Lancet HIV*, 2, e98-106.
- NANSSEU, J. R., BIGNA, J. J., KAZE, A. D. & NOUBIAP, J. J. 2018. Incidence and risk factors for prediabetes and diabetes mellitus among HIV infected adults on antiretroviral therapy: systematic review and meta-analysis. *Epidemiology*.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI), N. L. O. M. U. 2014. *CD14 antigen* [Online]. Bethesda (MD). Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/12475> [Accessed 16.03.2018].
- NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. 2017. *Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents living with HIV* [Online]. Available: <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>  
<https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/1/adult-and-adolescent-arv-guidelines/15/virologic-failure-and-suboptimal-immunologic-response> [Accessed 13.03.2018].



## Literaturverzeichnis

- NEGERA, E., WALKER, S. L., BEKELE, Y., DOCKRELL, H. M. & LOCKWOOD, D. N. 2017. Increased activated memory B-cells in the peripheral blood of patients with erythema nodosum leprosum reactions. *PLoS Negl Trop Dis*, 11, e0006121.
- NICOLAS, D., AMBROSIONI, J., SUED, O., BRUNET, M., LOPEZ-DIEGUEZ, M., MANZARDO, C., AGUERO, F., TUSET, M., PLANA, M., GUARDO, A. C., MOSQUERA, M. M., MUNOZ-FERNANDEZ, M. A., CABALLERO, M., MARCOS, M. A., GATELL, J. M., DE LAZZARI, E., GALLART, T. & MIRO, J. M. 2017. Cyclosporine A in addition to standard ART during primary HIV-1 infection: pilot randomized clinical trial. *J Antimicrob Chemother*, 72, 829-836.
- OSTROWSKI, S. R., KATZENSTEIN, T. L., PIIRONEN, T., GERSTOFT, J., PEDERSEN, B. K. & ULLUM, H. 2004. Soluble urokinase receptor levels in plasma during 5 years of highly active antiretroviral therapy in HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 35, 337-42.
- PALELLA, F. J., JR., DELORIA-KNOLL, M., CHMIEL, J. S., MOORMAN, A. C., WOOD, K. C., GREENBERG, A. E. & HOLMBERG, S. D. 2003. Survival benefit of initiating antiretroviral therapy in HIV-infected persons in different CD4+ cell strata. *Ann Intern Med*, 138, 620-6.
- PANDREA, I., CORNELL, E., WILSON, C., RIBEIRO, R. M., MA, D., KRISTOFF, J., XU, C., HARET-RICHTER, G. S., TRICHEL, A., APETREI, C., LANDAY, A. & TRACY, R. 2012. Coagulation biomarkers predict disease progression in SIV-infected nonhuman primates. *Blood*, 120, 1357-66.
- PEPFAR (THE US PRESIDENT'S EMERGENCY PLAN FOR AIDS RELIEF) 2015. Tanzania Country Operational Plan (COP).
- PHILLIPS, A. N., GAZZARD, B. G., CLUMECK, N., LOSSO, M. H. & LUNDGREN, J. D. 2007. When should antiretroviral therapy for HIV be started? *Bmj*, 334, 76-8.
- POLLOCK, K. M., PINTILIE, H., FOSTER, C. & FIDLER, S. 2018. Cross-sectional study of CD4: CD8 ratio recovery in young adults with perinatally acquired HIV-1 infection. *Medicine (Baltimore)*, 97, e9798.
- PORTUGAL, S., OBENG-ADJEI, N., MOIR, S., CROMPTON, P. D. & PIERCE, S. K. 2017. Atypical memory B cells in human chronic infectious diseases: An interim report. *Cell Immunol*, 321, 18-25.
- RASMUSSEN, L. J., KNUDSEN, A., KATZENSTEIN, T. L., GERSTOFT, J., OBEL, N., JORGENSEN, N. R., KRONBORG, G., BENFIELD, T., KJAER, A., EUGEN-OLSEN, J. & LEBECH, A. M. 2016. Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) is a novel, independent predictive marker of myocardial infarction in HIV-1-infected patients: a nested case-control study. *HIV Med*, 17, 350-7.
- REISLER, R. B., HAN, C., BURMAN, W. J., TEDALDI, E. M. & NEATON, J. D. 2003. Grade 4 events are as important as AIDS events in the era of HAART. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 34, 379-86.
- RICHARDSON, E. T., GRANT, P. M. & ZOLOPA, A. R. 2014. Evolution of HIV treatment guidelines in high- and low-income countries: converging recommendations. *Antiviral Res*, 103, 88-93.
- RIZZARDI, G. P., HARARI, A., CAPILUPPI, B., TAMBUSI, G., ELLEFSEN, K., CIUFFREDA, D., CHAMPAGNE, P., BART, P. A., CHAVE, J. P., LAZZARIN, A. & PANTALEO, G. 2002. Treatment of primary HIV-1 infection with cyclosporin A coupled with highly active antiretroviral therapy. *J Clin Invest*, 109, 681-8.
- ROBB, M. L., ELLER, L. A., KIBUUKA, H., RONO, K., MAGANGA, L., NITAYAPHAN, S., KROON, E., SAWE, F. K., SINEI, S., SRIPLIENCHAN, S., JAGODZINSKI, L. L., MALIA, J., MANAK, M., DE SOUZA, M. S., TOVANABUTRA, S., SANDERS-BUELL, E., ROLLAND, M., DORSEY-SPITZ, J., ELLER, M. A., MILAZZO, M., LI, Q., LEWANDOWSKI, A., WU, H., SWANN, E., O'CONNELL,

## Literaturverzeichnis

- R. J., PEEL, S., DAWSON, P., KIM, J. H. & MICHAEL, N. L. 2016. Prospective Study of Acute HIV-1 Infection in Adults in East Africa and Thailand. *N Engl J Med*, 374, 2120-30.
- SAFY, M., JACOBS, J., ND, I. J., BIJLSMA, J., VAN LAAR, J. M. & DE HAIR, M. 2017. Long-term outcome is better when a methotrexate-based treatment strategy is combined with 10 mg prednisone daily: follow-up after the second Computer-Assisted Management in Early Rheumatoid Arthritis trial. *Ann Rheum Dis*, 76, 1432-1435.
- SANDLER, N. G., WAND, H., ROQUE, A., LAW, M., NASON, M. C., NIXON, D. E., PEDERSEN, C., RUXRUNGTHAM, K., LEWIN, S. R., EMERY, S., NEATON, J. D., BRENCHELEY, J. M., DEEKS, S. G., SERETI, I. & DOUEK, D. C. 2011. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. *J Infect Dis*, 203, 780-90.
- SCHACKER, T., COLLIER, A. C., HUGHES, J., SHEA, T. & COREY, L. 1996. Clinical and epidemiologic features of primary HIV infection. *Ann Intern Med*, 125, 257-64.
- SELLMEYER, D. E. & GRUNFELD, C. 1996. Endocrine and metabolic disturbances in human immunodeficiency virus infection and the acquired immune deficiency syndrome. *Endocr Rev*, 17, 518-32.
- SENG, R., GOUJARD, C., KRASTINOVA, E., MIAILHES, P., ORR, S., MOLINA, J. M., SAADA, M., PIROTH, L., ROUZIOUX, C. & MEYER, L. 2015. Influence of lifelong cumulative HIV viremia on long-term recovery of CD4+ cell count and CD4+/CD8+ ratio among patients on combination antiretroviral therapy. *AIDS*, 29, 595 – 607.
- SERRANO-VILLAR, S. & DEEKS, S. G. 2015. CD4/CD8 ratio: an emerging biomarker for HIV. *Lancet HIV*, 2, e76-7.
- SHIAU, S., BROUN, E. C., ARPADI, S. M. & YIN, M. T. 2013. Incident fractures in HIV-infected individuals: a systematic review and meta-analysis. *Aids*, 27, 1949-57.
- STELLBRINK, H. J., BALDUS, S., BEHRENS, G., BOGNER, J. R., HARRER, T., HOFFMANN, C., VAN LUNZEN, J., MUNCH, J., RACZ, P., SCHELLER, C., STOLL, M., TENNER-RACZ, K. & ROCKSTROH, J. 2010. HIV-induced immune activation: pathogenesis and clinical relevance - summary of a workshop organized by the German AIDS Society (DAIG e.v.) and the ICH Hamburg, Hamburg, Germany, November 22, 2008. *Eur J Med Res*, 15, 1-12.
- STERNE, J. A., MAY, M., COSTAGLIOLA, D., DE WOLF, F., PHILLIPS, A. N., HARRIS, R., FUNK, M. J., GESKUS, R. B., GILL, J., DABIS, F., MIRO, J. M., JUSTICE, A. C., LEDERGERBER, B., FATKENHEUER, G., HOGG, R. S., MONFORTE, A. D., SAAG, M., SMITH, C., STASZEWSKI, S., EGGER, M. & COLE, S. R. 2009. Timing of initiation of antiretroviral therapy in AIDS-free HIV-1-infected patients: a collaborative analysis of 18 HIV cohort studies. *Lancet*, 373, 1352-63.
- TANKO, R. F., SOARES, A. P., MÜLLER, T. L., GARRETT, N. J., SAMSUNDER, N., ABDOOL KARIM, Q., ABDOOL KARIM, S. S., RIOU, C. & BURGERS, W. A. 2017. Effect of Antiretroviral Therapy on the Memory and Activation Profiles of B Cells in HIV-Infected African Women. *The Journal of Immunology*, 198, 1220-1228.
- TITANJI, K., DE MILITO, A., CAGIGI, A., THORSTENSSON, R., GRUTZMEIER, S., ATLAS, A., HEJDEMAN, B., KROON, F. P., LOPALCO, L., NILSSON, A. & CHIODI, F. 2006. Loss of memory B cells impairs maintenance of long-term serologic memory during HIV-1 infection. *Blood*, 108, 1580-7.
- TITANJI, K., VELU, V., CHENNAREDDI, L., VIJAY-KUMAR, M., GEWIRTZ, A. T., FREEMAN, G. J. & AMARA, R. R. 2010. Acute depletion of activated memory B cells involves the PD-1 pathway in rapidly progressing SIV-infected macaques. *J Clin Invest*, 120, 3878-90.
- TOLDI, G., BEKO, G., KADAR, G., MACSAI, E., KOVACS, L., VASARHELYI, B. & BALOG, A. 2013. Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in the assessment of inflammatory activity of rheumatoid arthritis patients in remission. *Clin Chem Lab Med*, 51, 327-32.

## Literaturverzeichnis

- ULMER, A., MULLER, M., BERTISCH-MOLLENHOFF, B. & FRIETSCH, B. 2005a. Low-dose prednisolone has a CD4-stabilizing effect in pre-treated HIV-patients during structured therapy interruptions (STI). *Eur J Med Res*, 10, 227-32.
- ULMER, A., MULLER, M., BERTISCH-MOLLENHOFF, B. & FRIETSCH, B. 2005b. Low dose prednisolone reduces CD4+ T cell loss in therapy-naive HIV-patients without antiretroviral therapy. *Eur J Med Res*, 10, 105-9.
- UNITED NATIONS - ECONOMIC AND SOCIAL COUNCIL 2017. Progress towards the Sustainable Development Goals. United Nations.
- US CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 1992. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR Recomm Rep*, 41, 1-19.
- VAN STAA, T. P., LEUFKENS, H. G. & COOPER, C. 2002. The epidemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a meta-analysis. *Osteoporos Int*, 13, 777-87.
- VOLBERDING, P. A. & DEEKS, S. G. 2010. Antiretroviral therapy and management of HIV infection. *Lancet*, 376, 49-62.
- WADA, N. I., JACOBSON, L. P., MARGOLICK, J. B., BREEN, E. C., MACATANGAY, B., PENUGONDA, S., MARTINEZ-MAZA, O. & BREAM, J. H. 2015. The effect of HAART-induced HIV suppression on circulating markers of inflammation and immune activation. *Aids*, 29, 463-71.
- WALLIS, R. S., KALAYJIAN, R., JACOBSON, J. M., FOX, L., PURDUE, L., SHIKUMA, C. M., ARAKAKI, R., SNYDER, S., COOMBS, R. W., BOSCH, R. J., SPRITZLER, J., CHERNOFF, M., AGA, E., MYERS, L., SCHOCK, B. & LEDERMAN, M. M. 2003. A study of the immunology, virology, and safety of prednisone in HIV-1-infected subjects with CD4 cell counts of 200 to 700 mm<sup>-3</sup>. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 32, 281-6.
- WALMSLEY, S. L., ANTELA, A., CLUMECK, N., DUCULESCU, D., EBERHARD, A., GUTIERREZ, F., HOCQUELOUX, L., MAGGILOLO, F., SANDKOVSKY, U., GRANIER, C., PAPPA, K., WYNNE, B., MIN, S. & NICHOLS, G. 2013. Dolutegravir plus abacavir-lamivudine for the treatment of HIV-1 infection. *N Engl J Med*, 369, 1807-18.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2007. *WHO Case Definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children* [Online]. Genua, Schweiz. Available: <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/HIVstaging150307.pdf> [Accessed 10.01.2018].
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2014. *Global Health Observatory (GHO) data - Density of physicians* [Online]. Available: [http://www.who.int/gho/health\\_workforce/physicians\\_density/en/](http://www.who.int/gho/health_workforce/physicians_density/en/) [Accessed 09.05.2018].
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2015. *The top 10 causes of death* [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index1.html> [Accessed 17.01.2018].
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2017. *HIV/AIDS Fact Sheet* [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/> [Accessed 16.01.2018].
- XIE, J., QIU, Z., HAN, Y., LI, Y., SONG, X. & LI, T. 2016. [The correlation between HLA-DR or CD38 expression in CD8(+)T cells and CD4(+)T cells count in treatment-naive HIV/AIDS patients]. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, 55, 36-9.

## **Lebenslauf**

### **Schulbildung:**

09.1999 – 06.2003      Grundschule Weihenzell  
09.2003 – 06.2011      Platen Gymnasium Ansbach

### **Studium:**

10.2011 – 05.2012      Medizinisches Vorbereitungsjahr, McDaniel College  
Budapest  
09.2012 – 06.2014      Medizinstudium, Semmelweis Universität Budapest  
02.07.2014              Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
10.2014 – 02.2015      Medizinstudium, TU Dresden  
04.2015 – 05.2019      Medizinstudium, Julius-Maximilians-Universität  
Würzburg  
12.10.2017              Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
09.05.2019              Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

### **Praktika:**

05.2010                  Pädiatrische Praxis Dr. Heidingsfelder, Ansbach  
06.2010                  Chirurgisch-orthopädische Gemeinschaftspraxis  
Ansbach  
06.2011                  Viszeral- & Unfallchirurgie, Klinikum Neuendettelsau  
  
06. – 07.2012              Pflegepraktikum, Nephrologie, Klinikum Ansbach  
06. – 07.2013              Pflegepraktikum, Pädiatrie, Universitätsklinikum  
Würzburg  
02. – 03.2015              Famulatur, Neurologie, Universitätsklinikum  
Würzburg  
08. – 09.2015              Famulatur, Internistische Notaufnahme, Klinikum  
Starnberg  
03.2016                  Famulatur, Hausarztpraxis Dr. Heckel,  
Margetshöchheim

02. – 03.2017	Famulatur, Kardiologie, Isar Herz Zentrum, Isarklinikum München
06.2017	Kinderkardiologie-Seminar der Kinderklinik Universität Würzburg
05. – 09.2018	1. PJ-Tertial Innere Medizin, Universitätsklinikum Augsburg (Erwerb des Augsburger Hygienepasses)
09. – 11.2018	2. PJ-Tertial Chirurgie, Hadassah University Hospital Jerusalem, Israel
11. – 12.2018	2. PJ-Tertial Chirurgie, Mayo University Hospital Castlebar, Irland
01. – 04.2019	3. PJ-Tertial Anästhesiologie, Klinikum Garmisch- Partenkirchen

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt

Herrn Prof. Dr. C. Scheller für die Überlassung des Themas, die freundliche und hilfsbereite Betreuung während der experimentellen Phase und dem Verfassen der Arbeit und die Übernahme des Erstgutachtens.

Herrn Prof. Dr. M. Lutz für die Übernahme des Zweitgutachtens.

allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Arbeitsgruppen Scheller für ihre Hilfsbereitschaft und das freundliche Arbeitsklima. Insbesondere bedanke ich mich bei N. Averbek für die gute Zusammenarbeit im Labor.

meiner Familie für ihre Unterstützung während meines gesamten Studiums.