

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II

der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. H. Einsele

Untersuchungen zu Uridinplasmaspiegeln

bei HIV-Patienten und Probanden

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt

von Roland Eckert

aus Neu-Ulm

Würzburg, Februar 2008

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Peter Langmann

Koreferent: Prof. Dr. med. Axel Rethwilm

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 04.07.2008

Der Promovend ist Arzt.

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
1.1	Historisches	1
1.2	Langzeitnebenwirkungen und Mitochondriale Toxizität	2
1.3	Klinisches Spektrum mit potenzieller mitochondrialer Beteiligung	7
1.4	Fragestellung	12
2	ABKÜRZUNGEN	13
3	METHODIK UND PATIENTEN	16
3.1	Methode zur Bestimmung des Uridinplasma­spiegels	16
3.2	Beobachtungszeitraum.....	19
3.3	Patientenkollektiv	19
3.4	Kontrollgruppe.....	21
3.5	Statistische Methoden.....	22
4	ERGEBNISSE	25
4.1	Demografie von Patientenkollektiv und Kontrollgruppe	25
4.2	Status der HIV-Erkrankung.....	26
4.3	Antiretrovirale Therapie	27
4.4	Klinische Befunde	29
4.5	Klinisch-chemische Parameter bei unterschiedlichen Therapieregimen.....	32
4.6	Anzahl und Verteilung der Uridin-Messungen pro Patient bzw. Proband.....	36
4.7	Vergleich der Uridinmittelwerte bei einmaliger und mehrmaliger Messung..	37
4.8	Verteilung der Uridinspiegel	38
4.9	Vergleich der Uridinspiegel von HIV-Patienten und Kontrollgruppe.....	38
4.10	Demografische Daten und Uridin.....	39
4.11	HIV-Status und Uridin.....	41
4.12	Klinische Befunde und Uridin.....	43
4.13	Vergleich der Uridinspiegel von Patienten mit unterschiedlichen Therapieregimen.....	45
4.14	Uridinspiegel von Patienten mit und ohne Begleiterkrankungen in verschiedenen Therapiegruppen.....	47

4.15	Uridin und chemisch-klinische Befunde	49
4.16	Multiple Regression klinischer Befunde, Medikation und Laborwerte	50
4.17	Verlauf der Uridinspiegel im 1. Beobachtungszeitraum	50
4.18	Uridinspiegel im Follow-up nach Therapiewechsel	56
5	DISKUSSION	58
5.1	Überblick über Stoffwechsel und biologische Funktionen von Uridin	58
5.2	Uridinspiegel der Kontrollgruppe und des Patientenkollektivs.....	59
5.3	Uridinmittelwerte bei einmaliger und mehrmaliger Messung.....	61
5.4	Zusammenhänge zwischen Uridin und demografischen Daten	61
5.5	Zusammenhänge zwischen Uridin und Alkohol- und Tabakkonsum	61
5.6	Zusammenhänge zwischen Uridin und HIV-Status	62
5.7	Zusammenhänge zwischen Uridin und Begleiterkrankungen	62
5.8	Zusammenhänge zwischen Therapieregime und Uridin	66
5.9	Zusammenhänge zwischen Therapieregime, Begleiterkrankungen und Uridin.....	68
5.10	Zusammenhänge zwischen klinisch-chemischen Parametern und Uridin	69
5.11	Diskussion der multiplen Regression	71
5.12	Uridinspiegel im Verlauf bei unterschiedlichen Therapiegruppen.....	71
5.13	Diskussion der Uridinspiegel im Follow-up.....	74
6	ZUSAMMENFASSUNG	75
7	LITERATURVERZEICHNIS	77

1 Einleitung

1.1 Historisches

“It was in June of 1981, on Ward 3B. We saw a young gay man with the most devastating immune deficiency we had ever seen. We said, we don't know what this is, but we hope we don't ever see another case like it again”.

Worüber Dr. Broder vom National Institute of Healthcare in Michigan hier berichtete, war der Fall eines zuvor gesunden 35-jährigen Patienten, der an einer Pneumocystis-Pneumonie, einer Mycobakterium avium Tuberkulose, einer CMV-Infektion und an einer Candida-Ösophagitis erkrankt war. In den folgenden Monaten erschienen noch mehrere Berichte über das unerwartete Auftreten von Pneumocystis-Pneumonien und Kaposi-Sarkomen bei homosexuellen Männern sowie über ähnliche Krankheitsbilder bei i.v. Drogenkonsumenten, Empfängern von Bluttransfusionen und Hämophilie-Patienten.

Im Jahr 1983 isolierten Luc Montagnier und Robert Gallo erstmals das HI-Virus, dessen ursächliche Rolle für dieses neue erworbene Immundefizienz-Syndrom, kurz AIDS, ein Jahr später aufgezeigt werden konnte.

Die Ära der antiretroviralen Therapie begann 1986 mit Zidovudin (AZT), einem nukleosidanalogen Reverse Transkriptase-Inhibitor (NRTI) mit nachgewiesener klinischer Wirksamkeit bei fortgeschrittener HIV-Infektion. Zusammen mit den 1996 eingeführten Proteaseinhibitoren (PI) und den nicht-nukleosidanalogen Reverse Transkriptase-Inhibitoren (NNRTI) sind NRTIs wichtiger Bestandteil der sogenannten hochaktiven antiretroviralen Therapie (HAART), die mehrere Medikamente aus diesen 3 Klassen kombiniert. Mit HAART gelang ein dramatischer Rückgang der Mortalität von HIV-Patienten, so dass sich in Ländern, deren Gesundheitssystem sich HAART leisten kann, das Bild der HIV-Infektion von einer tödlichen zu einer meist chronischen, behandelbaren Erkrankung gewandelt hat. Die verlängerte Überlebenszeit der Patienten und die breite Anwendung von HAART führte zu einer Zunahme von Langzeitnebenwirkungen, so dass das Verständnis ihrer zugrunde liegenden Mechanismen an Bedeutung gewann.

1.2 Langzeitnebenwirkungen und Mitochondriale Toxizität

1.2.1 Mitochondriale Toxizität durch NRTIs - Die Polymerase- γ -Hypothese

Für einige der Langzeitnebenwirkungen wird die Medikamentenklasse der NRTIs verantwortlich gemacht. Pathophysiologisch wird dabei der mitochondrialen Toxizität der NRTIs eine entscheidende Rolle zugeordnet. Zu den durch mitochondriale Toxizität verursachten Stoffwechsel- und Organveränderungen werden Hepatotoxizität, Hyperlaktämie/Laktatazidose, Myopathie, Polyneuropathie, Lipoatrophie, Pankreatitis, hämatologische Toxizitäten und weitere gezählt (siehe Kapitel 1.3) [1-7].

NRTIs werden durch intrazelluläre Phosphorylierung in aktivierte Triphosphatderivate in ihre wirksame Form überführt. Sie konkurrieren mit physiologischen Nukleotiden um den Einbau in virale DNA durch die Reverse-Transkriptase von HIV und führen als falscher Nukleotidbaustein zum Kettenabbruch und damit zur Hemmung der Virusreplikation. Als einzige menschliche DNA-Polymerase ist die Polymerase γ (Pol- γ) nicht in der Lage, zwischen natürlichen Nukleotiden und triphosphorylierten NRTIs zu unterscheiden, und kann somit auch durch NRTIs gehemmt werden [8].

Die Pol- γ kommt nur in Mitochondrien vor und dient der Replikation und Reparatur der in mehreren Kopien vorliegenden mitochondrialen DNA (mtDNA). Die mtDNA kodiert unter anderem für 13 Untereinheiten der Atmungskette, so dass zur Energieproduktion bzw. zur Aufrechterhaltung sämtlicher energieabhängigen Funktionen einer Zelle eine fortlaufende Pol- γ -vermittelte Synthese mitochondrialer DNA nötig ist [9]. Die Inhibition der Pol- γ durch NRTIs kann durch Depletion mitochondrialer DNA (d.h. Verminderung der Anzahl der mtDNA-Kopien) zu einer erniedrigten mtDNA-, RNA- und Proteinsynthese führen, wodurch eine mitochondriale Dysfunktion entsteht [10].

Die Inhibition der Pol- γ ist dabei nicht bei jedem NRTI gleich stark, sondern ist bei den dideoxy-NRTIs ddC, ddI und d4T am stärksten ausgeprägt [11, 12]. AZT nimmt eine Sonderrolle ein, da es auch durch andere Mechanismen eine mitochondriale Toxizität aufweist [13-15]. Zudem kann in vivo ein Teil von AZT in d4T umgewandelt werden [16]. 3TC, ABC und TDF verfügen über eine nur sehr geringe mitochondriale Toxizität, die wahrscheinlich zu vernachlässigen ist [12]. Die Pol- γ -Hypothese liefert ein Rahmenmodell, das verschiedene gewebespezifische Langzeitnebenwirkungen der NRTIs durch deren mitochondriale Toxizität als Hauptmechanismus zu erklären versucht [1-4]. Die NRTI-Toxizität auf zellulärer- und letztendlich auch auf Organebene ist demnach

die Folge eines mitochondrialen Funktionsverlusts, der dann auftritt, wenn die Menge an mtDNA eine kritische Grenze unterschreitet, ab der die Produktion von RNA bzw. der mitochondrial kodierten 13 Untereinheiten der Atmungskette nicht mehr ausreichend ist, den Energiebedarf einer Zelle zu decken.

1.2.2 Mitochondriale Toxizität durch NRTIs - Dysfunktion der Pyrimidinbiosynthese

Inzwischen liegen vermehrt Hinweise vor, dass NRTI-assoziierte mitochondriale Toxizität nicht nur auf einer Dysfunktion der Atmungskette durch Depletion mitochondrialer DNA beruht, sondern dass NRTIs auch über andere Mechanismen zu einer mitochondrialen Dysfunktion führen können.

Zahlreiche Stoffwechselfunktionen sind abhängig von einer regelrechten Funktion der Atmungskette. Ein Enzym der de novo-Synthese von Pyrimidinen, die Dihydroorotsäure-Dehydrogenase (DHODH), ist an der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert [17]. Die DHODH katalysiert die Oxidation von Dihydroorotat zu Orotat, aus dem Uridinmonophosphat (UMP) als Grundbaustein für die weiteren Pyrimidin-Nukleotide, Cytidinmonophosphat (CMP) und Thymidinmonophosphat (TMP) synthetisiert wird. Via Ubiquinon (ein Bestandteil der Atmungskette) bezieht die DHODH die benötigten Elektronen für die Oxidation von Dihydroorotat zu Orotat. Die Pyrimidin de-novo-Synthese ist somit funktionell an die Atmungskette gekoppelt [18]. Eine Dysfunktion der Atmungskette kann daher zu einer Störung Pyrimidin-de-novo-Synthese mit intrazellulär verminderten Uridinspiegeln führen [19].

Uridin ist unabkömmlich für ein normales Zellwachstum: Menschliche Zellen, die durch pharmakologische Blockade oder einen genetischen Defekt sehr wenig oder gar keine mtDNA enthalten, verfügen über keine ausreichende de novo-Pyrimidinsynthese. Daher muss Uridin (1- β -d-ribofuranosyluracil) als Vorläufer der weiteren Pyrimidin-Nukleotide substituiert werden, um distal des DHODH-Blocks deren Synthese zu ermöglichen [20, 21].

Uridin wurde bisher therapeutisch zur Behandlung der hereditären Orotazidurie angewandt, die auf einem Enzymdefekt in der de novo-Pyrimidinbiosynthese beruht. Diese Erbkrankheit ist durch megaloblastäre Anämie, Leukopenie, retardiertes Wachstum und verstärkte Orotsäureausscheidung charakterisiert. Eine tägliche Zufuhr von 2-4 g Uridin führt bei diesen Patienten zu einem Verschwinden der Symptome, indem der Block im

Biosyntheseweg umgangen wird und die Zellen mit den nötigen Pyrimidin-Nukleotiden versorgt werden. Weitere Anwendungsgebiete von Uridin liegen unter anderem in der Krebstherapie, wo durch Uridin die hämatopoetische und gastrointestinale Toxizität von 5-FU abgemildert werden kann.

Auch in der HIV-Therapie gibt es Ansätze für eine therapeutische Anwendung von Uridin. Hintergrund ist folgender hypothetisierter Pathomechanismus:

Die durch NRTIs hervorgerufene mitochondriale Dysfunktion führt zu einer Depletion des intrazellulären Pyrimidinpools durch Hemmung der de novo-Pyrimidinbiosynthese (s.o.). Durch den Mangel an Pyrimidin-Nukleotiden erhöht sich die relative Konzentration pyrimidinanaloger NRTIs an der Pol- γ , die mit körpereigenen Pyrimidin-Nukleotiden dort kompetitieren. Ein Teufelskreis schließt sich mit der Folge einer verstärkten mitochondrialen Toxizität der NRTIs.

In der HIV-Therapie gibt es in vitro wie auch in vivo Hinweise, die auf eine mögliche Störung des Pyrimidinstoffwechsels und auf einen therapeutischen Nutzen durch die Substitution mit Vorläufern von Pyrimidin-Nukleotiden wie Uridin hindeuten:

In vitro konnte die hämatopoetische Toxizität von AZT durch Uridin gemildert werden [22]. Neuronen, die unter ddC-Exposition einen verminderten mtDNA-Gehalt entwickelten, zeigten nach Uridinsubstitution ein über 50% stärkeres Wachstum als Neuronen unter ddC-Exposition ohne Uridin [23]. Bei Hepatozyten und Adipozyten konnten vermindertes Zellwachstum, mtDNA-Depletion und Dysfunktion der Atmungskette, die durch die Pyrimidin-Analoga AZT, ddC und d4T verursacht wurden, durch Uridin aufgehoben werden [22-25]. Auch im Mausmodell konnte AZT-induzierte mitochondriale Myopathie und Steatohepatitis durch Uridin normalisiert werden [26, 27]. Bei HIV-Patienten konnten Langzeitnebenwirkungen wie Lipoatrophie und Hepatotoxizität, die mit mitochondrialer Toxizität von Pyrimidin-Analoga in Verbindung gebracht werden, durch Uridinsubstitution gemildert werden [28-30]. Ein Fallbericht beschreibt eine nach oraler Uridinsubstitution aufgetretene deutliche Verbesserung von Myalgien, massiver Fettleber und Hyperlaktatämie innerhalb von 2 Wochen bei einem HIV-Patienten mit dideoxy-NRTI-haltigem Therapieregime [31].

1.2.3 Mitochondriale Toxizität durch das Hepatitis C-Virus

In westlichen Industrienationen sind 16-24% der HIV-Patienten mit dem Hepatitis C Virus (HCV) koinfiziert [32, 33]. Patienten, die mit HCV koinfiziert sind, brechen im

ersten Therapiejahr fast doppelt so häufig eine antiretrovirale Therapie ab wie HIV-Monoinfizierte [34]. Dabei besteht ein additiver Effekt aus HCV-Koinfektion und HAART-induzierter Toxizität hinsichtlich der Morbidität dieser Patienten. Mit mitochondrialer Toxizität assoziierte Komplikationen der HAART wie Lipoatrophie und Hyperlaktatämie/Laktatazidose sind bei Koinfektion mit HCV häufiger anzutreffen als bei Monoinfektion mit HIV [35].

Auch bei HCV finden sich Hinweise auf mitochondriale Toxizität: Barbaro et al. wiesen in Leberbiopsien von 75 mit HCV infizierten Patienten in über 50% der Fälle zahlreiche ultrastrukturelle Veränderungen in den Mitochondrien nach [36]. Bei Genotyp 1b ließen sich bei 90 % der Biopsate Veränderungen nachweisen, außerdem war im Gegensatz zu Genotyp 2a/2c und 3a auch der mtDNA-Gehalt vermindert.

Verucchi et al. fanden bei 39 mit HIV/HCV koinfizierten Patienten in allen Leberbiopsaten behandelter Patienten und bei 3 von 5 unbehandelten Patienten mitochondriale Abnormalitäten [37]. De Mendoza et al. zeigten auf, dass bei HIV-Patienten eine Koinfektion mit HCV und/oder HBV mit einem stärkeren Abfall der mtDNA in PBMC verbunden war, als bei nur mit HIV infizierten Patienten [38]. Auch im Vergleich zur HCV-Monoinfektion zeigen HIV/HCV Koinfizierete verringerte mtDNA in Hepatozyten [39]. Dieselbe Arbeitsgruppe konnte belegen, dass die HCV-Infektion allein zu einer signifikanten Verminderung der mtDNA in PBMC führte, die bei mit PEG-Interferon und Ribavirin behandelten Patienten ausgeprägter vorhanden war [40]. Es kommen mehrere Mechanismen in Frage, durch die HCV mitochondriale Dysfunktion induzieren könnte:

Es besteht ein unmittelbarer Effekt viraler Proteine auf Mitochondrien. Das HCV-Core-Protein verursacht sowohl direkt als auch indirekt durch Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies mitochondriale Schäden, was auch zu verminderter Aktivität der Atmungskette führen kann [41-43].

Des Weiteren wird persistierender oxidativer Stress, der sekundär zu mitochondrialer Dysfunktion führen könnte, in Betracht gezogen. Die Replikation von HCV sowie Entzündungszellen setzen Sauerstoffradikale frei und können dadurch mitochondriale Strukturen beeinträchtigen [44]. Zudem sind mitochondriale Veränderungen durch oxidativen Stress mit einem verringerten Glutathion-Gehalt in den Hepatozyten assoziiert, das ein wichtiges zelluläres Antioxidans darstellt [45].

Auch die Pol- γ wird durch Sauerstoffradikale in ihrer Aktivität gehemmt, was sowohl Quantität wie auch Qualität mitochondrialer DNA vermindern könnte [46].

Zusätzlich aktivieren zytotoxische T-Zellen (CTL) das Apoptose-induzierende FAS-System, das auch mitochondriale Schäden verursacht. Mit HCV infizierte Zellen exprimieren verstärkt den FAS-Rezeptor [35].

1.2.4 Mitochondriale Toxizität durch das HI-Virus

Auch die HIV-Infektion per se kann zu mitochondrialer Toxizität beitragen. In unterschiedlichen Geweben therapienaiver HIV-Patienten wurde ein niedrigerer mtDNA-Gehalt nachgewiesen, als bei nicht infizierten Kontrollpersonen [38, 47-52].

Der Beginn einer antiretroviralen Therapie kann daher auch mit einem Anstieg eines zuvor verminderten mtDNA-Gehalts verbunden sein, was durch eine Abnahme der mitochondrialen Schädigung in PBMCs durch eine geringere Viruslast im Blut erklärt werden könnte [51].

Coté et al. wiesen in PBMC von 47 Therapie-naiven HIV-Patienten einen signifikanten Abfall des mtDNA-Gehalts nach (um 44%) im Vergleich zu einer nicht infizierten Kontrollgruppe (n=24) [50].

Auch Muskel- und Nervenbiopsien unbehandelten Patienten mit HIV-assoziiierter Myopathie und distal-sensibler Polyneuropathie zeigten verminderte mtDNA, ultrastrukturelle mitochondriale Abnormalitäten oder Störungen der Atmungskette [47, 48]. Diese Veränderungen gleichen Beobachtungen, die in vitro, im Tiermodell sowie in menschlichen Muskel- und Nervenzellen unter NRTI-Exposition gemacht wurden [6].

In Adipozyten unbehandelter HIV-Patienten wurde ebenfalls ein verminderter mtDNA-Gehalt beschrieben [49, 53]. Pathogenetisch spielt eine direkte mitochondriale Schädigung durch virale Genprodukte eine Rolle.

Virale Proteine wie TAT verursachen bei Mäusen mitochondriale Schädigungen und Cardiomyopathie [54]. HIV-vpr wirkt durch Interaktion mit mitochondrialen Membranen Apoptose auslösend [55, 56]. Aber auch infolge der HIV-Infektion veränderte Zytokinmuster, wie erhöhte TNF- α und Interferon- α Spiegel, werden mit der mitochondrialen Toxizität von HIV in Verbindung gebracht [6].

1.3 Klinisches Spektrum mit potenzieller mitochondrialer Beteiligung

1.3.1 Myopathie

Myopathie war die erste Nebenwirkung, die mit mitochondrialer Toxizität von NRTIs in Verbindung gebracht wurde [57]. Sie tritt vor allem unter der Einnahme von AZT auf, das eine gewebespezifische Toxizität für quergestreifte Muskulatur aufweist und sowohl Myokard als auch Skelettmuskulatur betreffen kann [58, 59]. Von der durch HIV verursachten Myopathie kann sie histologisch durch ultrastrukturell veränderte Mitochondrien und red ragged fibers abgegrenzt werden [60]. Die Toxizität von AZT auf quergestreifte Muskulatur wird weniger durch Inhibition der Pol- γ , als vielmehr durch Interaktion mit anderen mitochondrialen Strukturen und Enzymsystemen bewirkt, die in den zellulären Energiehaushalt involviert sind [13, 14, 61, 62]. Inzwischen ist diese Nebenwirkung durch den selteneren Einsatz und niedrigere Dosierungen von AZT eher selten [63].

1.3.2 Hyperlaktatämie, Laktatazidose und Fettleber

Störungen der Laktathomöostase reichen von der klinisch asymptomatischen, kompensierten Hyperlaktatämie mit Laktatwerten bis 2,5 Mmol/l über die symptomatische Hyperlaktatämie bis zur „dekompensierten“, lebensbedrohlichen Laktatazidose mit mikrovesikulärer Steatose und Laktatwerten von über 10 Mmol/l [64]. Die asymptomatische Hyperlaktatämie, die bei bis zu 15 % aller behandelten HIV-Patienten auftritt, stellt im Gegensatz zu der mit ca. 4 Fällen pro 1000 NRTI-Patientenjahre auftretenden Laktatazidose ein relativ häufiges Ereignis dar [65, 66].

Die Hyperlaktatämie bzw. Laktatazidose ist mit der Einnahme von NRTIs assoziiert, insbesondere mit den dideoxy-NRTIs d4T und ddI [65-67]. Die erhöhten Laktatspiegel entstehen durch eine verstärkte anaerobe Energiegewinnung mit Laktat als Endprodukt der Glykolyse, da die Atmungskette und damit die oxidative Phosphorylierung in den Mitochondrien durch NRTIs gestört wird [64].

Neben vermehrter Laktatproduktion als Zeichen einer gestörten mitochondrialen Energiegewinnung gibt es weitere Hinweise, dass mitochondriale Toxizität in der Pathogenese der Hyperlaktatämie bzw. Laktatazidose eine wichtige Rolle spielt:

Coté et al. fanden bei mit dideoxy-NRTIs behandelten HIV-Patienten mit Hyperlaktatämie einen signifikant erniedrigten mtDNA-Gehalt in peripheren Blutzellen (PBMC) im Vergleich zu unbehandelten Patienten [50]. Bei 2 anderen Patientengruppen mit

Hyperlaktatämie konnten durch Absetzen der NRTIs ein Verschwinden der klinischen Symptome und eine Wiederherstellung des zuvor verminderten mtDNA-Gehalts in PBMCs und der Funktion der Atmungskette in Myozyten erreicht werden [68, 69].

Auch in Hepatozyten lassen sich mit Nukleosid-Analoga assoziierte Veränderungen nachweisen, die auf mitochondriale Toxizität hindeuten. Bei mehreren Patientengruppen mit Laktatazidose, die d4T, ddI, aber auch AZT einnahmen, zeigten sich eine mikro- oder makrovesikuläre Steatose, ultrastrukturelle Veränderungen der Mitochondrien und ein verminderter Gehalt an mitochondrial kodierten Untereinheiten der Atmungskette [70-75].

NRTI-assoziierte Hepatotoxizität findet sich aber auch bei klinisch unauffälligen Patienten ohne erhöhte Laktatspiegel [76]. In vitro und im Tierversuch führten dideoxy-NRTIs zur Depletion mitochondrialer DNA und verringerten die Expression mitochondrial kodierter Untereinheiten der Atmungskette [10, 77]. Bei 34 mit HIV/HCV koinfizierten Patienten, die dideoxy-NRTIs einnahmen, war der mtDNA-Gehalt von Hepatozyten im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe (n=38) signifikant erniedrigt [78]. Vor der Einführung der HAART lag die Prävalenz der Fettleber bei HIV-Patienten bei 30% [79]. Ob seit Einführung der HAART die Prävalenz der Fettleber unter HIV-Patienten über der der Allgemeinbevölkerung liegt, ist nicht bekannt [79].

1.3.3 Lipodystrophiesyndrom

Mit dem Lipodystrophie-Syndrom (LDS) werden während der HIV-Therapie auftretende Umverteilungen des Fettgewebes bezeichnet, die zusätzlich von metabolischen Veränderungen begleitet werden können [80]. Da eine weltweit einheitliche Definition bis heute fehlt, wird die Prävalenz des LDS sehr unterschiedlich bewertet. Carr et al. ermittelten eine Prävalenz von 4% bei Therapie-Naiven bis zu 83% bei Patienten unter HAART [81]. Phänomenologisch lässt sich eine Zunahme des zentralen stammnahen Fettgewebes (Lipoakkumulation) im Bereich des Abdomens, des Nackens und der Mammae von einem Verlust des peripheren subkutanen Fettgewebes im Gesicht, am Gesäß und an den Extremitäten (Lipoatrophie) unterscheiden. Beide Komponenten können unabhängig voneinander, aber auch simultan auftreten.

Neben morphologischen Störungen kommt es zu metabolischen Störungen. Diese betreffen vor allem den Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel, mit den Folgen Insulinre-

sistenz, Diabetes mellitus, Hypertriglyceridämie, Hypercholesterinämie und erniedrigtes HDL [80].

Inzwischen besteht vermehrte Evidenz, dass Lipoatrophie und Lipoakkumulation Resultate zweier zumindest teilweise unterschiedlicher pathophysiologischer Prozesse sind, wobei NRTIs, NNRTIs, und PIs sich in unterschiedlicher Ausprägung und durch unterschiedliche Mechanismen auf die Komponenten des Lipodystrophiesyndroms auswirken [82-84]. In einer Metaanalyse epidemiologischer Studien ergaben sich dementsprechend auch unterschiedliche Risikofaktoren für Lipoatrophie und Lipoakkumulation [85]: Neben gemeinsamen Risikofaktoren wie Therapiedauer, Alter und Markern des HIV-Status (niedrige CD4-Zellzahl, hohe Viruslast), war die Entwicklung einer Lipoakkumulation mit der Therapie mit PIs assoziiert, während für die Entwicklung einer Lipoatrophie die Therapie mit Thymidinanaloga (NRTIs wie d4T oder AZT) als Risikofaktor identifiziert wurde.

Pathophysiologisch spielt NRTI-induzierte mitochondriale Toxizität in der Entwicklung einer Lipoatrophie eine wichtige Rolle:

In subkutanem Fett von HIV-Patienten mit Lipoatrophie konnte ein signifikant verminderter mtDNA-Gehalt im Vergleich zu Patienten ohne Lipoatrophie nachgewiesen werden [49, 53, 86-91]. Dabei reduzierte sich mtDNA-Gehalt und subkutanes Fett stärker unter d4T als unter AZT und ddi [88-90, 92].

Auch die Funktion der mitochondrialen Atmungskette ist in Adipozyten von Patienten mit Lipoatrophie vermindert [90, 91, 93]. Durch einen Switch von d4T auf ABC/AZT, die eine geringere mitochondriale Toxizität aufweisen, kann es zu einem Anstieg von mtDNA, Erholung der Atmungskettenfunktion und Verbesserung der Lipoatrophie kommen [91]. Bei 20 HIV-negativen Probanden konnte nach 2-wöchiger Einnahme von d4T/AZT oder d4T/3TC eine verminderte mitochondriale Genexpression in Adipozyten festgestellt werden, was einen HIV-unabhängigen Effekt der NRTIs auf Adipozyten bestätigt [94].

Ob und auf welche Art und Weise jedoch mitochondriale Dysfunktion und ihre funktionalen Konsequenzen zum klinischen Bild Lipoatrophie beitragen oder dazu führen, ist noch nicht eindeutig geklärt. Leichte mitochondriale Dysfunktion könnte sowohl Fettaufnahme, Fettsynthese wie auch -export der Adipozyten beeinträchtigen, eine schwere

mitochondriale Dysfunktion würde zu Apoptose führen [95]. In vitro zeigte sich in Adipozyten unter den Pyrimidinanaloga d4T, ddC und AZT ein lipoatrophisches Zellbild mit mtDNA-Depletion, Dysfunktion der Atmungskette, vermehrter Apoptose und Fettverlust. Als Pathomechanismus wurde eine durch mitochondriale Toxizität von NRTIs induzierte Störung des intrazellulären Pyrimidinpools angenommen (siehe auch Kap.1.2.2) [25].

In einigen Studien konnte keine mtDNA-Depletion in Fettgewebe nachgewiesen werden. Neben mitochondrialer Toxizität spielen deshalb sicher auch andere Mechanismen eine Rolle, wie veränderte Zytokinmuster [96, 97]. Des Weiteren tragen wahrscheinlich auch PIs zur Entwicklung einer Lipoatrophie bei, da Lipoatrophie auch in NRTI-naiven Patienten unter PI-Therapie beobachtet wurde [98]. In vitro und in vivo wurde eine Störung der Adipozytendifferenzierung, Hemmung der Lipogenese und Stimulierung der Lipolyse durch PIs beobachtet [99-103].

1.3.4 Periphere Polyneuropathie

Bei HIV-Patienten werden mindestens 6 verschiedene Typen von peripheren Polyneuropathien (PNP) beobachtet, die durch die HIV, opportunistische Infektionen oder durch NRTIs verursacht werden [104]. Die medikamententoxische PNP tritt bei 10-35% aller HIV-Patienten und bei 11-66% aller HIV-Patienten unter NRTIs auf und ist die häufigste mit HIV assoziierte sensible Neuropathie [105]. Sowohl die medikamententoxische PNP, als auch die durch HIV verursachte PNP sind distal sensorische Neuropathien und können nur schwer voneinander unterschieden werden. Eine Abgrenzung ist aber durch den zeitlichen Zusammenhang mit dem Beginn einer Therapie mit NRTIs möglich, oder wenn sich die Symptome nach Absetzen der NRTIs bessern.

Das höchste Risiko für das Auftreten einer PNP (bei 25% aller Patienten) ist mit ddC verbunden, aber auch unter d4T (10%) und ddI (2%) ist die PNP keine seltene Nebenwirkung. D4T und ddI waren auch in der großen Johns Hopkins AIDS-Service Kohortenstudie mit einem erhöhten Risiko für PNP assoziiert. Eine Kombination von ddI mit d4T ergab mit einer Inzidenzrate von 17,5% ein 3,5x erhöhtes relatives Risiko im Vergleich zu den Einzelsubstanzen [106]. In Phase 1 Studien von ddC, ddI und d4T war das Auftreten einer PNP die dosislimitierende Nebenwirkung, wobei die Inzidenz von Dosis und Expositionsdauer abhing [107]. Das Risiko für PNP scheint dabei von Affinität der

NRTIs zur Pol- γ abzuhängen. Die höchste Toxizität besitzt ddC, das auch die höchste Affinität zur Pol- γ hat [108].

Es gibt inzwischen vermehrt Hinweise, dass die NRTI-assoziierte PNP durch mitochondriale Toxizität verursacht wird:

In vitro vermindern ddC und ddI den Gehalt mitochondrialer DNA, führen zu erhöhten intrazellulären Laktatspiegeln und zu zerstörten Mitochondrien in Nervenzellen [109]. Auch das Wachstum von Neuriten wird in vitro dosisabhängig durch ddC, ddI und d4T gehemmt [110]. Nervenbiopsien von Patienten mit ddC-assoziiierter PNP zeigten signifikant häufiger pathologisch veränderte Mitochondrien mit abnormaler Größe als die Kontrollgruppe, und der mtDNA-Gehalt war im Vergleich zu dieser um 80 % erniedrigt [111].

Mitochondriale Veränderungen werden aber auch in Nerven unbehandelter HIV-Patienten gefunden, so dass die NRTI-assoziierte PNP in einigen Fällen auch eine Demaskierung oder Exazerbation einer schon bestehenden mitochondrialen PNP darstellen könnte [112].

1.3.5 Pankreatitis

Pankreatitis tritt mit einer Häufigkeit von 1-7% unter der Therapie mit ddI auf [113, 114]. Sie kann isoliert auftreten, kann aber auch eine Manifestation einer NRTI-assoziierten Laktatazidose sein [115]. Auch unter der Therapie mit PIs wurden Fälle von Pankreatitis als Folge einer PI-induzierten Hypertriglyzeridämie beschrieben [7]. In Der Johns Hopkins AIDS-Service Kohortenstudie (n= 2613) traten 33 Fälle von Pankreatitis auf. Risikofaktoren für Pankreatitis waren AZT (sehr gering), ddI, d4T, und vor allem die Kombination aus ddI und Hydroxyurea mit einem 8x erhöhten Risiko [115]. Auch die ACTG 5025-Studie ergab ein erhöhtes Risiko für Pankreatitis mit einer Inzidenz von 4% unter d4T + ddI [116]. Für einen mitochondrialen Mechanismus in der Pathogenese NRTI-assoziierten Pankreatitis gibt es allerdings keine konkreten Hinweise.

1.4 Fragestellung

Langzeitnebenwirkungen der HAART werden unter anderem auf mitochondriale Toxizität von NRTIs zurückgeführt, die bei dideoxy-NRTIs am stärksten ausgeprägt ist. Neben antiretroviralen Medikamenten können aber auch das HI-Virus und wahrscheinlich auch das Hepatitis C-Virus selbst zu mitochondrialer Dysfunktion führen.

Wie mitochondriale Dysfunktion auf zellulärer Ebene zu den sehr unterschiedlichen gewebespezifischen Langzeitnebenwirkungen führt, ist noch nicht hinreichend geklärt. Ein weiterer Baustein in der Kette pathophysiologischer Prozesse, die letztendlich zu Langzeitnebenwirkungen führen, könnte die Störung der *de novo*-Pyrimidinsynthese durch eine NRTI-, eine HIV- oder HCV-assoziierte Dysfunktion der Atmungskette sein, an welche die Pyrimidinsynthese funktionell gekoppelt ist. Durch pharmakologische Blockade der Atmungskette konnten intrazellulär verminderte Uridinspiegel nachgewiesen werden.

In dieser Arbeit sollte die Frage geklärt werden, ob HIV-Patienten im Vergleich zu einer HIV-negativen Kontrollgruppe systemisch erniedrigte Uridinspiegel aufweisen.

Des Weiteren sollte im Patientenkollektiv untersucht werden, ob Faktoren, insbesondere diejenigen, die mit mitochondrialer Toxizität in Verbindung gebracht werden, einen Einfluss auf den Uridinplasmaspiegel haben. Besonderes Interesse galt daher der HIV-Erkrankung, dem Therapieregime, dem Verlauf des Uridinspiegels unter antiretroviraler Therapie sowie den Begleiterkrankungen bzw. Langzeitnebenwirkungen der HAART.

In einem Follow-up anschließend an den 1. Beobachtungszeitraum sollte überprüft werden, ob eine Therapieumstellung (ein Absetzen der dideoxy-NRTIs) einen Einfluss auf den Uridinplasmaspiegel haben kann.

Ferner wurde untersucht, ob Zusammenhänge zwischen klinisch-chemischen Parametern und Uridinplasmaspiegel bestehen.

2 Abkürzungen

3TC	Lamivudin (NRTI)
ABC	Abacavir (NRTI)
AP	Alkalische Phosphatase
ART	Antiretrovirale Therapie
ATVr	Atazanavir/Ritonavir (PI)
AZT	Zidovudin (NRTI)
Begleit-KH	Begleiterkrankungen
Billi	Gesamtbilirubin
BMI	Body Mass Index
BSA	Bovines Serumalbumin
CDC	Center for Disease Control
CI	Konfidenzintervall
CK	Creatinkinase
CMP	Cytidinmonohosphat
CMV	Cytomegalievirus
Crea	Creatinin
CRP	C reaktives Protein
d4T	Stavudin (NRTI)
ddC	Zalcitabin (NRTI)
ddI	Didanosin (NRTI)
DHODH	Dehydroorotsäure-Dehydrogenase
Dm	Diabetes mellitus
d-NRTI	Dideoxy-NRTI
EFV	Efavirenz (NNRTI)
FI	Fusionsinhibitor
FL	Fettleber
FosAPV	Fosamprenavir (PI)
FTC	Emtricitabin (NRTI)
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase

GOT	Glutamat-Oxalat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HAART	Hoch aktive antiretrovirale Therapie
HBV	Hepatitis B Virus
HCV	Hepatitis C Virus
HDL	High density lipoprotein
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HL	Hyperlaktatämie
ISTD	Interner Standard
LA	Lipoatrophie
LDH	Lakatdehydrogenase
LDL	Low density lipoprotein
LDS	Lipodystrophie
LH	Lipoakkumulation
log	Logarithmus
LPVr	Lopinavir/Ritonavir (PI)
mtDNA	Mitochondriale DNA
MW	Mittelwert
N	Anzahl
NNRTI	Nicht nukleosidanaloge Inverse Transkriptase Inhibitoren
NRTI	Nukleosidanaloge Inverse Transkriptase Inhibitoren
NVP	Nevirapin (NNRTI)
Pat.	Patient
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell
PI	Proteaseinhibitor
PNP	Distal sensible periphere Polyneuropathie
Pol- γ	Polymerase gamma
RNA	Ribonukleinsäure
SD	Standardabweichung
SE	Standardfehler
SQV	Saquinavir (PI)
TDF	Tenofovir (NRTI)

TG	Triglyzerid
Th	Therapie
TMP	Thymidinmonophosphat
UDP	Uridindiphosphat
UMP	Uridinmonophosphat
URD	Uridin
γ -GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
Zirr	Leberzirrhose

3 Methodik und Patienten

3.1 Methode zur Bestimmung des Uridinplasmaspiegels

Die Bestimmung der Uridinplasmaspiegel erfolgte im wissenschaftlichen Labor des Schwerpunktes Hepatologie und Infektiologie der Julius-Maximilians-Universität Würzburg nach der im folgenden kurz beschriebenen Methodik [117].

3.1.1 Reagenzien

Uridin (1- β -D-ribofuranosyluracil, C₉H₁₂N₂O₆, M_w: 244.2)

Oxypurinol (3,7-dihydro-H-purine-2,6-dione; C₅H₄N₄O₂, M_w:152.11)

Bovines Serumalbumin

Acetonitril

Kaliumdihydrogenphosphat

Phosphorsäure

Natriumhydroxid

Entmineralisiertes destilliertes Wasser

3.1.2 Chromatographie

Für die chromatographischen Analysen wurde ein HPLC-System von Beckman-Coulter Gold benützt, das über ein Pumpen-Modul (126 solvent delivery modul), einen Fotodi-
odenarray UV-Vis Detektor (Model 168 NM), einen Autosampler (Model 508) und
über einen Säulenofen (Model Jetstream 2 plus) verfügte.

Zur chromatographischen Auftrennung diente eine Phenomenex Aqua C18 5 μ 125A
Säule (Phenomenex, Aschaffenburg), die mit einer Vorsäule ausgestattet war (LC 18
security guard column, No ICJO4282). Die isokratische Elution wurde mit Kalium-
hydrogenphosphat als Puffer (0,67 M, eingestellt auf pH 4,0 mit Acetonitril) und einem
0,45 μ m Cellulosenitratmembranfilter (Schleicher & Schuell, Dassel) durchgeführt. Die
Flussrate lag bei 0,2 ml/min, die Temperatur betrug 30°C. Der PDA-Detektor wurde auf
260 nm eingestellt. Das Injektionsvolumen betrug bei allen Proben 100 μ l. Die Auto-
samplertemperatur wurde bei 4°C gehalten. Die Datenaufnahme erfolgte mit der Beck-
man-Coulter 32 Karat Software.

3.1.3 Vorratslösungen

24,42 mg Uridin wurden in einem 100 ml Messkolben in 0,67 M Kaliumhydrogenphosphat gelöst, um eine Endkonzentration von 100µmol/l zu erhalten. Die Lösung wurde bei -20 °C gelagert und war stabil für mindestens 3 Monate. Arbeitslösungen (in einem Konzentrationsbereich von 0,25- 100 µmol/l) wurden durch Verdünnen der Vorratslösung mit Kaliumhydrogenphosphat hergestellt.

3.1.4 Herstellung des internen Standards

Oxypurinol (10mg) wurde in destilliertem Wasser und 0,1 N NaOH gelöst, um eine Endkonzentration von 0,65 mmol/l zu erhalten. Diese Lösung war stabil für mindestens 5 Monate.

3.1.5 Kalibrierungsstandards

Aus 5 g Rinderalbumin und 100 ml destilliertem Wasser wurde eine Lösung mit einer abschließenden bovinen Serumalbumin-Konzentration (BSA) von 5% erstellt. Die Kalibrierungskurve bestand aus den BSA-Proben, die mit Uridin in acht unterschiedlichen Konzentrationen (0,25-100µmol/l) versetzt worden sind. Die Proben für die Kalibrierungskurven wurden am Tag des Gebrauchs in doppelter Ausführung für jeden analytischen Durchlauf hergestellt.

3.1.6 Sammlung der Proben

Die Blutabnahme fand nach Aufklärung und Zustimmung der Patienten vormittags in der Leber- und Infektionsambulanz der Medizinischen Klinik 2 der Universität Würzburg statt. Für die Blutabnahme wurden Sarstedt Monovetten benützt. Nach der Entnahme wurden die Proben im wissenschaftlichen Labor der Ambulanz zentrifugiert. Das Serum wurde 1 h bei 65°C inkubiert und anschließend bei -20 °C eingefroren. Zum Ausschluss einer Hämolyse wurden vorher Haptoglobin- und Laktatdehydrogenasespiegel im Serum bestimmt, da Erythrozyten ein Uridinreservoir darstellen.

3.1.7 Vorbereitung der Proben

Aliquots (0,5 ml) von BSA-Standards wurden mit den Serumproben und dem ISTD Oxypurinol in 1,5 ml Reaktionsgefäße pipettiert und kurz gevortext. Zur Proteinausfällung wurde 0,7 ml eiskaltes Acetonitril hinzugegeben, nochmals gevortext und bei 4 °C für 1 Stunde inkubiert. Nach 5 minütiger Zentrifugation bei 21g und 4°C wurde der

Überstand in einem 5 ml Reagenzglas bei 40°C im Stickstoffstrom getrocknet. Die Residuen wurden mit 0,5 ml 0,67 M Kaliumphosphatpuffer rekonstituiert und in Autosampler-Vials gefüllt. Der Autosampler wurde auf 4°C vorgekühlt, das Injektionsvolumen der Proben und Standards betrug 100µl.

3.1.8 Spezifität und Selektivität

Es bestanden keine Interferenzen zwischen den Retentionszeiten von Uridin und dem ISTD, allerdings nur unter der Voraussetzung, dass die Patienten kein Allopurinol einnahmen. Allopurinol kann endogen durch das Enzym Xanthinoxidase in Oxypurinol umgewandelt werden und beeinflusst daher den ISTD. Patienten, die Allopurinol einnahmen, wurden daher von der Untersuchung ausgeschlossen. Bei der Analyse der Serumproben von Patienten, die folgende antiretrovirale oder sonstige Medikamente erhielten, konnten keinerlei Interferenzen festgestellt werden, weder mit der Vorbereitungs- und Analysemethode der Proben, noch mit Uridin oder dem ISTD: Abacavir, Adefovir, Amprenavir, Ceftriaxon, Didanosin, Efavirenz, Fluconazol, Folsäure, Ganciclovir, Indinavir, Itraconazol, Lamivudin, Lopinavir, Methadon, Methotrexat, Nelfinavir, M8-Metabolite von Nelfinavir, Nevirapin, Oxazepam, Pyrazinamid, Ranitidin, Rifampicin, Ritonavir, Saquinavir, Lopinavir, Stavudin, Sulfamethoxazol, Sulfadoxin, Trimethoprim, Harnsäure, Zalcitabin und Zidovudin.

3.1.9 Präzision und Genauigkeit, Linearität und Reproduzierbarkeit

Für eine Uridinkonzentration von 5 µmol/l betrug die Tagesgenauigkeit 2,07%, die Präzision lag bei 4,41%. Die Zwischentagesgenauigkeit war unter 3%, die Zwischentagespräzision unter 4%. Die Kalibrierungskurve war linear im Bereich von 0,25-100µmol/l. Die Reproduzierbarkeit bei Uridinkonzentrationen von 0,25, 1, 5, 50 und 100µmol/l betrug $95 \pm 5,3\%$.

3.1.10 Nachweisbarkeitsgrenzen und Stabilität

Die Nachweisbarkeitsgrenze von Uridin im Serum lag bei 0,05µmol/l. Die untere Bestimmungsgrenze wurde bei 0,25µmol/l erreicht, die obere wurde vorerst auf eine Grenze von 100µmol/l festgelegt. Uridin war stabil für mindestens 24 Stunden bei 4°C und für mindestens 30 Tage bei -20°C.

3.2 Beobachtungszeitraum

Ein erster Beobachtungszeitraum erstreckte sich von September 2002 bis April 2004. In diesem Zeitraum erfolgte im Sinne einer prospektiven Querschnittsuntersuchung die Datenerhebung und Messung des Uridinplasma spiegels. Nach einer orientierenden Auswertung der Daten aus dem ersten Zeitraum wurde in einem Follow-up von Oktober 2004 bis Oktober 2005 bei Patienten, die ihre Therapie von d4T, ddI oder ddC auf andere NRTIs umgestellt hatten, nochmals Messungen des Uridinplasma spiegels durchgeführt.

3.3 Patientenkollektiv

In der Leber- und Infektionsambulanz des Schwerpunktes Hepatologie und Infektiologie der medizinischen Klinik und Poliklinik 2 finden jährlich etwa 3700 Behandlungen statt. Besondere Schwerpunkte der Ambulanz sind Leberzirrhosen verschiedenster Ursache, Lebertransplantationen, chronische Virushepatitiden und die HIV-Infektion. Das Patientenkollektiv wurde aus den über 250 HIV-Patienten, die dort regelmäßig betreut werden, erstellt.

3.3.1 Ein- und Ausschlusskriterien des Patientenkollektivs

Eingeschlossen ins Patientenkollektiv wurden alle Patienten der Leber- und Infektionsambulanz, die HIV-positiv waren.

Ausgeschlossen wurden HIV-positive Patienten, die zum Zeitpunkt der Datenerhebung Allopurinol einnahmen, Patienten, die einen Uridinspiegel von über 20 μ mol/l hatten, schwangere Patienten sowie HIV-negative Patienten.

Erfolgte bei Patienten während des 1. Beobachtungszeitraums eine Therapieumstellung, so galten folgende Regeln:

- Bei Änderung (d.h. Hinzu- oder Wegnahme einzelner antiretroviraler Medikamente) der antiretroviralen Therapie wurden diejenigen Messungen, die nach der Therapieumstellung erfolgten, ausgeschlossen.
- Erfolgte ein Absetzen der antiretroviralen Therapie, so wurden die Messungen vor dem Absetzen der Medikamente ausgeschlossen. Für die Messwerte nach Absetzen galt ein Mindestabstand von 3 Monaten, um eingeschlossen zu werden.

-
- Wurde innerhalb einer Messreihe eines Patienten eine Ribavirin/PEG-Interferon-Therapie begonnen oder beendet, so wurden die Messungen ohne Ribavirin/PEG-Interferon-Therapie ausgeschlossen.

3.3.2 Datenerhebung

Abhängig vom Stadium der HIV-Erkrankung und vom körperlichen Befinden der Patienten, im Durchschnitt aber alle 3 Monate, fanden ein ärztliches Gespräch und eine körperliche Untersuchung durch den Arzt der Ambulanz statt. Eine anschließende Blutabnahme diente zur Bestimmung klinisch-chemischer und hämatologischer Parameter (im Zentrallabor des Universitätsklinikums Würzburg), zur Bestimmung der Viruslast und CD4-Zellzahl (Institut für Virologie und Immunbiologie der Universität Würzburg) sowie zur Bestimmung der Uridinplasmaspiegel. Die Uridinspiegel wurden im wissenschaftlichen Labor des Schwerpunktes Hepatologie und Infektiologie der Universität Würzburg nach der in Kapitel 3.1 beschriebenen Methode bestimmt.

Aus den Krankenakten der Ambulanz wurden folgende Daten für jeden Patient erhoben:

- Alter und Geschlecht
- BMI
- Krankheitsstadium nach CDC und Zeitpunkt der Erstdiagnose von HIV
- Tabak- und Alkoholkonsum
Der Alkoholkonsum wurde in 3 Stufen erfasst: < 20g/d, 20-40g/d, > 40g/d
Der Tabakkonsum wurde in Zigaretten/d angegeben
- Viruslast und T-Helferzellen
- Antiretrovirale Therapie
Erfasst wurde die Einnahme aller Medikamente der Klassen PI, NNRTI, NRTI und FI am Tag der Blutentnahme zur Bestimmung des Uridinplasmaspiegels.
- Begleitmedikation: Therapie mit Ribavirin und PEG-Interferon.
- Klinisch-chemische und hämatologische Parameter:
Glukose, Creatinin, Harnsäure, Billirubin, ChE, GOT, GPT, γ -GT, GLDH, AP, LDH, CK, Amylase, Lipase, Laktat, Cholesterin, Triglyceride, LDL, HDL, Hb, CRP.
- Begleiterkrankungen und Langzeitnebenwirkungen der HAART:

-
- Lipodystrophiesyndrom
Die Erhebung wurde durch Anamnese und klinische Untersuchung des behandelnden Arztes durchgeführt. Dabei wurde unterschieden zwischen Lipotrophie, zentraler Lipoakkumulation und Mischbild aus beiden Komponenten.
 - PNP
Die Diagnose Polyneuropathie vom distal-sensiblen Typ wurde entweder durch Anamnese und klinische Untersuchung des behandelnden Arztes oder durch eine umfassende neurologische Untersuchung in der Neurologischen Klinik der Universität Würzburg gestellt.
 - Leberzellverfettung/Fettleber
Die Diagnose einer Leberzellverfettung/Fettleber wurde sonographisch gestellt.
 - Koinfektion mit Hepatitis B oder C
 - Diabetes mellitus
 - Leberzirrhose

3.4 Kontrollgruppe

Die gesunde Kontrollgruppe wurde erstellt aus Ärzten, wissenschaftlichen Mitarbeitern und Doktoranden der Leber- und Infektionsambulanz sowie aus gesunden Probanden. Pro Proband wurden mehrere (bis zu 6) Messungen durchgeführt.

Folgende Daten wurden erhoben:

- Alter, Geschlecht
- BMI
- Alkohol- und Tabakkonsum

3.5 Statistische Methoden

Zur Beschreibung der Ergebnisse wurden folgende Tests verwendet:

Zur Überprüfung auf eine Gauß'sche Normalverteilung wurde die Probitdarstellung nach Lilliefors verwendet.

Für die Prüfung einer Abhängigkeit zwischen zwei klassifizierten Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test nach der Maximum-Likelihood-Methode angewandt. Bei zu geringer Feldbesetzung, beziehungsweise bei zu geringen Erwartungswerten wurde bei einer 4-Felder-Tafel der exakte Chi-Quadrat-Test nach Fisher und Yates berechnet und bei größeren Tafeln der exakte Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel.

Mit dem U-Test nach Mann und Whitney, einem verteilungsfreien Test für den Vergleich der zentralen Tendenzen zweier unabhängiger Stichproben, wurde ein intervallskalierter Messwert zwischen zwei Gruppen verglichen.

Die einfaktorielle Rangvarianzanalyse nach Kruskal und Wallis ersetzte den U-Test, wenn drei oder mehr Gruppen zu vergleichen waren.

Mit der Kendall'schen Rangkorrelation wurde die Abhängigkeit zweier Variablen geprüft, die mindestens rangskaliert sein mussten. Angegeben wurde neben dem Korrelationskoeffizienten tau der p-Wert. Je näher der Korrelationskoeffizient an 1 oder -1 liegt, desto enger ist die Abhängigkeit der beiden Messungen. 0 besagt, dass keine Abhängigkeit besteht. Wenn der Korrelationskoeffizient negativ ist, handelt es sich um eine gegensinnige Abhängigkeit.

Die serielle Regression nach Jones und Boadi-Boateng wurde in Kapitel 4.17 zur Beschreibung und zum Vergleich der Verläufe des Uridinplasmaspiegels bei unterschiedlichem Therapieregime angewandt. Die serielle Regression nach Jones und Boadi-Boateng berechnet Korrelationen, wenn mehrere, pro Patient unterschiedlich viele Messungen vorliegen, die in zeitlich unregelmäßigen Abständen erhoben wurden. Das Verfahren kann auch auf den Vergleich der Korrelation zwischen mehreren Gruppen erweitert werden. Da diese serielle Korrelation eine Gauß'sche Normalverteilung voraussetzt, wurden die Variablen durch eine geeignete Transformation zuvor an eine Gauß-Verteilung angenähert. Bei Uridin erfolgte dies mit der Quadratwurzel.

Eine multiple (lineare) Regression wurde in Kapitel 4.16 angewandt. Die multiple Regression ist ein Verfahren zur Beschreibung des Einflusses von mehreren sogenannten Prädiktoren, zum Beispiel das Therapieregime, auf ein Kriterium, bei dieser Arbeit auf den Uridinplasmaspiegel. Das Ergebnis ist eine Schätzgleichung zur Voraussage des Kriteriums für eine Person durch die Prädiktor-Variablen. Zum Ergebnis wird weiter der multiple Korrelationskoeffizient r mit seinem p -Wert angegeben, der zur Beurteilung des Grades der Abhängigkeit des Kriteriums von den Prädiktoren, beziehungsweise zur Beurteilung der Güte der Vorhersage (= der Schätzgleichung) dient. Die inferenzstatistische Absicherung der multiplen Korrelation setzt voraus, dass alle beteiligten, kontinuierlichen Variablen multivariat normalverteilt sind. Diese Voraussetzung wird als erfüllt angesehen, wenn die einzelnen Prädiktor-Variablen in der Population normalverteilt sind. Liegen Prädiktor-Variablen in dichotomisierter Form vor (z. B. Fettleber ja/nein), so muss die Kriteriumsvariable (Uridin) für alle Kombinationen der dichotomisierten Prädiktor-Variablen normalverteilt und varianzhomogen sein. Um diese Voraussetzungen zu erfüllen, wurden die Variablen transformiert, beispielsweise mit Logarithmus, Wurzel usw.. Probanden, bei denen mehr als die Hälfte der Variablen fehlten, wurden aus der Regressionsanalyse ausgeschlossen. Bei den übrigen wurden die fehlenden Werte durch den Mittelwert aller anderen ersetzt.

Anmerkungen:

- B-Gewicht Faktor der Prädiktor-Variablen in der Schätz-Gleichung, abhängig von Einheit und Wert der Variablen
- Beta-Gewicht Normiertes B-Gewicht = Maß für tatsächlichen Einfluss eines Prädiktors auf das untersuchte Kriterium
- SE (beta) Streuung (Standard error) von Beta-Gewicht
- p (beta) Signifikanz von beta: p , dass $\beta=0$ ist.

Um die Testergebnisse quantitativ vergleichen zu können, wurden p -Werte berechnet. Ein p -Wert unter 0,05 wurde als signifikant bezeichnet und das Ergebnis wurde als wesentlich interpretiert.

Die p -Werte stellen keine Irrtumswahrscheinlichkeiten dar, sondern dienen zur Beurteilung und zum Vergleich der verschiedenen Testergebnisse.

3.5.1 Anmerkungen zur Auswertung in einigen Kapiteln

Zu Beginn der Auswertung werden die Mittelwerte der Uridinplasma Spiegel des Patienten- und Kontrollkollektivs einmal aus den Erstwerten der Messreihe eines jeden Patienten berechnet, und einmal aus den Mittelwerten der gesamten Messreihe eines jeden Patienten, siehe Kapitel 4.7. Falls kein signifikanter Unterschied zwischen dem Mittelwert aus Erstwerten und dem Mittelwert aus der zusammengefassten Messung einer Messreihe bestehen sollte, so erfolgt die weitere Auswertung mit den Erstwerten.

4 Ergebnisse

4.1 Demografie von Patientenkollektiv und Kontrollgruppe

4.1.1 Alter, Geschlecht, BMI

Insgesamt wurden 182 Patienten in die Untersuchung eingeschlossen. Das Patientenkollektiv setzte sich zusammen aus 126 männlichen (69%) und 56 weiblichen Patienten.

Zu Beginn der Auswertung (August 2002) waren die Patienten im Mittel 40.9 ± 8.8 Jahre alt, mit einer Spannweite von 22 bis 74 Jahren. Die Patientinnen waren mit 38.2 ± 8.6 Jahre jünger als die männlichen Patienten, die im Mittel 42.0 ± 8.7 Jahre alt waren.

Die Kontrollgruppe bildeten 19 männliche und 11 weibliche (37%) Personen. Das Altersmittel betrug 42.6 ± 15.9 Jahre mit einer Spanne von 21-75 Jahren. Die Männer waren im Mittel 40.6 Jahre, die Frauen 46.6 ± 16.1 Jahre alt.

Der BMI der HIV-Patienten lag zwischen 16.1 und 39.3 kg/m^2 , im Mittel bei $23.8 \pm 3.8 \text{ kg/m}^2$. Der Mittelwert der männlichen Patienten betrug $24.1 \pm 8.7 \text{ kg/m}^2$, der der Patientinnen $23.4 \pm 4.4 \text{ kg/m}^2$, ($p = 0.03$).

Der Body Mass Index der Probanden der Kontrollgruppe lag leicht darüber mit $25.4 \pm 4.0 \text{ kg/m}^2$, ohne signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern.

4.1.2 Tabak- und Alkoholkonsum

72 Patienten (41 %) gaben an, Alkohol zu trinken. 74 Patienten (45 %) waren Raucher. In Tab. 4-1 ist der Alkohol- und Tabakkonsum des Patientenkollektivs nach Konsummenge aufgeteilt dargestellt.

In der Kontrollgruppe wurde ein gelegentlicher Alkoholkonsum von 8 Probanden angegeben, 8 tranken gar keinen Alkohol, bei 14 war keine Angabe vorhanden. 2 Probanden waren Raucher.

	Konsum	Menge	Anzahl	% der Gesamtzahl
Alkohol	nein		104	59,1%
	ja		72	40,9%
		bis 20g/d	40	22,7%
		bis 40g/d	15	8,5%
		über 40g/d	17	9,7%
fehlende Angabe			6	3,3%
Rauchen	nein		92	55,4%
	ja		74	44,6%
		bis 10/d	19	11,4%
		bis 20/d	38	22,9%
		bis 40/d	16	9,6%
	über 40/d	1	0,6%	
fehlende Angabe			16	8,8%

Tab. 4-1: Tabak- und Alkoholkonsum. Konsummenge, Anzahl und Prozent der HIV-Patienten.

4.2 Status der HIV-Erkrankung

Die HIV-Infektion war zum Zeitpunkt der ersten Blutabnahme des jeweiligen Patienten im Mittel seit $6,7 \pm 5,3$ Jahren bekannt. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung befanden sich 100 Patienten (54,3%) im Stadium A, 51 Patienten (27,7%) im Stadium B, und 33 Patienten (17,9%) im Stadium C der CDC-Klassifikation. Die Mittelwerte und Mediane der CD4-Zellzahl und der Viruslast der Patienten sind in Tab. 4-2 dargestellt. Bei 103 Patienten (56,6%) lag die HI-Viruslast unter der Nachweisgrenze von 20 copies/ μ l.

CDC		N	Mittelwert	SD	Median
A	CD4-Zellen (Zellen/ μ l)	98	536	303	470
	Viruslast (copies/ μ l)	98	47328	394430	20
B	CD4-Zellen (Zellen/ μ l)	51	498	269	493
	Viruslast (copies/ μ l)	51	1579	6792	20
C	CD4-Zellen (Zellen/ μ l)	33	349	244	274
	Viruslast (copies/ μ l)	33	10873	59115	20
Insgesamt	CD4-Zellen (Zellen/ μ l)	182	491	290	453
	Viruslast (copies/ μ l)	182	27898	290615	20

Tab. 4-2: CD4-Zellzahl und Viruslast bezogen aufs CDC-Stadium.

4.3 Antiretrovirale Therapie

Abb. 4-1 zeigt die prozentuale Verteilung der HIV-Patienten auf 4 unterschiedliche Therapiegruppen. 43 Patienten (23,6%) bekamen während des Beobachtungszeitraums eine Kombinationstherapie, die dideoxy-NRTIs enthielt. 111 Patienten (61%) erhielten eine Kombinationstherapie mit NRTIs, aber ohne dideoxy-NRTIs. 7 Patienten (3,8%) nahmen keine NRTIs ein, sondern nur PIs und NNRTIs. Bei 21 Patienten (11,5%) erfolgte keine antiretrovirale Therapie. Von diesen waren 16 (76,2%) therapienaiv und 5 (23,8%) befanden sich in einer Therapiepause.

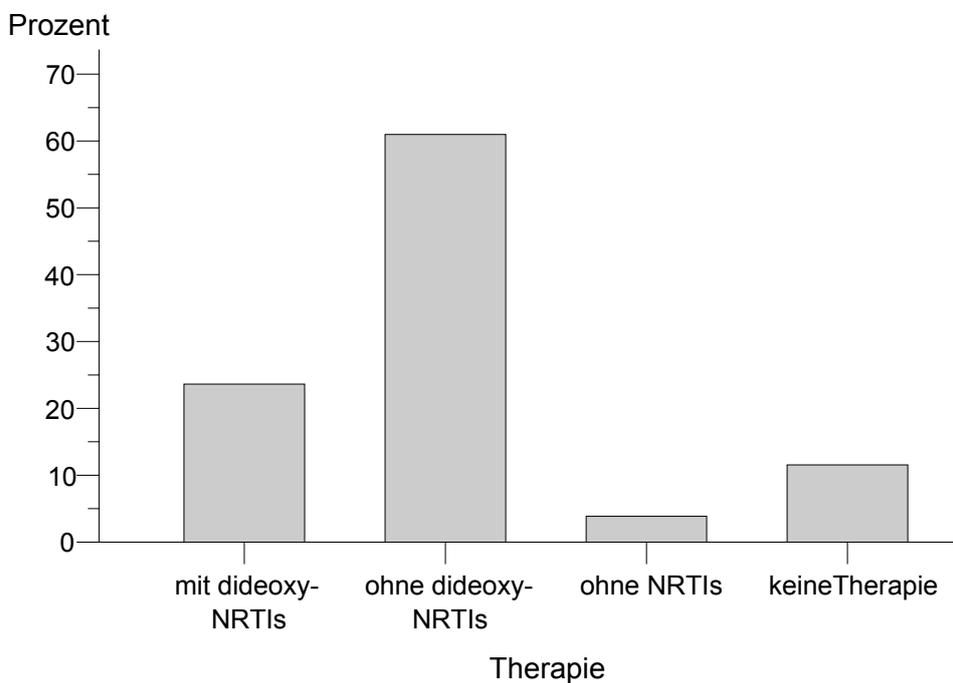


Abb. 4-1 Prozentuale Verteilung der HIV-Patienten auf unterschiedlichen Therapiegruppen

6 Patienten (3,3%) nahmen zusätzlich zu ihrer ART Ribavirin und PEG-Interferon zur Behandlung einer chronischen Hepatitis C-Erkrankung ein.

In Tab. 4-3 ist aufgeführt, wie häufig die einzelnen NRTIs im Patientenkollektiv eingesetzt wurden. Es ist zu erkennen, dass am häufigsten mit 3TC und AZT behandelt wurde, gefolgt von ABC. Selten wurden ddC und FTC verordnet. Letzteres wurde nur einmal verschrieben, in Kombination mit TDF.

Medikament	Anzahl	%
3TC	123	66.8%
AZT	108	58.7%
ABC	51	27.7%
d4T	36	19.6%
ddI	25	13.6%
TDF	11	6.0%
ddC	2	1.1%
FTC	1	0.5%

Tab. 4-3: Häufigkeit der unterschiedlichen NRTIs bei n = 182 HIV-Patienten.

Tab. 4-4 zeigt, mit welcher Kombination aus den einzelnen dideoxy-NRTIs die Patienten der dideoxy-NRTI-Gruppe behandelt wurden. 20 Patienten (46,5%) erhielten d4T+ddI, 16 Patienten (37,2%) d4T, 5 Patienten (11,6%) ddI und 2 Patienten (4,7%) ddC. 18 Patienten (42%) bekamen zusätzlich 3TC, seltener AZT oder ABC und einmal TDF.

dideoxy-NRTIs			n	%
d4T	ddI	ddC		
+	+	-	20	46.51
+	-	-	16	37.21
-	+	-	5	11.63
-	-	+	2	4.65

Tab. 4-4 Kombinationen der dideoxy-NRTIs d4T, ddI und ddC. Anzahl und Prozentsatz der Patienten.

In der Gruppe der 111 Patienten, die mit NRTIs, aber ohne dideoxy-NRTIs behandelt wurden, erhielten 106 Patienten (96%) 3TC, 103 Patienten (93%) AZT, 47 Patienten ABC (42%), 10 Patienten (9%) TDF und 1 Patient FTC.

4.4 Klinische Befunde

Tab. 4-5 zeigt eine Übersicht über die Häufigkeit der untersuchten Begleiterkrankungen. Bei 56 Patienten (31%) war außer der HIV-Infektion keine weitere Begleiterkrankung vorhanden.

Befund		Anzahl	%
Lipodystrophie-Syndrom	ja	37	20.3%
	nein	145	79.7%
Lipoatrophie	ja	26	14.3%
	nein	156	85.7%
Lipoakkumulation	ja	11	6.0%
	nein	171	94.0%
Fettleber	ja	80	51.0%
	nein	77	49.0%
	<i>fehlende Angabe</i>	25	-
virale Hepatitis	ja	46	25.3%
	nein	136	74.7%
Hepatitis C	ja	34	18.7%
	nein	148	81.3%
Hepatitis B	ja	13	7.1%
	nein	169	92.9%
Leberzirrhose	ja	10	5.5%
	nein	172	95.5%
PNP	ja	22	12.1%
	nein	160	87.9%
Diabetes mellitus	ja	5	2.7%
	nein	177	97.3%

Tab. 4-5: Begleiterkrankungen im Patientenkollektiv (n=182). Anzahl und Prozent der Patienten

4.4.1 Zusammenhänge zwischen den klinischen Befunden

Tab. 4-6 zeigt eine Übersicht über Koprävalenzen der klinischen Befunde im Patientenkollektiv. Traten 2 klinische Befunde signifikant gehäuft gemeinsam auf, so sind diese in der Tabelle entsprechend des Signifikanzniveaus mit „*“ ($p < 0,5$), „**“ ($p < 0,01$) oder „***“ ($p < 0,001$) gekennzeichnet. „-“ steht für ein nicht signifikant erhöhtes gemeinsames Auftreten zweier Begleiterkrankungen.

	FL	HCV	HBV	Zirr	LA	LH	PNP	Dm
FL		***	*	**	*	-	-	-
HCV	***		-	***	*	-	-	-
HBV	*	-		-	-	-	-	-
Zirrrose	**	***	-		***	-	-	-
LA	*	*	-	***		-	-	-
LH	-	-	-	-	-		-	-
PNP	-	-	-	-	-	-		*
Dm	-	-	-	-	-	-	*	

Tab. 4-6 Zusammenhänge zwischen den klinischen Befunden. FL=Fettleber, HCV=Hepatitis C, HBV=Hepatitis B, Zirr=Leberzirrhose, LA=Lipoatrophie/Mischbild, LH=Lipoakkumulation, PNP= distal-sensible Polyneuropathie, Dm=Diabetes mellitus . * bedeutet: tritt zusammen signifikant häufiger auf. *** = $p < 0.001$, ** = $p < 0.01$, * = $p < 0.05$. -: tritt zusammen nicht signifikant häufiger auf.

Der Befund Fettleber war signifikant mit Hepatitis C oder B assoziiert. Patienten mit Hepatitis C zeigten, im Gegensatz zu Patienten mit Hepatitis B, auch signifikant häufiger eine Leberzirrhose und Lipoatrophie.

Die Leberzirrhosen traten bis auf bei 2 Patienten ausschließlich bei Patienten mit viraler Hepatitis (vor allem Hepatitis C) auf. Einer der 2 Patienten mit Leberzirrhose, aber ohne virale Hepatitis litt an Hämophilie A.

Unter den Patienten mit Lipodystrophie-Syndrom zeigten nur Patienten mit der Komponente Lipoatrophie/Mischbild, nicht jedoch Patienten mit ausschließlicher Lipoakkumulation eine signifikante Häufung von Fettleber, Hepatitis C und Leberzirrhose. Bei dem Befund Lipoakkumulation fand sich kein signifikanter Zusammenhang mit den anderen untersuchten klinischen Befunden.

Diabetes mellitus war signifikant mit Polyneuropathie assoziiert.

4.4.2 Klinische Befunde und Therapie

Tab. 4-7 zeigt die Häufigkeit der Begleiterkrankungen in den 4 verschiedenen Therapiegruppen. Der p-Wert in der letzten Spalte zeigt an, ob in einer der 4 Therapiegruppen eine bestimmte Begleiterkrankung signifikant häufiger auftritt als in einer anderen.

	Therapiegruppen								p
	ohne Therapie		ohne NRTIs		ohne dideoxy -NRTIs		mit dideoxy -NRTIs		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Hepatitis C									
ja	7	33.3%	3	42.9%	17	15.3%	7	16.3%	0.08
nein	14	66.7%	4	57.1%	94	84.7%	36	83.7%	
Hepatitis B									
ja	0	0.0%	0	0.0%	10	9.0%	3	7.0%	0.43
nein	21	100.0%	7	100.0%	101	91.0%	40	93.0%	
Fettleber									
ja	12	57.1%	4	57.1%	47	50.5%	17	47.2%	0.89
nein	9	42.9%	3	42.9%	46	49.5%	19	52.8%	
Leberzirrhose									
ja	1	4.8%	3	42.9%	4	3.6%	2	4.7%	<0.001**
nein	22	95.2%	4	57.1%	107	96.4%	41	95.3%	
Lipoatrophie/Mischform									
ja	0	0.0%	3	42.9%	10	9.0%	13	30.2%	<0.001**
nein	21	100.0%	4	57.1%	101	91.0%	30	69.8%	
Lipoakkumulation									
ja	0	0.0%	1	14.3%	5	4.5%	5	11.6%	0.17
nein	21	100.0%	6	85.7%	106	95.5%	38	88.4%	
Diabetes mellitus									
ja	0	0.0%	0	0.0%	3	2.7%	2	4.7%	0.71
nein	21	100.0%	7	100.0%	108	97.3%	41	95.4%	
Polyneuropathie									
ja	2	9.5%	2	28.6%	10	9.0%	8	18.6%	0.20
nein	19	90.5%	5	71.4%	101	91.0%	35	81.4%	

Tab. 4-7: Übersicht über die Verteilung der Begleiterkrankungen auf die 4 Therapiegruppen. Jeweils Anzahl und Prozentsatz der Patienten. Die Prozente beziehen sich auf die Spalte, d.h. auf die Therapiegruppe.

Zwischen den vier Therapiegruppen fand sich kein signifikant unterschiedlicher Anteil von Patienten mit Hepatitis C oder Hepatitis B. Eine Koinfektion mit Hepatitis C lag jedoch bei den Patienten in den Therapiegruppen „keine Therapie“ und „keine NRTIs“

mit 33,3%, bzw. 42,9% ungefähr doppelt so häufig vor, wie bei den Patienten der Therapiegruppen „keine dideoxy-NRTIs“ (15,3%) und „dideoxy-NRTIs“ (16,3%).

Auch der Anteil an Patienten mit Fettleber war in den vier Therapiegruppen nicht signifikant verschieden.

Patienten der Therapiegruppe „keine NRTIs“ hatten signifikant häufiger eine Leberzirrhose (57,1%), als die Patienten in den anderen Therapiegruppen (maximal 4,7% der Patienten).

Bezüglich des Anteils an Patienten mit Lipodystrophie-Syndrom unterschieden sich die Therapiegruppen signifikant im Anteil der Patienten mit der Komponente Lipoatrophie/Mischbild. In den Therapiegruppen „dideoxy-NRTIs“ und „ohne NRTIs“ betrug der Anteil der Patienten mit Lipoatrophie 30,3 % bzw. 42,9%. In „keine Therapie“ und „keine dideoxy-NRTIs“ lag der Anteil bei 0 bzw. 9%.

Im Anteil der Patienten mit der Komponente Lipoakkumulation unterschieden sich die Therapiegruppen nicht signifikant.

Auch der Anteil an Patienten mit Diabetes und Polyneuropathie war in den vier Therapiegruppen nicht signifikant verschieden.

4.5 Klinisch-chemische Parameter bei unterschiedlichen Therapieregimen

In Tab. 4-8 sind diejenigen klinisch-chemische Befunde aufgeführt, deren Mittelwerte sich zwischen den 4 Patientengruppen mit unterschiedlichem Therapieregime signifikant unterschieden. Die Mittelwerte der klinisch-chemischen Parameter in den vier Therapiegruppen unterschieden sich signifikant in Harnsäure, Laktat, Cholesterin, Triglyzeride und HDL-Cholesterin.

Therapie	N	MW	SD	p
Harnsäure (mg/dl)				
mit dideoxy-NRTIs	43	5.93	1.29	0,04
ohne dideoxy-NRTIs	110	5.47	1.65	
ohne NRTIs	7	5.11	1.28	
keine Therapie	21	6.25	1.51	
Laktat (mmol/l)				
mit dideoxy-NRTIs	42	1.87	0.80	0,004
ohne dideoxy-NRTIs	106	1.45	0.59	
ohne NRTIs	7	1.46	0.70	
keine Therapie	18	1.27	0.48	
Cholesterin (mg/dl)				
mit dideoxy-NRTIs	43	213	39	0,015
ohne dideoxy-NRTIs	111	197	42	
ohne NRTIs	7	193	51	
keine Therapie	21	179	34	
Triglyzeride (mg/dl)				
mit dideoxy-NRTIs	43	282	236	<0,001
ohne dideoxy-NRTIs	111	185	130	
ohne NRTIs	7	191	198	
keine Therapie	21	145	87	
HDL-Cholesterin (mg/dl)				
mit dideoxy-NRTIs	43	49	13	0,045
ohne dideoxy-NRTIs	111	56	19	
ohne NRTIs	7	64	13	
keine Therapie	21	55	16	

Tab. 4-8 Darstellung signifikant unterschiedliche Mittelwerte klinisch-chemischer Parameter in den 4 Patientengruppen mit unterschiedlichem Therapieregime. n=Anzahl, MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung

Harnsäure war bei Patienten der 3 Therapiegruppen mit antiretroviraler Therapie signifikant erniedrigt im Vergleich mit Patienten ohne Therapie.

Der Blutlaktatspiegel war bei Patienten in der Therapiegruppe „mit dideoxy-NRTIs“ mit im Mittel 1,87 mmol/l signifikant erhöht im Vergleich zu den Blutlaktatspiegeln der Patienten in den anderen Therapiegruppen.

Die Triglyzeridwerte waren bei den Patienten, die mit dideoxy-NRTIs therapiert wurden, im Vergleich zu den anderen Therapiegruppen signifikant erhöht ($p < 0,001$).

HDL-Cholesterin war bei den Patienten, die mit dideoxy-NRTIs therapiert wurden, im Vergleich zu den anderen Therapiegruppen signifikant erniedrigt ($p < 0,045$).

4.5.1 Klinisch-chemische Parameter bei unterschiedlichen NRTIs

Tab. 4-9 stellt Zusammenhänge zwischen den einzelnen NRTIs und klinisch-chemischen Befunden dar. Signifikant erhöhte Werte sind, entsprechend des Signifikanzniveaus, mit 1-3 „↑“ gekennzeichnet, signifikant erniedrigte Werte mit „↓“. Insbesondere unter d4T, aber auch unter dDI lagen erhöhte Laktatspiegel und erhöhte Blutfette vor. Unter d4T zeigten sich ferner erniedrigte HDL-Spiegel. AZT war mit reduzierten GOT- und GPT-Werten assoziiert. Unter 3TC fanden sich verminderte Kreatinin-, Harnsäure- und Amylasewerte. Unter ABC wurden erniedrigte Billirubinwerte gemessen. TDF war mit erhöhten Lipase-, GPT-, GGT- und AP-Werten sowie erniedrigten mit HDL-Werten assoziiert.

	d4T (n = 35)	DDI (n = 24)	DDC (n = 2)	AZT (n = 76)	3TC (n = 61)	ABC (n = 51)	TDF (n = 11)
Glukose							
Laktat	↑↑↑	↑					
LDH							
Kreatinin					↓		
Harnsäure					↓		
CK		↑					
Amylase					↓		
Lipase							↑
CRP							
ChE							
Bilirubin						↓	
GOT				↓			
GPT				↓			↑
GLDH							
GGT							↑
AP							↑
Cholesterin	↑						
Triglyzeride	↑↑↑	↑↑					
LDL							
HDL	↓						↓↓

Tab. 4-9: Zusammenhänge zwischen den einzelnen NRTIs und klinisch-chemischen Befunden. Signifikant erhöhte Werte sind, entsprechend des Signifikanzniveaus, mit „↑“ gekennzeichnet, signifikant erniedrigte Werte mit „↓“, wobei ↓↓↓ = $p < 0.001$, ↓↓ = $p < 0.01$, ↓ = $p < 0.05$ bedeutet.

4.5.2 Klinisch-chemische Parameter und Begleiterkrankungen

Tab. 4-10 stellt Zusammenhänge zwischen Begleiterkrankungen und klinisch-chemischen Befunden dar. Signifikant erhöhte Werte sind, entsprechend des Signifikanzniveaus, mit 1-3 „↑“ gekennzeichnet, signifikant erniedrigte Werte mit „↓“.

	HepC	HepB	Fettleber	Zirrhose	LH	LA	D.m.	PNP
Glukose						↑	↑↑	
Laktat					↑			
Kreatinin	↓↓			↓				
Harnsäure								
Bilirubin	↑↑		↓↓	↑				
ChE			↓	↓↓	↑			
GOT	↑↑↑			↑↑				
GPT	↑↑↑		↑	↑				
GLDH	↑↑			↑				
GGT	↑↑↑		↑↑	↑↑				
AP								
LDH								
CK								↓↓
Amylase			↑					
Lipase	↑		↑↑	↑↑				
Cholesterin	↓↓	↑						
Triglyzeride			↑		↑			↑↑
LDL-Chol.	↓↓	↑						
HDL-Chol.								
CRP								

Tab. 4-10 Vergleich der Werte der klinisch-chemische Parameter in Bezug auf Begleiterkrankungen. Signifikant erhöhte Parameter sind durch ein „↑“ markiert, signifikant erniedrigte durch ein „↓“, wobei ↑↑↑ = $p < 0.001$, ↑↑ = $p < 0.01$, ↑ = $p < 0.05$ bedeutet.

4.6 Anzahl und Verteilung der Uridin-Messungen pro Patient bzw. Proband

Von den 212 Patienten und Probanden lagen 1 - 6, im Mittel 1,85 Messwerte vor. Insgesamt standen somit 415 Messungen (359 von der HIV-Gruppe, 56 von der Kontrollgruppe) für die Auswertung zur Verfügung.

Tab. 4-11 zeigt, wie viele Messungen (Messungen/Pat.) bei wie vielen Patienten (Anzahl und Prozent) im 1. Beobachtungszeitraum und im Follow-up durchgeführt wurden.

Im 1. Beobachtungszeitraum wurde bei 84 Patienten (46,2%) eine einzige Messung durchgeführt. Bei 63 Patienten (34,6%) wurden 2 Messungen durchgeführt. Bei 27 Patienten (14,8%) wurden 3 Messungen durchgeführt. Bei jeweils 4 Patienten wurde viermal, bzw. fünfmal gemessen.

Im Follow-up nach Therapieumstellung wurde bei insgesamt 13 Patienten nochmals der Uridinplasmaspiegel bestimmt. Dabei wurden bei 2 Patienten 1 Messung, bei 5 Patienten 2 Messungen, 4 Patienten 3 Messungen und 2 Patienten 4 Messungen durchgeführt.

	Messungen/Pat.	Anzahl Patienten	Prozent Pat.
Messungen im 1. Beobachtungszeitraum	1	84	46.2%
	2	63	34.6%
	3	27	14.8%
	4	4	2.2%
	5	4	2.2%
Messungen im Follow-up nach Therapiewechsel	keine Messung	169	-
	1	2	15.4%
	2	5	38.4%
	3	4	30.8%
	4	2	15.4%

Tab. 4-11: Zahl der Messungen und Nachmessungen pro Patient sowie Zahl der Patienten bei der genannten Nachmessung. Anzahl und Prozentsatz.

Von den 30 Kontrollpersonen wurden eine Person 6-mal, eine 5-mal, fünf 4-mal, zwei 2-mal und die übrigen 21 einmal gemessen.

4.7 Vergleich der Uridinmittelwerte bei einmaliger und mehrmaliger Messung

Tab. 4-12 zeigt die Mittelwerte der Uridinplasmaspiegel des Patienten- bzw. Kontrollkollektivs, die entweder nur aus den zeitlich ersten Messungen oder aus den Mittelwerten der Messreihen (wiederholte Messungen über 2 Jahre) berechnet wurden.

Der Mittelwert aus den zeitlich ersten Messungen der Patienten betrug $6,10 \pm 1,99$ $\mu\text{mol/l}$ und unterschied sich nicht signifikant von dem Mittelwert von $6,21 \mu\text{mol/l}$ der zusammengefassten Messungen.

Der Mittelwert aus der zeitlich ersten Messung der Kontrollen lag bei $7,31 \pm 2,1$ mmol/l und unterschied sich ebenfalls nicht signifikant von dem Mittelwert von $7,32 \pm 1,92$ $\mu\text{mol/l}$ der zusammengefassten Messreihe.

Die weitere Auswertung erfolgte daher mit den Werten aus der ersten Messung (siehe Kapitel 3.5.1).

Uridin		
Patienten (n = 182)	MW	SD
Nur erste Messung	6.10	1.99
Zusammengefasste Messung	6.21	1.77
Kontrollen (n = 30)		
Nur erste Messung	7.31	2.12
Zusammengefasste Messung	7.32	1.92

*Tab. 4-12: Mittelwert des Uridinplasmaspiegels von Patienten- und Kontrollgruppe, berechnet entweder aus der 1. Messung oder aus der gesamten Messreihe einer Person
SD = Standardabweichung.*

4.8 Verteilung der Uridinspiegel

Die Verteilung der Uridinspiegel der HIV-Patienten ist in Abb. 4-2 dargestellt. Die Uridin-Messwerte waren nach Transformation mit der Quadratwurzel in der Probitdarstellung nach Lilliefors hinreichend Gauß-verteilt.

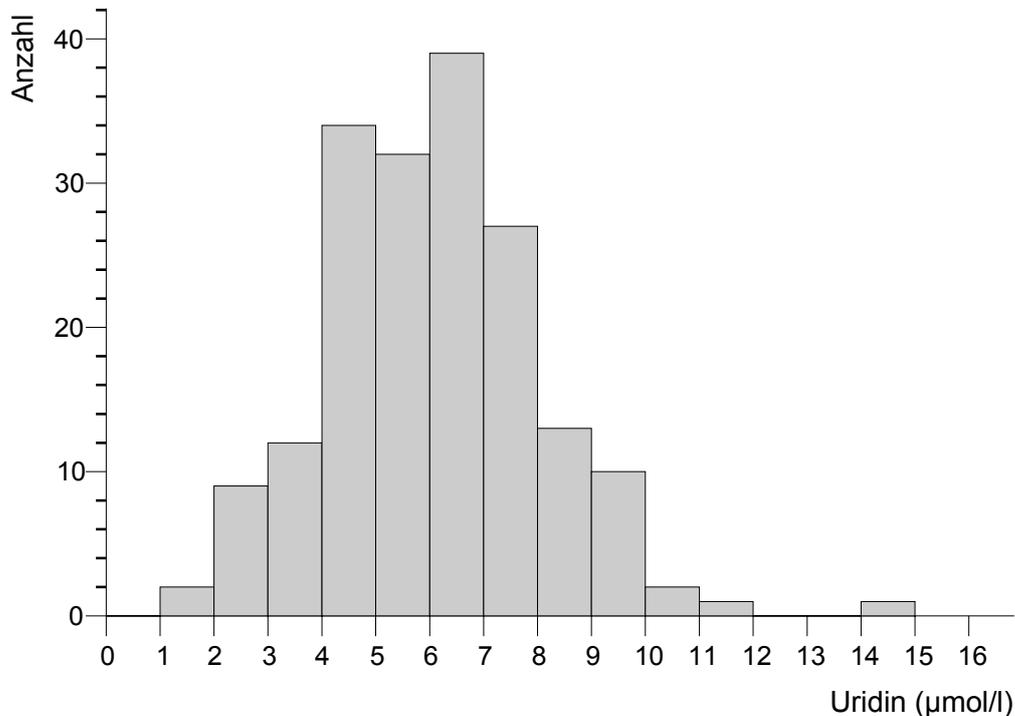


Abb. 4-2 Häufigkeitsverteilung der Uridinplasmaspiegel von 182 HIV-Patienten. Die Säule 1 stellt die Patienten mit Uridinwerten von 1.0 bis 1.99 dar, usw.

4.9 Vergleich der Uridinspiegel von HIV-Patienten und Kontrollgruppe

In Abb. 4-3 sind die mittleren Uridinplasmaspiegel von HIV-Patienten und Kontrollgruppe dargestellt. Die Uridinplasmaspiegel der HIV-Patienten betragen im Mittel $6,10 \pm 1,99 \mu\text{mol/l}$. Die Spannweite (niedrigster und höchster Wert) reichte von $1,03 \mu\text{mol/l}$ bis $14,74 \mu\text{mol/l}$. Das heißt, einzelne Uridinplasmaspiegel wichen um bis zu 140% vom Mittelwert ab. Die maximale intraindividuelle Schwankung des Uridinplasmaspiegels reichte von $3,71$ bis $10,49 \mu\text{mol/l}$.

Die Kontrollgruppe zeigte einen Mittelwert von $7,31 \pm 2,12 \mu\text{mol/l}$, mit einer Spannweite von $3,25$ bis $11,28 \mu\text{mol/l}$. Das heißt, einzelne Uridinplasmaspiegel wichen um

bis zu 51% vom Mittelwert ab. Die maximale intraindividuelle Schwankung des Uridinplasmaspiegels reichte von 2,90 bis 10,80 $\mu\text{mol/l}$.

Der mittlere der Uridinspiegel der HIV-Patienten war signifikant niedriger ($p=0,0018$) als der der Kontrollgruppe und lag 19,9% unter dem der Kontrollgruppe.

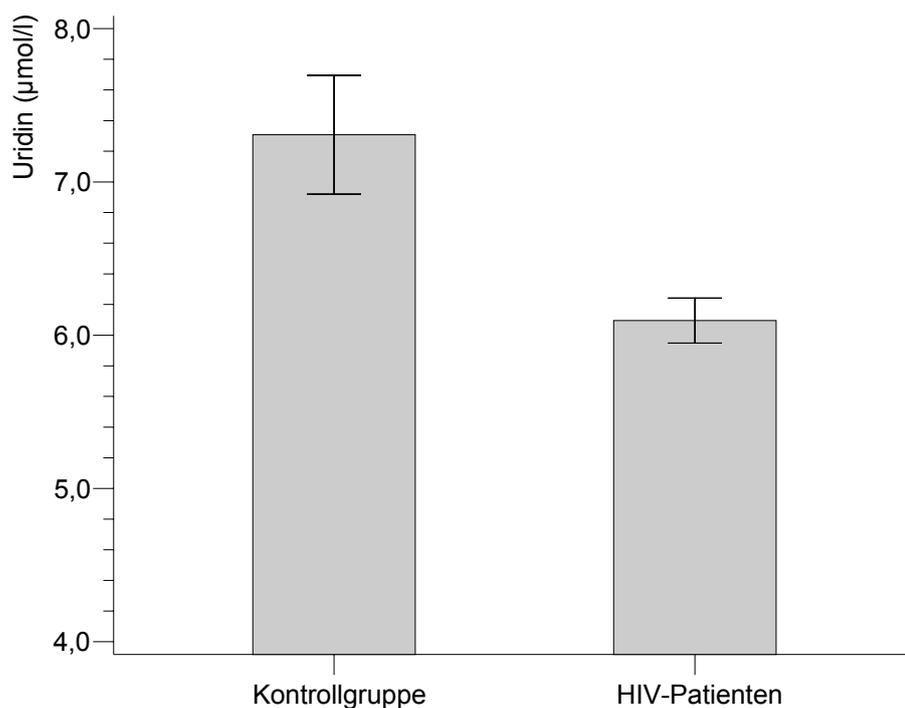


Abb. 4-3: Mittelwerte der Uridinplasmaspiegel der Kontrollgruppe ($n=30$) und der HIV-Patienten ($n=182$). Fehlerbalken zeigen Standardfehler.

4.10 Demografische Daten und Uridin

Der mittlere Uridinplasmaspiegel der 126 männlichen Patienten betrug $6,0 \pm 1,81$ $\mu\text{mol/l}$. Bei den 57 Patientinnen lag er bei $6,31 \pm 2,33$ $\mu\text{mol/l}$. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den mittleren Uridinplasmaspiegeln der männlichen und weiblichen Patienten ($p = 0,57$).

Eine Korrelation von Uridin mit dem Alter der Patienten zeigte eine nicht signifikante Abnahme des Uridinplasmaspiegels mit ansteigendem Alter der Patienten. ($\text{tau} = -0,03$, $p = 0,52$).

Eine Korrelation von Uridin mit dem Body Mass Index der Patienten ergab eine nicht signifikante Abnahme des Uridinplasmaspiegels mit zunehmendem Gewicht der Patienten. ($\tau = -0,01$, $p = 0,84$).

4.10.1 Alkohol- und Tabakkonsum und Uridin

Abb. 4-4 zeigt die mittleren Uridinplasmaspiegel des Patientenkollektivs, aufgeteilt nach Alkoholkonsum. Bei Patienten, die angaben, keinen Alkohol zu trinken ($n=72$), betrug der Mittelwert $6,19 \pm 1,90 \mu\text{mol/l}$. Die Patientengruppe mit einem Konsum von bis zu 20g Alkohol täglich ($n=40$) zeigte einen mittleren Uridinplasmaspiegel von $5,85 \pm 2,31 \mu\text{mol/l}$. Bei Patienten mit einem Konsum von 20 bis 40g täglich ($n=15$) ergab sich ein Mittelwert von $6,66 \pm 2,41 \mu\text{mol/l}$. Der Uridinplasmaspiegel von Patienten mit einem Konsum über 40g täglich ($n=17$) lag bei $5,50 \pm 1,3 \mu\text{mol/l}$. Die Uridinplasmaspiegel der 4 Patientengruppen unterschieden sich nicht signifikant ($p=0,26$).

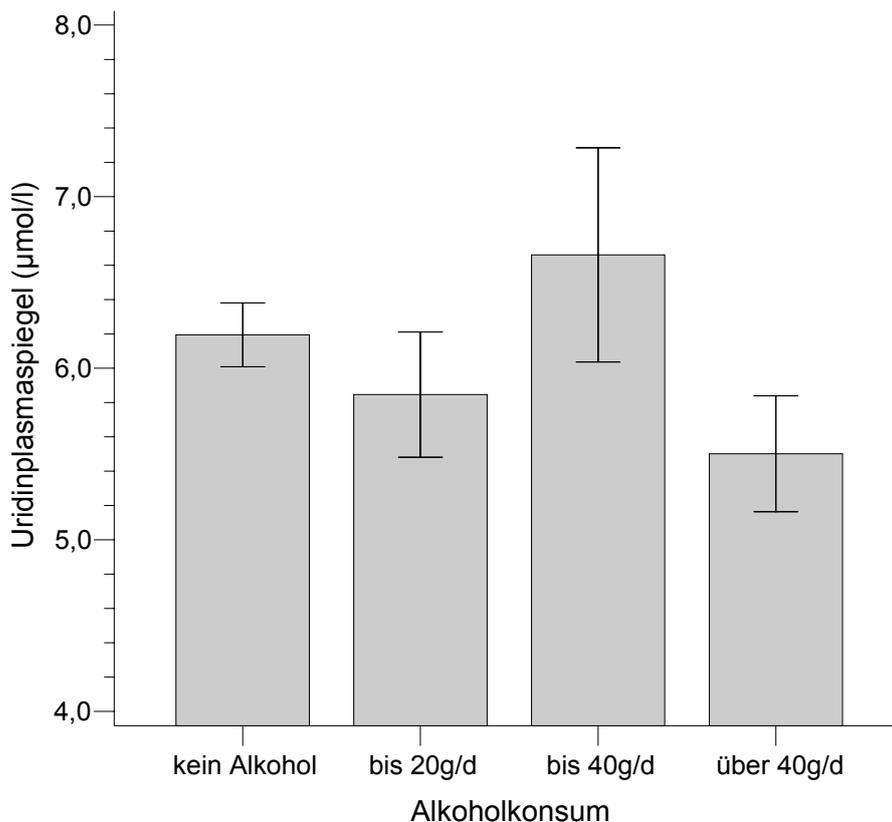


Abb. 4-4 Mittelwerte der Uridinplasmaspiegel des Patientenkollektivs, aufgeteilt nach Alkoholkonsum.

Der Uridinplasmaspiegel der Raucher (n=92) betrug im Mittel $6,28 \pm 1,99 \mu\text{mol/l}$. Der Uridinplasmaspiegel der Nichtraucher (n=74) unterschied sich mit $6,02 \pm 2,0 \mu\text{mol/l}$ nicht signifikant ($p=0,49$) von dem der Raucher.

4.11 HIV-Status und Uridin

Abb. 4-5 zeigt ein Streudiagramm mit Regressionsgerade aus CD4-Zellzahl (x-Achse) und Uridinplasmaspiegel der HIV-Patienten (n=182). Mit zunehmender CD4-Zellzahl stieg der Uridinplasmaspiegel tendenziell leicht an ($\tau=0,05$, $p=0,32$).

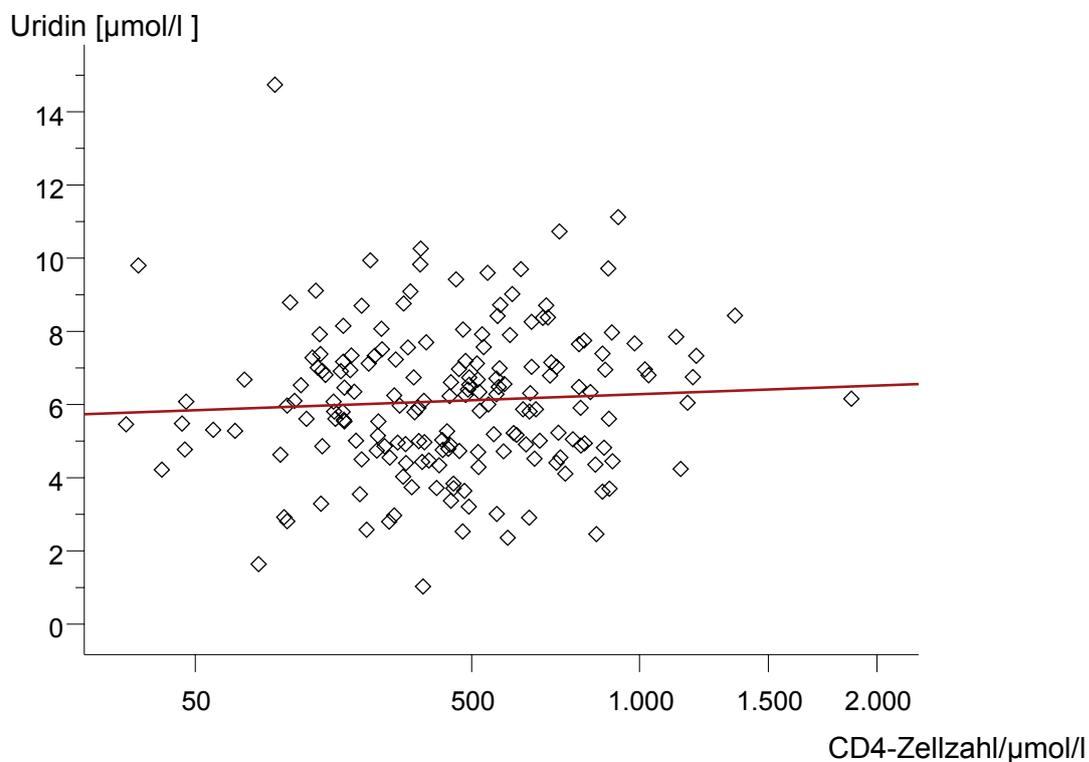


Abb. 4-5: Streudiagramm aus Uridin und CD4-Zellzahl. x-Achse wurzeltransformiert

In Abb. 4-6 ist zu erkennen, dass bei länger bestehender HIV-Infektion tendenziell ebenfalls höhere Uridinplasmaspiegel nachweisbar waren ($\tau=0,03$, $p=0,61$).

Abb. 4-7 zeigt, dass bei einem Anstieg der HI-Viruslast der Uridinspiegel tendenziell abnahm ($\tau=-0,02$, $p=0,66$).

Es bestand keine signifikante Abhängigkeit des Uridinplasmaspiegels von CD4-Zellzahl, Dauer der HIV-Infektion und HI-Viruslast.

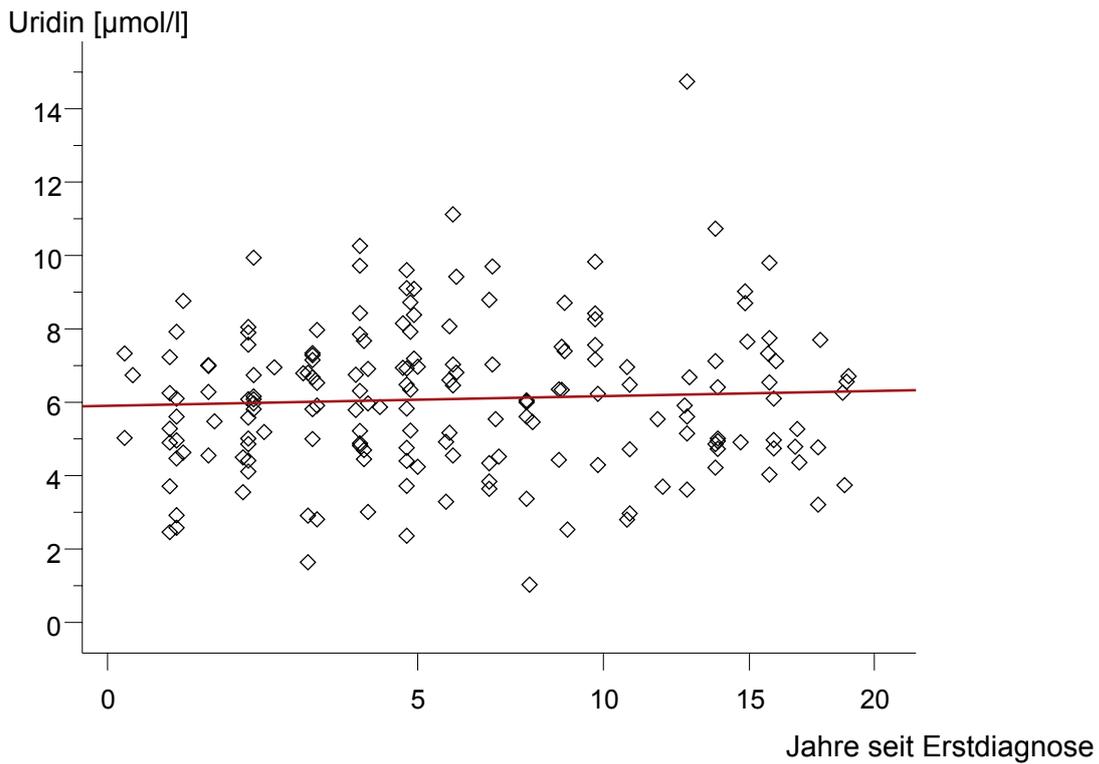


Abb. 4-6: Streudiagramm aus Uridin und Dauer der HIV-Infektion. x-Achse wurzeltransformiert.

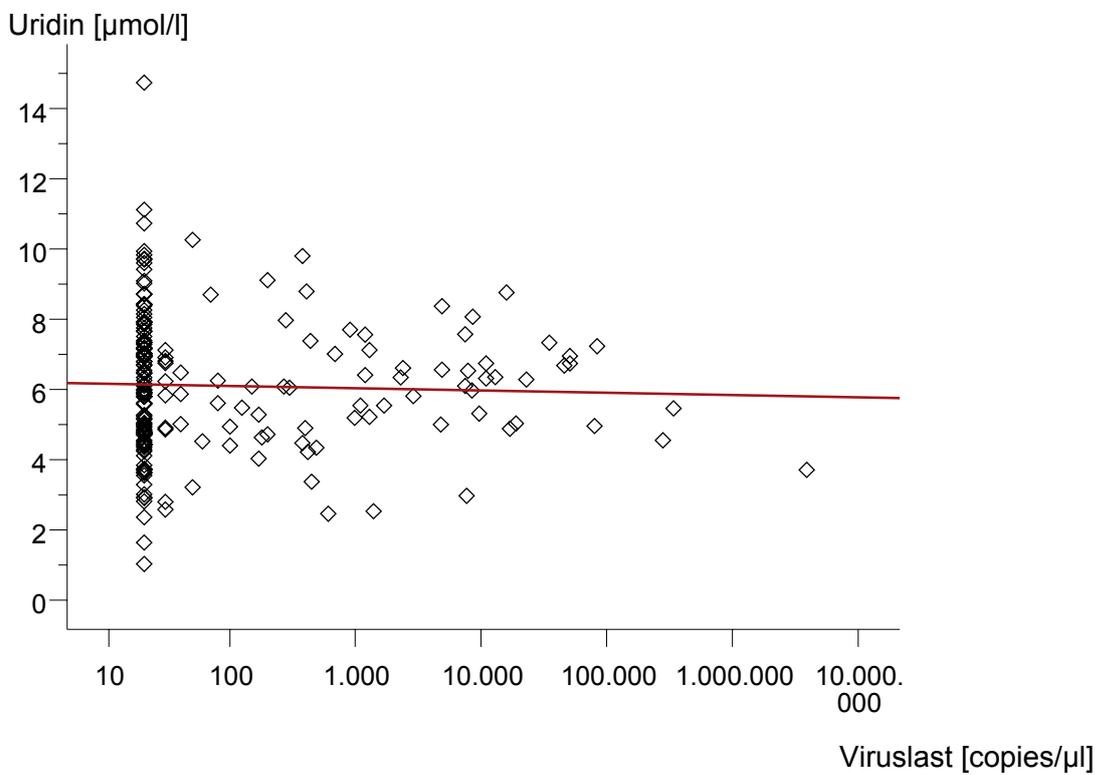


Abb. 4-7: Streudiagramm aus Uridin und HI-Viruslast. x-Achse log-transformiert.

In Abb. 4-8 sind die Uridinplasmaspiegel von HIV-Patienten, nach CDC-Stadium aufgeteilt, dargestellt. Die Patienten im Stadium C (n=33) hatten mit $5,28 \pm 1,68 \mu\text{mol/l}$ einen deutlich niedrigeren mittleren Uridinplasmaspiegel als die Patienten im CDC-Stadium A (n=98) mit $6,19 \pm 1,9 \mu\text{mol/l}$ und im Stadium B (n=51) mit $6,36 \pm 2,2 \mu\text{mol/l}$. Der Unterschied der 3 Gruppen war nicht signifikant ($p=0,07$).

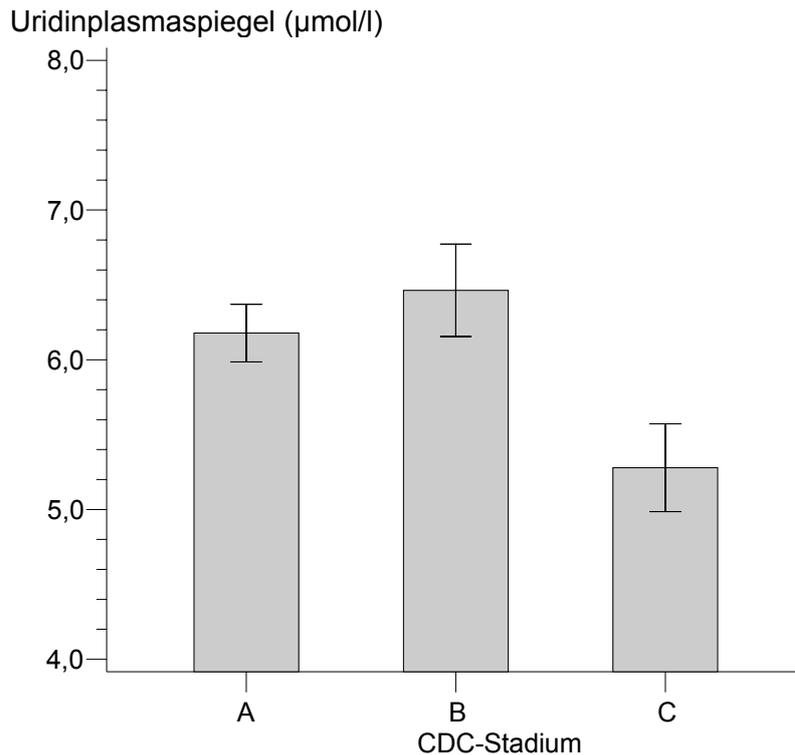


Abb. 4-8: Uridinplasmaspiegel des Patientenkollektivs, aufgeteilt nach CDC-Stadium

4.12 Klinische Befunde und Uridin

Bei HIV-Patienten ohne Begleiterkrankungen (n=56) betrug der Uridinplasmaspiegel $6,73 \mu\text{mol/l}$, während HIV-Patienten mit Begleiterkrankungen (n=126) einen Uridinplasmaspiegel von $5,81 \mu\text{mol/l}$ aufwiesen ($p<0,01$).

In Tab. 4-13 sind die Uridinplasmaspiegel der HIV-Patienten mit unterschiedlichen Begleiterkrankungen dargestellt.

Befund		n	Uridin		p
			MW	SD	
Lipoatrophie	ja	26	5.74	1.62	0.20
	nein	156	6.15	2.03	
Lipoakkumulation	ja	11	6.37	2.32	0.61
	nein	171	6.08	1.97	
Fettleber	ja	80	5.85	1.77	0.02*
	nein	77	6.56	2.13	
Hepatitis C	ja	34	5.72	1.48	0.18
	nein	148	6.18	2.08	
Hepatitis B	ja	13	6.09	1.95	0.95
	nein	169	6.10	1.99	
Leberzirrhose	ja	10	5.53	1.83	0.23
	nein	172	6.13	1.99	
Periphere Polyneuropathie	ja	22	5.69	1.74	0.27
	nein	160	6.15	2.02	
Diabetes m.	ja	5	4.20	1.10	0.02*
	nein	177	6.15	1.98	

Tab. 4-13: Uridinplasmaspiegel von HIV-Patienten mit unterschiedlichen Begleiterkrankungen. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung

Der Uridinspiegel der Patienten mit Lipoatrophie war um 7% niedriger als der Uridinspiegel der Patienten ohne Lipoatrophie. Bei Patienten mit Lipoakkumulation waren die Spiegel dagegen höher als bei Patienten ohne diesen Befund (Tab. 4-13).

HIV-Patienten mit Fettleber hatten mit $5,85 \pm 1,77 \mu\text{mol/l}$ um 11% niedrigere Uridinplasmaspiegel als HIV-Patienten ohne Fettleber, die im Mittel einen Wert von $6,56 \pm 2,13 \mu\text{mol/l}$ aufwiesen. Dieser Unterschied war signifikant ($p=0,02$).

HIV-Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 ($n=5$) wiesen die niedrigsten Uridinspiegel aller Patienten mit Begleiterkrankungen auf mit im Mittel $4,3 \pm 1,1 \mu\text{mol/l}$. Im Vergleich mit HIV-Patienten ohne Diabetes mellitus ($n=177$), die einen Mittelwert von $6,15 \pm 1,98 \mu\text{mol/l}$ aufwiesen, waren die Uridinplasmaspiegel um 30% reduziert. Dieser Unterschied war signifikant ($p=0,02$).

Während Patienten mit Hepatitis C ($5,72 \pm 1,48 \mu\text{mol/l}$) um 9% niedrigere Uridinspiegel als Patienten ohne Hepatitis C ($6,18 \pm 2,08 \mu\text{mol/l}$) hatten, bestand bei Patienten mit und ohne Hepatitis B kein Unterschied. Bei einem Patienten lag eine Hepatitis B+C Koinfektion vor, mit einem Uridinplasmaspiegel von $4,86 \mu\text{mol/l}$.

4.13 Vergleich der Uridinspiegel von Patienten mit unterschiedlichen Therapieregimen

Abb. 4-9 zeigt die Uridinplasmaspiegel von HIV-Patienten, die nach Therapieregime in die Gruppen „Therapie mit dideoxy-NRTIs“, „Therapie ohne dideoxy-NRTIs“, „Therapie ohne NRTIs“ und „keine Therapie“ aufgeteilt worden sind. In Tab. 4-14 sind Anzahl und Mittelwerte der Therapiegruppen aufgelistet. Insgesamt unterschieden sich die Mittelwerte der 4 Gruppen nicht signifikant ($p=0,24$).

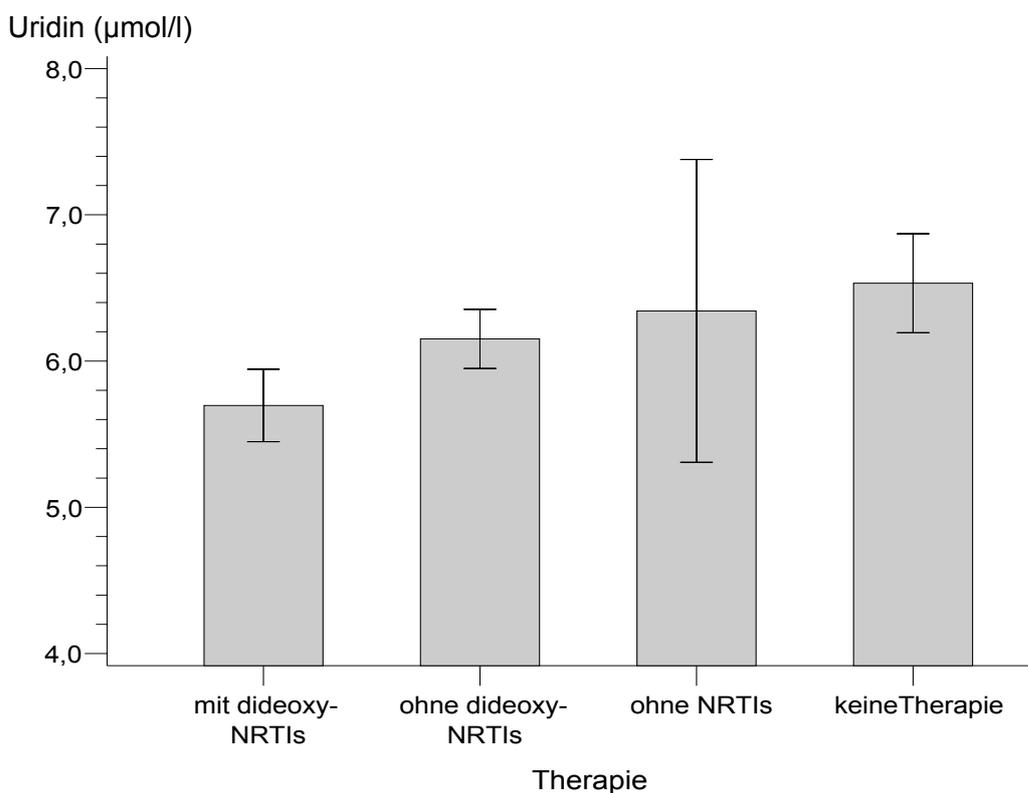


Abb. 4-9: Mittelwerte der Uridinplasmaspiegel bei HIV-Patienten mit unterschiedlichem Therapieregime. Fehlerbalken zeigen Standardfehler.

Therapie	N	Uridin (µmol/l)		p
		MW	SD	
mit dideoxy-NRTIs	43	5.70	1.63	0,24
ohne dideoxy-NRTIs	111	6.15	2.13	
ohne NRTIs	7	6.34	2.74	
keine Therapie	21	6.53	1.55	

Tab. 4-14: Mittelwerte der Uridinplasmaspiegel von Patientengruppen mit unterschiedlichem Therapieregime. N=Patientenanzahl, MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung der Therapiegruppen.

In der Patientengruppe, die mit dideoxy-NRTIs behandelt wurde (n=43), fanden sich die niedrigsten Uridinplasmaspiegel der 4 Therapiegruppen mit einem MW von $5,7 \pm 1,63$ $\mu\text{mol/l}$. Der mittlere Uridinplasmaspiegel der Patienten, die mit NRTIs, aber ohne dideoxy-NRTIs behandelt wurden (n=111), betrug $6,15 \pm 2,13$ $\mu\text{mol/l}$. Bei den Patienten, die ohne NRTIs behandelt wurden (n=7), lagen die Werte im Mittel bei $6,34 \pm 2,74$ $\mu\text{mol/l}$. Die Patienten, die keine antiretrovirale Therapie erhielten (n= 21), wiesen die höchsten Uridinplasmaspiegel auf mit $6,53 \pm 1,55$ $\mu\text{mol/l}$.

Die dideoxy-NRTI-Gruppe hatte um 11% niedrigere Uridinplasmaspiegel als die Patientengruppe ohne antiretrovirale Therapie. Dieser Unterschied war signifikant ($p=0,03$).

Innerhalb der Patientengruppe ohne Therapie waren die Werte der therapienaiven Patienten (n=16) mit $6,39 \pm 1,66$ $\mu\text{mol/l}$ im Vergleich zu den Patienten, die eine Therapiepause machten (n=5), mit $6,99 \pm 1,14$ $\mu\text{mol/l}$ erniedrigt (n.s.).

4.13.1 Uridinspiegel in der dideoxy-NRTI-Gruppe

Tab. 4-15 stellt die Uridinplasmaspiegel bezüglich der unterschiedlichen dideoxy-NRTIs dar. Die Patienten, die mit ddC behandelten wurden (n=2), hatten den niedrigsten Uridinspiegel mit $4,60 \pm 1,62$ $\mu\text{mol/l}$ innerhalb dieser Patientengruppe. Der Uridinspiegel der Patienten (n=16), die mit d4T behandelt wurden, lag bei $5,65 \pm 1,68$ $\mu\text{mol/l}$. Patienten, die d4T und ddI erhielten, hatten einen Uridinspiegel von $5,71 \mu\text{mol/l}$. Unter der Therapie mit ddI fand sich mit $6,23 \mu\text{mol/l} \pm 2,75$ der höchste Uridinspiegel innerhalb der dideoxy-NRTI-Gruppe. Der Unterschied der Uridinplasmaspiegel zwischen den verschiedenen dideoxy-NRTIs war nicht signifikant.

Therapie	N	Uridin ($\mu\text{mol/l}$)	
		MW	SD
d4T	16	5.65	1.68
d4T+ddI	20	5.71	1.24
ddI	5	6.23	2.75
ddC	2	4.60	2.31

Tab. 4-15 Uridinmittelwerte von Patienten, die mit verschiedenen dideoxy-NRTIs behandelt wurden.

4.13.2 Uridinspiegel in der ohne-dideoxy-NRTI-Gruppe

In Tab. 4-16 sind die Uridinplasmaspiegel der 111 Patienten, die mit NRTIs, aber ohne dideoxy-NRTIs behandelt wurden, anhand der verschiedenen NRTI-Kombinationen dargestellt. Der Mittelwert von $6,15 \pm 2,19 \mu\text{mol/l}$ der Patienten, die mit AZT behandelt wurden ($n=103$), lag geringfügig unter dem Mittelwert von $6,22 \pm 1,12 \mu\text{mol/l}$ der Patienten, die kein AZT bekamen ($n=8$). Es bestand kein signifikanter Unterschied des Uridinplasmaspiegels zwischen den verschiedenen Kombinationen.

Uridin ($\mu\text{mol/l}$)			
Therapie	N	MW	SD
AZT+3TC	55	6.12	1.88
AZT+3TC+ABC	43	6.21	2.57
AZT+sonstige	5	5.9	1.97
ohne AZT	8	6.22	1.12

Tab. 4-16: Mittelwerte der Uridinplasmaspiegel von Patienten, die mit verschiedenen NRTIs behandelt wurden (ohne dideoxy-NRTIs).

4.14 Uridinspiegel von Patienten mit und ohne Begleiterkrankungen in verschiedenen Therapiegruppen

Abb. 4-10 zeigt die Uridinplasmaspiegel von Patienten mit und ohne Begleiterkrankungen in der jeweiligen Therapiegruppe.

Die hellgrauen Balken stellen Patienten mit Begleiterkrankungen dar (in Abb. 4-10). Tab. 4-17 zeigt die Werte der entsprechenden Uridinspiegel. Von der dideoxy-NRTI-Gruppe mit den niedrigsten Spiegeln ließ sich bis zur keine-Therapie-Gruppe mit den höchsten Spiegeln ein gleichmäßiger Anstieg der Uridinspiegel erkennen um insgesamt 10%.

Die dunkelgrauen Balken stellen Patienten ohne Begleiterkrankungen dar (in Abb. 4-10). Die Werte der entsprechenden Uridinspiegel sind in Tab. 4-17 aufgeführt. Der Anstieg des Uridinspiegels von der dideoxy-NRTI-Gruppe bis zur keine-Therapie-Gruppe war mit 23% mehr als doppelt so groß wie bei den Patienten mit Begleiterkrankungen. Dabei war der Anstieg nicht gleichmäßig, sondern lag vor allem zwischen der dideoxy-NRTI- und der ohne-dideoxy-NRTI-Gruppe.

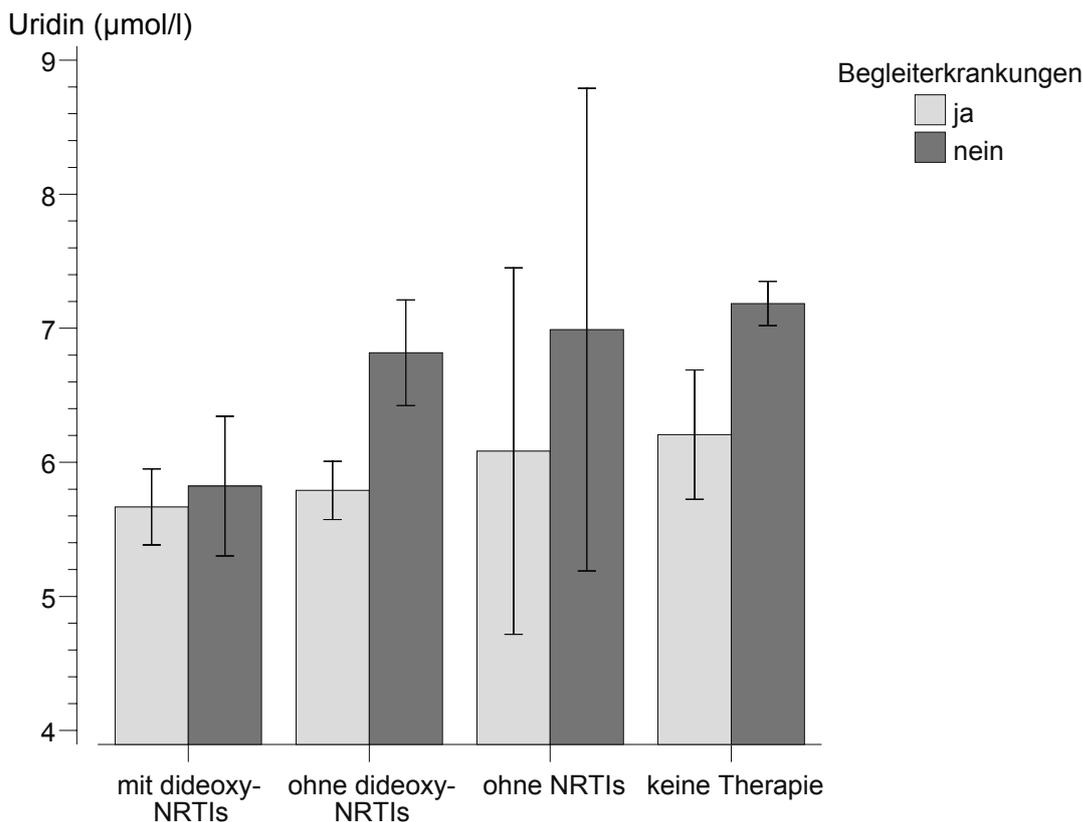


Abb. 4-10: Uridinplasmaspiegel von HIV-Patienten mit und ohne Begleiterkrankung (LDS, virale Hepatitis, Fettleber, PNP, Diabetes mellitus) in den 4 Therapiegruppen.

Therapieregime	Begleit-KH	Uridin (µmol/l)		
		N	MW	SD
mit dideoxy-NRTIs	ja	35	5.67	1.68
sonstige NRTIs	ja	72	5.79	1.84
keine NRTIs	ja	5	6.08	3.06
keine Therapie	ja	14	6.21	1.81
mit dideoxy-NRTIs	nein	8	5.82	1.47
sonstige NRTIs	nein	39	6.82	2.46
keine NRTIs	nein	2	6.99	2.55
keine Therapie	nein	7	7.18	0.44

Tab. 4-17: Uridinplasmaspiegel von HIV-Patienten mit unterschiedlichen Therapieregimen, aufgeteilt nach Bestehen einer Begleiterkrankung (LDS, virale Hepatitis, Fettleber, PNP, Diabetes mellitus).

4.15 Uridin und chemisch-klinische Befunde

Tab. 4-18 zeigt eine Korrelation der Uridinplasmaspiegel mit klinisch-chemischen Parametern. Die Uridinplasmaspiegel korrelierten positiv mit Cholinesterase ($\tau=0,122$, $p=0,02$), Creatinkinase ($\tau=0,116$, $p=0,02$), Gesamt-Cholesterin ($\tau=0,111$, $p=0,03$) und LDL-Cholesterin ($\tau=0,134$, $p<0,01$). Mit den Triglyzeridwerten korrelierte Uridin signifikant negativ ($\tau=0,135$, $p<0,01$).

	Korrelation mit Uridin		
	n	tau	p
Glukose	181	0.006	0.91
Kreatinin	181	-0.011	0.83
Harnsäure	181	-0.083	0.10
Bilirubin	181	-0.052	0.32
ChE	181	0.122	0.02 *
GOT	182	-0.050	0.32
GPT	180	-0.049	0.33
GLDH	181	-0.010	0.84
GGT	181	-0.016	0.74
AP	157	-0.001	0.99
Laktat	164	0.031	0.56
LDH	182	0.000	1.00
CK	182	0.116	0.02 *
Amylase	181	0.032	0.52
Lipase	180	0.014	0.78
Triglyzeride	182	-0.135	<0.01 **
Cholesterin	182	0.111	0.03 *
LDL-Cholesterin	181	0.134	<0.01 **
HDL-Cholesterin	182	0.068	0.18
CRP	170	-0.023	0.66

Tab. 4-18: Uridin und chemisch-klinische Befunde. τ =Korrelationskoeffizient.

4.16 Multiple Regression klinischer Befunde, Medikation und Laborwerte

Eine multiple lineare Regression zur Beschreibung der Einflüsse der Begleiterkrankungen, der Medikation und der klinisch-chemischen Befunde auf den Uridinplasmaspiegel des Patientenkollektivs ergab als signifikante Prädiktoren Fettleber, Diabetes mellitus, log HDL und Cholinesterase (Tab. 4-19). Zwischen den Prädiktoren bestand keine Interaktion.

Prädiktor	B-Gewicht	Beta-Gewicht	SE(beta)	p(beta)
Fettleber	-0.147	-0.1802	0.078	0.022 *
Diabetes	-0.360	-0.1543	0.076	0.043 *
log HDL	0.384	0.1627	0.075	0.033 *
Cholinesterase	0.000	0.1601	0.076	0.036 *
log Lipase	0.330	0.1490	0.078	0.057

Tab. 4-19 Multiple lineare Regression für das Kriterium Uridin (wurzeltransformiert). n= 159 (Patienten mit bekanntem Befund für Fettleber). B-Gewicht= Faktor der Prädiktor-Variablen in der Schätz-Gleichung, Beta-Gewicht= Normiertes B-Gewicht, SE(beta)=Streuung (Standardfehler) von beta, p(beta)=Signifikanz von beta

Es ergab sich für Uridin folgende Schätzgleichung:

$$\text{Uridin} = (1.1499 - 0.1469 \times \text{Fettleber} - 0.3602 \times \text{Diabetes} + 0.384 \times \log(\text{HDL}) + 0.000028 \times \text{Cholinesterase} + 0.3301 \times \log(\text{Lipase}))^2$$

Der multiple Korrelationskoeffizient r der Schätzgleichung betrug 0.37, mit einer Signifikanz von $p = 0,0004$.

4.17 Verlauf der Uridinspiegel im 1. Beobachtungszeitraum

Abb. 4-11 bis 4-16 stellen den zeitlichen Verlauf der Uridinplasmaspiegel des Patientenkollektivs im ersten Beobachtungszeitraum dar. Die Berechnung der Regressionslinie (rote Linie) erfolgte mit der seriellen Regression nach Boadi-Boateng. Die Geraden in magenta und blau kennzeichnen das 90% und das 97% Konfidenzintervall. Modellbedingt ist die Änderung des Uridinplasmaspiegels zu Beginn des Beobachtungszeitraums stärker, als in den Folgemonaten.

4.17.1 Verlauf der Uridinspiegel in der dideoxy-NRTI-Gruppe

Von 23 der 43 Patienten (53,5%), die dideoxy-NRTIs einnahmen, waren Mehrfachmessungen vorhanden. Bei Patienten mit steigendem Uridinplasmaspiegel lag dieser bei der Erstmessung im Mittel bei $4,7 \pm 1,42 \mu\text{mol/l}$ und bei den Patienten mit fallendem Spiegel im Mittel bei $5,9 \pm 1,52 \mu\text{mol/l}$. Insgesamt zeigte sich ein Abfall der Werte (rote Linie). Nach 12 Monaten war die Regressionslinie um 9,8% abgefallen. Patienten mit sinkendem Spiegel hatten signifikant häufiger Lipoatrophie (7/11, bzw. 63,6%) als Patienten mit steigendem Spiegel. Hinsichtlich anderer klinischer Befunde bestanden keine signifikanten Unterschiede.

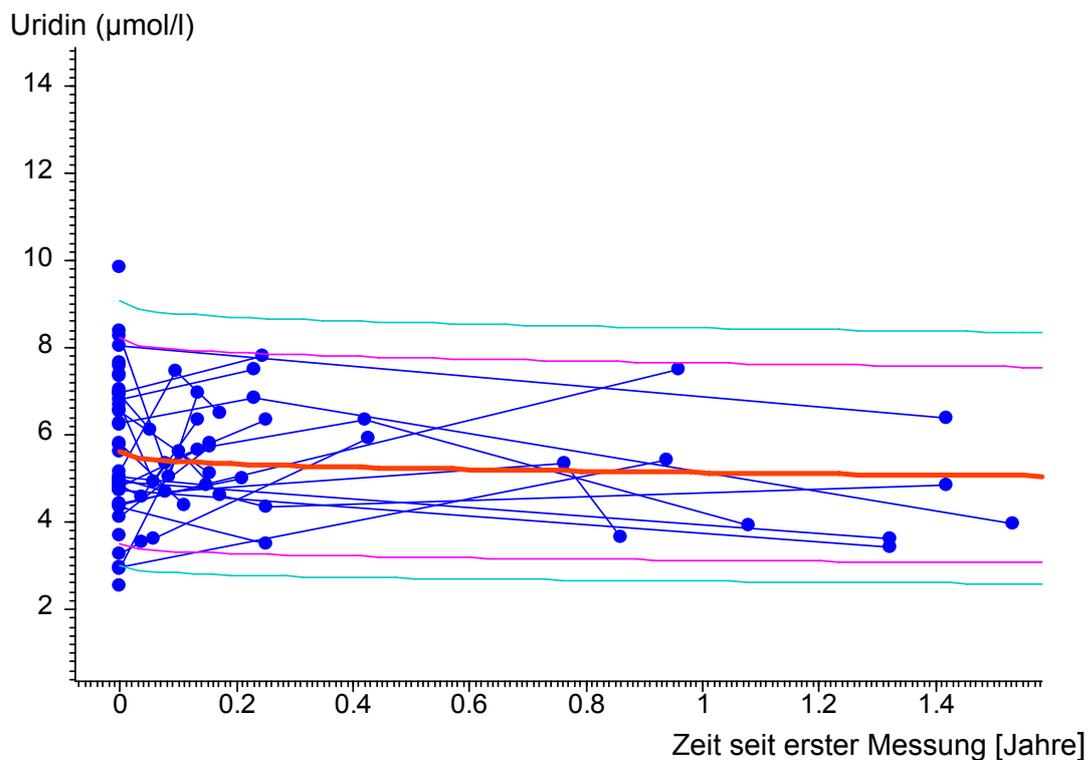


Abb. 4-11 zeitlicher Verlauf der Uridinspiegel bei Patienten mit dideoxy-NRTIs. Y-Achse Uridin, x-Achse Zeit. Bedeutung der Geraden: äußerste (hellblau)=97% CI; zweitäußerste (pink)=90% CI; mittige, fett (rot)=Regressionslinie.

4.17.2 Verlauf der Uridinspiegel in der ohne-dideoxy-NRTI-Gruppe

Von 58 der 111 Patienten (52,2%) waren Mehrfachmessungen vorhanden. Von diesen zeigten 35 (60,3%) einen Anstieg, 23 (39,7%) einen Abfall des Uridinspiegels. Die Patienten mit Anstieg hatten im Mittel einen Uridinspiegel von $5,53 \pm 1,54 \mu\text{mol/l}$ bei der

Erstmessung, die Werte der Patienten mit abfallendem Uridinplasmaspiegel lagen bei $6,80 \pm 2,51 \mu\text{mol/l}$.

Abb. 4-12 stellt den zeitlichen Verlauf der Uridinplasmaspiegel im Beobachtungszeitraum dar. Insgesamt zeigte sich ein Anstieg der Werte (rote Linie). Nach 12 Monaten war die Regressionslinie um 4,3% angestiegen. Die Patientin mit einem Uridinspiegel über $14 \mu\text{mol/l}$ wies keine Begleiterkrankungen auf, es bestand jedoch ein starker Alkoholkonsum. Bei der Patientin mit dem Uridinspiegel bei $1,03 \mu\text{mol/l}$ bestand V.a. Lipodystrophie-Syndrom (Mischbild) und V.a. HIV-assoziierte Myopathie. Ferner hatte sie auffallend hohe Glukosewerte (140mg/dl , 130mg/dl).

Bei Patienten mit sinkendem Wert fanden sich häufiger Virushepatitiden ($9/14$; $39,1\%$) als bei Patienten mit steigendem Wert ($6/24$; $17,6\%$) ($p=0,06$). Hinsichtlich anderer klinischer Befunde bestanden keine signifikanten Unterschiede.

Bei Patienten, die kein AZT erhielten ($n=4$), stiegen die Uridinmittelwerte ($p=0,04$).

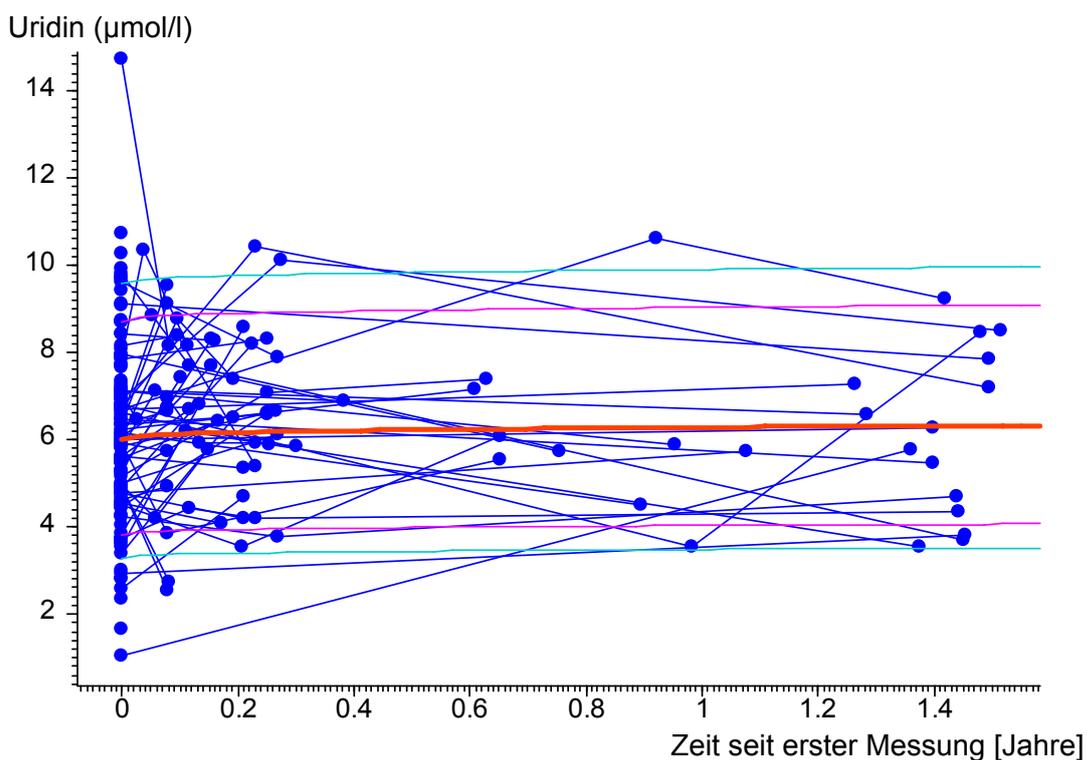


Abb. 4-12 zeitlicher Verlauf der Uridinspiegel bei Patienten bei HIV-Patienten unter NRTIs (ohne dideoxy-NRTIs). Y-Achse Uridin, x-Achse Zeit. Bedeutung der Geraden: äußerste (hellblau)=97% CI; zweitäußerste (pink)=90% CI; mittige fett (rot)=Regressionslinie.

4.17.3 Verlauf der Uridinspiegel in der ohne-NRTI-Gruppe

Abb. 4-13 stellt den zeitlichen Verlauf der Uridinplasmaspiegel von HIV-Patienten dar, deren Therapie keine NRTIs enthielt. Von 3 der 7 Patienten lagen Mehrfachmessungen vor. Es zeigte sich ein Anstieg der Regressionslinie um 6,5% nach 12 Monaten.

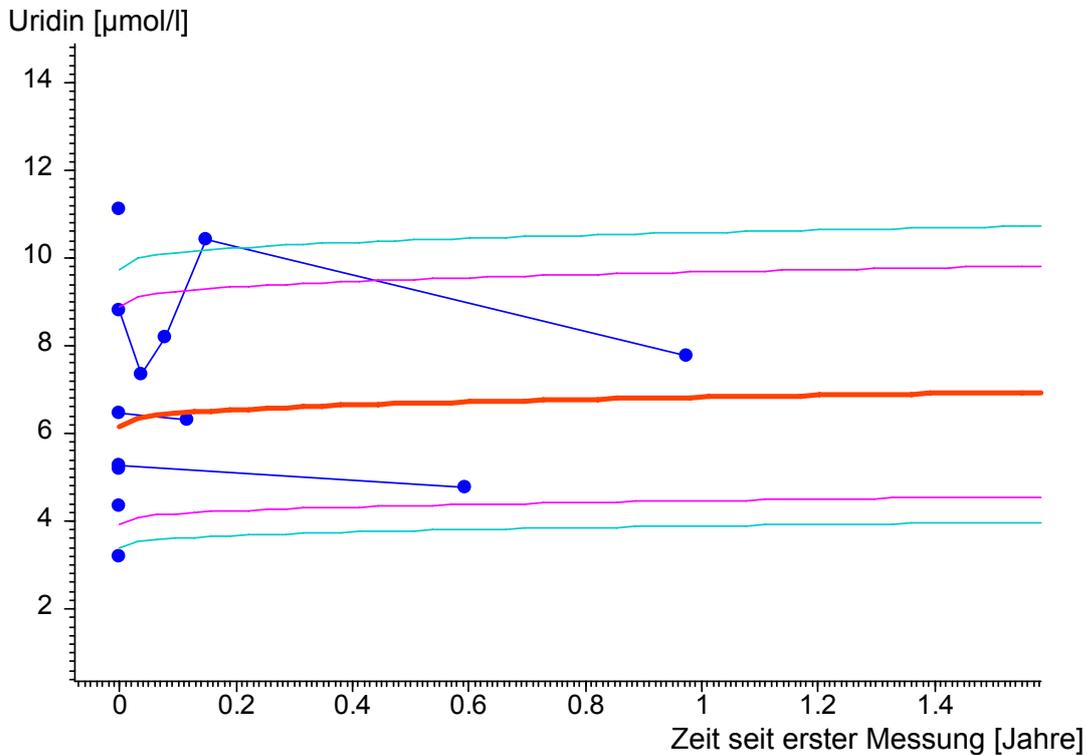


Abb. 4-13 zeitlicher Verlauf der Uridinspiegel bei Patienten ohne NRTIs. Y-Achse Uridin, x-Achse Zeit. Bedeutung der Geraden: äußerste (hellblau)=97% CI; zweitäußerste (pink)=90% CI; mittige, fett (rot)=Regressionslinie.

4.17.4 Verlauf der Uridinspiegel bei HIV-Patienten ohne Therapie

Von den 21 Patienten, die keine antiretrovirale Therapie erhielten, lagen bei 14 Patienten (60,9 %) Mehrfachmessungen vor. Bei 8 Patienten (57,1%) kam es zu einem Anstieg der Uridinspiegel und bei 6 zu einem Abfall. Die Erstmessung der steigenden Spiegel lag im Mittel bei $5,46 \pm 1,62 \mu\text{mol/l}$, während sie bei den fallenden Spiegeln $8,08 \pm 0,74 \mu\text{mol/l}$ betrug.

Abb. 4-14 stellt den zeitlichen Verlauf der Uridinplasmaspiegel im Beobachtungszeitraum dar. Es zeigte sich ein Anstieg der Regressionslinie um 7,2% innerhalb von 12 Monaten. Patienten mit sinkenden Werten hatten fast doppelt so häufig (62,5%) eine Fettleber wie Patienten mit steigenden Werten (33,3%).

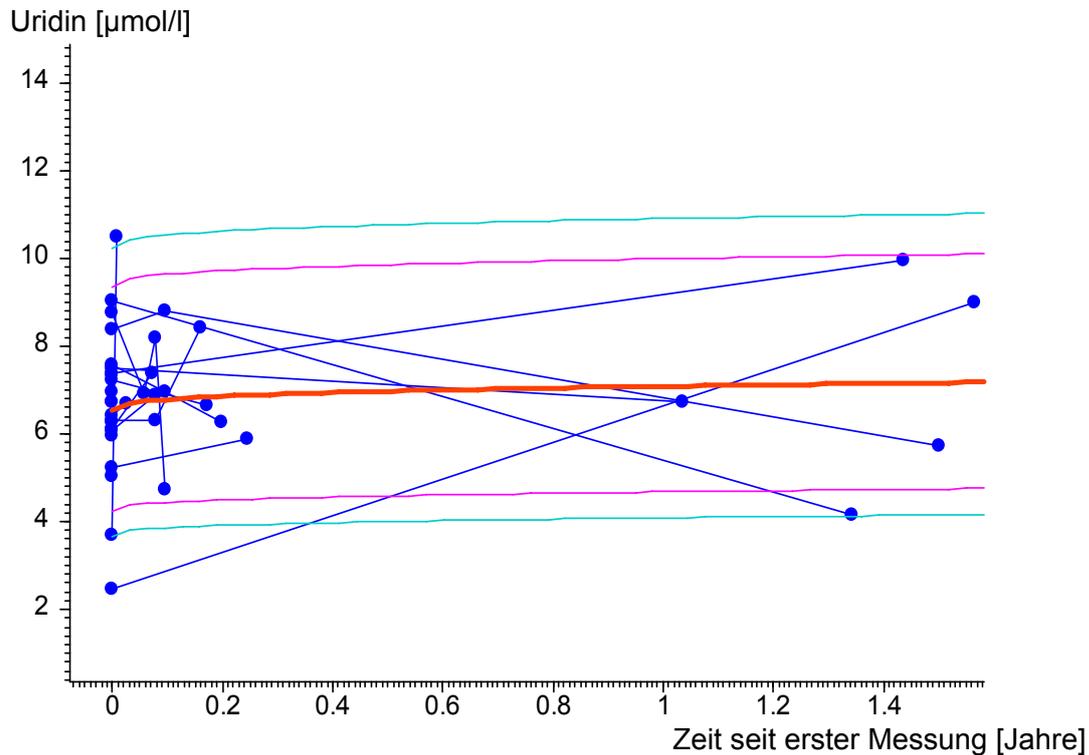


Abb. 4-14: zeitlicher Verlauf der Uridinspiegel bei Patienten ohne Therapie. Y-Achse Uridin, x-Achse Zeit. Bedeutung der Geraden: äußerste (hellblau)=97% CI; zweitäußerste (pink)=90% CI; mittige, fett (rot)=Regressionslinie.

4.17.5 Vergleich der Uridinspiegel im Verlauf bei unterschiedlichem Therapieregime

Bei einem Vergleich der y-Streckenabschnitte sowie der Steigungen der 4 Regressionsgeraden aus Kap. 4.17.1 - 4.17.4 bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den 4 Therapiegruppen. Die Patienten, die mit dideoxy-NRTIs behandelt wurden, zeigten als einzige Therapiegruppe einen deutlichen Abfall des Uridinplasmaspiegels im Verlauf des Beobachtungszeitraums.

Abb. 4-15 zeigt einen grafischen Vergleich der Uridinplasmaspiegel der 4 Therapiegruppen im Verlauf. Dabei wurden für jede Therapiegruppe via Interpolation monatliche Mittelwerte berechnet. Generell gilt, dass zum Ende des Beobachtungszeitraums weniger Messwerte vorlagen, so dass die Standardfehler der Mittelwerte dort größer wurden.

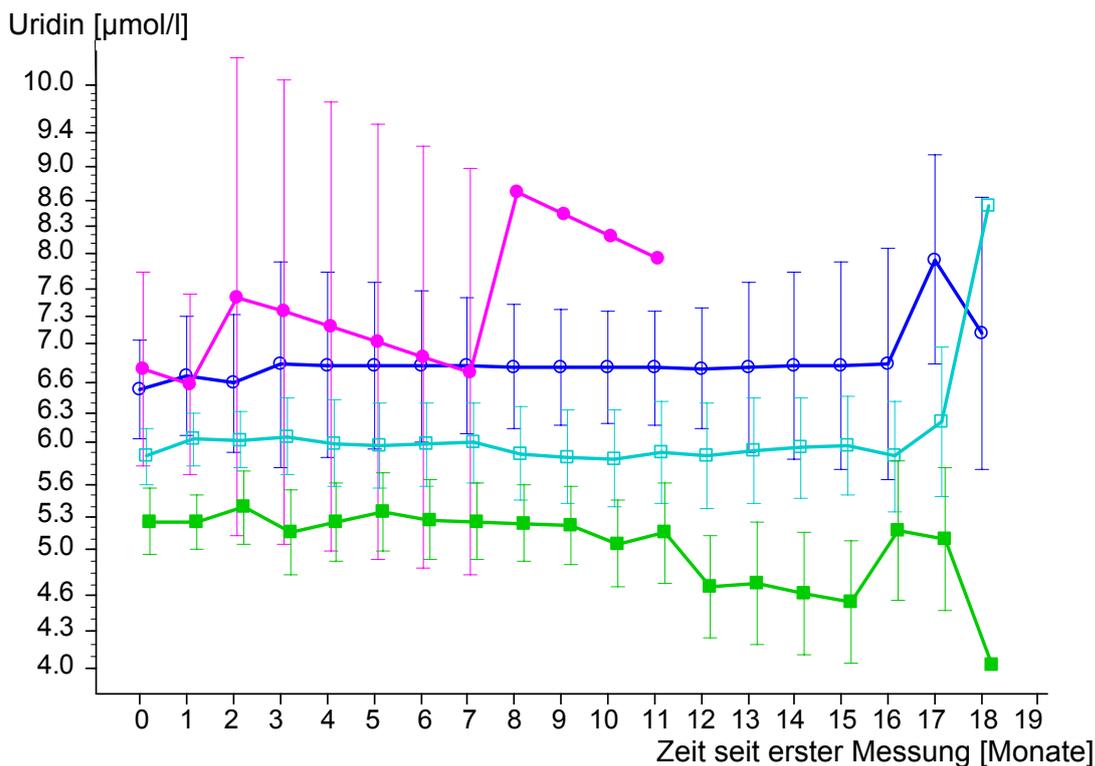


Abb. 4-15: zeitlicher Verlauf der Uridinplasmaspiegel bei 4 Therapiegruppen mit unterschiedlichem Therapieregime. Fehlerbalken entsprechen Standardfehler. Die monatlichen Messwerte wurden durch Interpolation berechnet. y-Achse Uridinwerte (wurzeltransformiert, x-Achse Zeit (Monate)) ○ = keine-Therapie-Gruppe, ● = keine-NRTI-Gruppe, □ = ohne-dideoxy-NRTI-Gruppe, ■ = dideoxy-NRTI-Gruppe

Bei der keine-Therapie-Gruppe (nicht ausgefüllte Punkte) zeigte sich ein gering ansteigender Uridinspiegel. Bei der keine-NRTI-Gruppe (ausgefüllte Punkte) lagen nur von 3 der 7 Patienten Mehrfachmessungen vor, was die starken Schwankungen erklärt. Bei den letzten 4 Messungen lag jeweils nur 1 Messwert vor.

Bei der ohne-dideoxy-NRTI-Gruppe (nicht ausgefüllte Kästchen) zeigte sich bis zum 16. Monat eine gleich bleibende, bis abfallende Tendenz der Mittelwerte. Danach kam es zu einem Anstieg, der einen Ausreißer darstellt, da zu wenige Messwerte vorlagen. Die dideoxy-Gruppe (ausgefüllte Kästchen) zeigte eine deutlich abfallende Tendenz der Mittelwerte. Im Vergleich zu den anderen Gruppen wies sie auch die niedrigsten Uridinplasmaspiegel überhaupt auf. Am Ende des Beobachtungszeitraums nehmen die Schwankungen ebenfalls aufgrund zu weniger Messwerte zu.

4.18 Uridinspiegel im Follow-up nach Therapiewechsel

Im Follow-up nach Therapiewechsel wurden bei 13 Patienten, die d4T oder ddI im Mittel seit $12,5 \pm 8$ Monaten (mindestens seit 1 Monat) abgesetzt hatten, wiederholt der Uridinspiegel gemessen. Es wurden insgesamt 32 Messungen durchgeführt. Bei 7 Patienten (53,8%) kam es zu einem Anstieg (Abb. 4-16), 6 Patienten zeigten einen Abfall des Uridinplasmaspiegels (Abb. 4-17). In Tab. 4-20 sind Charakteristika der einzelnen Patienten aufgeführt.

Patienten mit ansteigendem Spiegel wiesen vor der Therapieumstellung einen mittleren Uridinplasmaspiegel von $5,26 \pm 1,13 \mu\text{mol/l}$ auf. Patienten mit steigenden Werten hatten im Mittel seit $8,4 \pm 7,7$ Monaten dideoxy-NRTIs abgesetzt, während Patienten mit fallenden Werten diese seit $17,3 \pm 6,9$ Monaten abgesetzt hatten ($p=0,045$).

Patienten mit fallenden Werten wiesen vor der Therapieumstellung einen mittleren Uridinplasmaspiegel von $5,87 \pm 1,2 \mu\text{mol/l}$. Sie waren länger mit HIV infiziert, als Patienten mit steigenden Werten. 3 der 6 Patienten (50%) mit fallenden Werten hatten eine virale Hepatitis, bei den Patienten mit steigenden Werten nur 1 von 7 (14,3%).

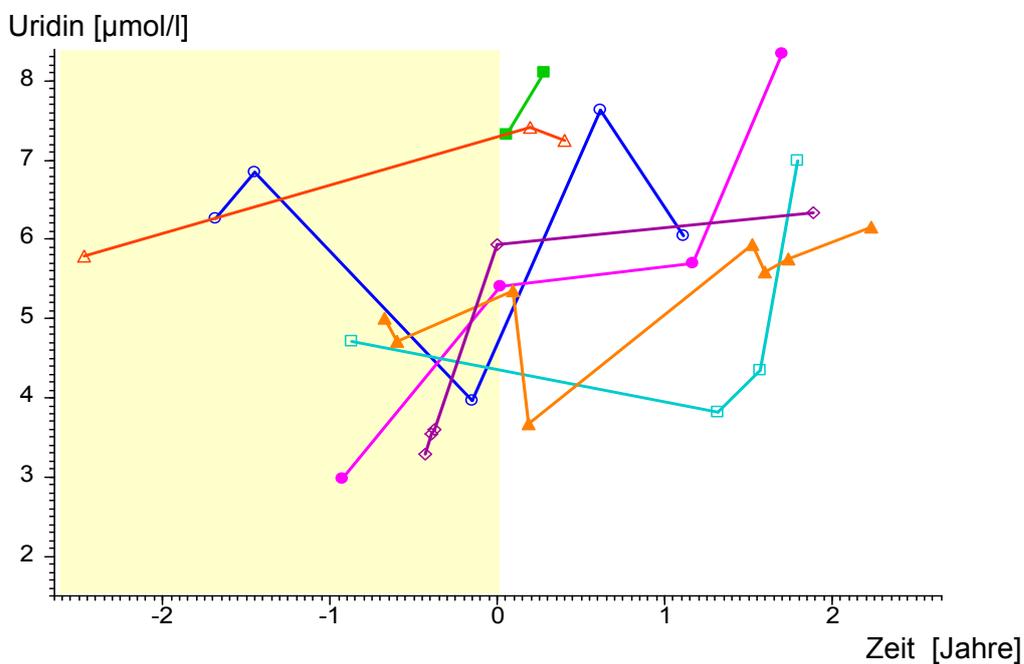


Abb. 4-16: Uridinplasmaspiegel im Verlauf bei HIV-Patienten mit ansteigenden Spiegeln vor und nach Absetzen der dideoxy-NRTIs. 0 kennzeichnet den Zeitpunkt der Therapieumstellung. Patientennummer: ○=1, ●=2, □=3, ■=4, △=5, ▲=6, ◇=7

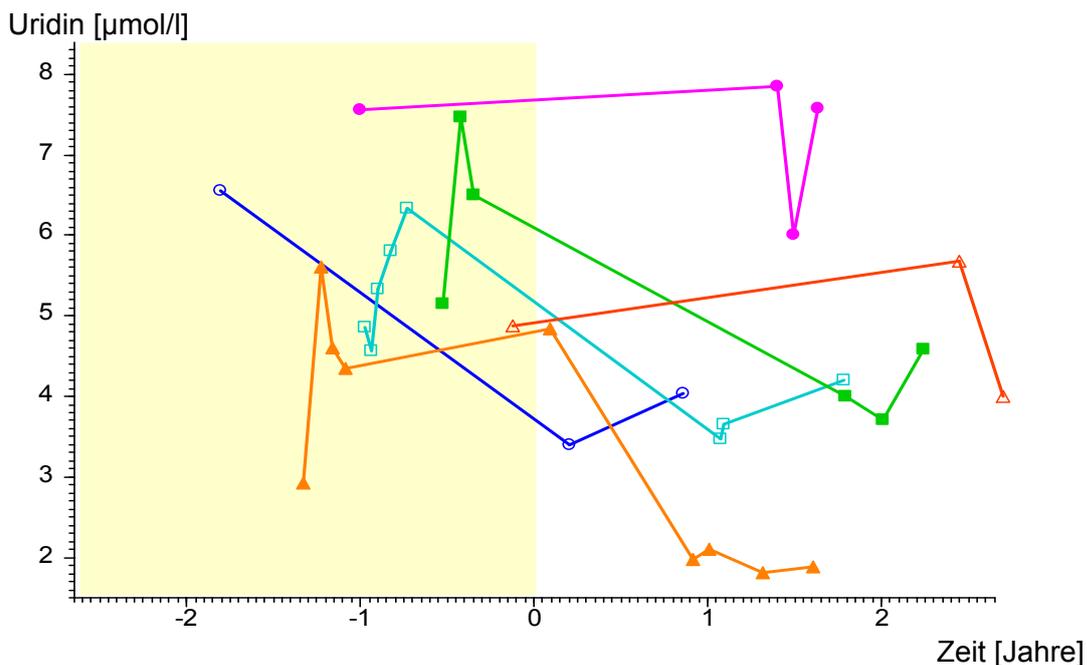


Abb. 4-17: Uridinplasmaspiegel im Verlauf bei HIV-Patienten mit abfallenden Spiegeln vor und nach Absetzen der dideoxy-NRTIs. 0 kennzeichnet den Zeitpunkt der Therapieumstellung. Patientennummer: ○=8, ●=9, □=10, ■=11, △=12, ▲=13

Pat.Nr.	Monate seit Absetzen	Trend	Klinische Befunde	Therapie vorher	Therapie nachher
1	9	↑	LA, FL, HepC, Zirrh.	EFV, 3TC, D4T	EFV, 3TC, TDF
2	2	↑	FL, Alkoholabusus	SQV, AZT, DDC	LPVr, EFV, TDF
3	13	↑	-	NVP, DDI, D4T	3TC, TDF, LPVr
4	12	↑	LH, FL, Leberzyste	d4T, 3TC, LPVr	AZT, 3TC, ABC
5	2	↑	-	LPVr, DDI, D4T	LPVr, FTC, TDF
6	1	↑	FL	EFV, DDI, D4T	FosAPV, ATVr, FTC, TDF
7	20	↑	Tox.Leberzellschaden	3TC, DDI	LPVr, 3TC, EFV
8	7	↓	FL, HepC, Hämophilie A	LPVr, DDI, D4T	EFV, AZT, 3TC, TDF
9	15	↓	-	NVP, DDI, D4T	3TC, TDF, LPVr
10	16	↓	LA, FL, HepC+ B	NVP, 3TC, D4T	AZT, 3TC, FosAPV/r
11	17	↓	PNP, FL, Dm, Kachexie	EFV, DDI, D4T	EFV, FTC, TDF
12	21	↓	HepC, Zustand nach iv Drogenabusus	3TC, D4T	ABC, 3TC, EFV
13	28	↓	PNP	LPVr, 3TC, AZT D4T	TDF, FTC, ATVr

Tab. 4-20 Charakteristika der Patienten. LA=Lipoatrophie, HepB/C=Hepatitis B oder - C, Zirrh=Leberzirrhose, FL=Fettleber, Dm=Diabetes mellitus

5 Diskussion

Die Ergebnisse von Kapitel 4.1 bis 4.5 werden nicht explizit diskutiert, sondern dienen der Interpretation der Ergebnisse, die den Uridinplasmaspiegel betreffen.

Kapitel 5.1 bietet zum besseren Verständnis der nachfolgenden Diskussion einen kurzen Überblick über Stoffwechsel und biologische Funktionen von Uridin.

5.1 Überblick über Stoffwechsel und biologische Funktionen von Uridin

Pyrimidine (Uracil, Cytosin, Thymin) stellen heterozyklische, sechsgliedrige, stickstoffenthaltende Kohlenstoffringe dar und sind als Basen in den Nukleosiden Uridin, Cytidin und Thymidin mit einem Ribosering verknüpft. Uridin ist unabdingbar für ein normales Zellwachstum durch seine Rolle als RNA-Baustein sowie für die Biosynthese von Makromolekülen und Zellmembranen in Form von UDP-aktivierten Zuckern und -Lipiden. Außerdem scheint Uridin eine wichtige Rolle in der Regulation verschiedener biologischer Funktionen von Säugetieren zu spielen. Diese beinhalten u.a. Spermatogenese, Herz-Kreislauf-System, Atemsystem und Nervensystem [118, 119].

Uridinmonophosphat (UMP) kann über 2 unterschiedliche Wege hergestellt werden. Die Biosynthese erfolgt entweder durch einen mehrstufigen Prozess (de novo-Biosynthese) aus Carbamylphosphat und Aspartat zu Uridinmonophosphat (UMP) oder durch Wiederverwertung (Salvage-Pathway) von Uridin, das dafür aus dem Blutplasma aufgenommen wird oder bei der Degradierung der Nukleotide in der Zelle anfällt. Während Wachstum und Entwicklung ist die de novo-Synthese in fast allen Geweben von Säugetieren vorherrschend. Im Erwachsenenalter besitzen vor allem Leber und Niere eine hochaktive de novo-Synthese von Uridin [120]. In anderen Geweben dahingegen dominiert eher der Salvage-Pathway, so dass diese damit wahrscheinlich auf eine kontinuierliche Versorgung von Uridin aus dem Blut angewiesen sind [120].

Der Leber scheint dabei eine zentrale Rolle in der Kontrolle und Aufrechterhaltung des Uridinplasmaspiegels zuzukommen, unter anderem um peripheren Geweben zusätzliches Uridin für den Salvage-Pathway zur Verfügung zu stellen [118, 121, 122]. Über den Darm resorbiertes und aus peritonealen Organen stammendes Uridin wird in einer Leberpassage bis zu einer Schwelle von 50 $\mu\text{mol/l}$ nahezu vollständig von dieser aus

dem Blut resorbiert, degradiert und vor allem durch Uridin aus der de novo-Synthese ersetzt [123-125].

Die Uridinplasmaspiegel gesunder Erwachsener liegen bei 5-10 $\mu\text{mol/l}$ [126], wobei in der Literatur auch niedrigere (3-5 $\mu\text{mol/l}$) und höhere (bis 15 $\mu\text{mol/l}$) Werte angegeben werden [127]. Die in den Quellen ermittelte höchste Anzahl an untersuchten gesunden Erwachsenen betrug $n=19$ [128].

Ein zirkadianer Rhythmus des Uridinkatabolismus bedingt erniedrigte Uridinplasmaspiegel in den Abendstunden [129]. Auch nach Nahrungszufuhr kann es zu kurzfristig erhöhten Uridinplasmaspiegeln kommen [118]. Fasten hat keinen Einfluss auf die Uridinplasmaspiegel [130]. Die Halbwertszeit von Uridin im Blut liegt bei ungefähr 2 Minuten, die von Gewebepools bei 13-18h [131].

5.2 Uridinspiegel der Kontrollgruppe und des Patientenkollektivs

5.2.1 Kontrollgruppe

Die Uridinplasmaspiegel der Kontrollgruppe betrugen im Mittel $7,31 \pm 2,12 \mu\text{mol/l}$ und lagen damit im mittleren bis oberen Drittel der gefundenen Vergleichswerte [126-128, 130]. Die hier untersuchte Anzahl an Personen war mit $n=30$ aber oft mehr als doppelt so groß wie in den anderen Untersuchungen.

Einzelne Messwerte wichen um bis zu 51% vom Mittelwert ab, lagen aber noch in den Grenzen der Referenzwerte aus der Literatur [118, 126, 127, 130].

Die maximale intraindividuelle Schwankung des Uridinplasmaspiegels in der Kontrollgruppe betrug 2,9-10,8 $\mu\text{mol/l}$ und stimmte damit ungefähr mit einer in der Literatur gefundenen intraindividuellen Schwankung von 2,9-8,9 $\mu\text{mol/l}$ überein [130]. Die bei einer Person gemessenen niedrigsten und höchsten Werte konnten somit ungefähr um das bis zu 3-fache voneinander abweichen.

5.2.2 Patientenkollektiv

Der mittlere Uridinplasmaspiegel der HIV-Patienten waren mit $6,1 \pm 1,99 \mu\text{mol/l}$ signifikant niedriger (um 20%) als der mittlere Uridinplasmaspiegel der Kontrollgruppe. Die meisten Werte lagen aber damit noch innerhalb des 68% Konfidenzintervalls des Mittelwertes der Kontrollgruppe und im mittleren bis unteren Drittel der Referenzwerte

gesunder Erwachsener aus den Literaturangaben (s.o.). Der mittlere Uridinplasmaspiegel der HIV-Patienten kann daher nicht als pathologisch erniedrigt angesehen werden. Mögliche Gründe für die signifikante Erniedrigung werden in Kap.5.6 - 5.10 diskutiert. Einzelne Messwerte wichen um bis zu 140% vom Mittelwert ab. Die prozentuale Abweichung einzelner Wert vom Mittelwert war damit mehr als doppelt so groß wie die der Kontrollgruppe.

Die maximale intraindividuelle Schwankung des Uridinplasmaspiegels reichte von 3,71 bis 10,49 $\mu\text{mol/l}$. Bei einer Person gemessene Werte können somit ebenfalls ungefähr um den Faktor 3 schwanken wie in Kontrollgruppe und Literaturangaben [130].

5.2.3 Mögliche Ursachen für die Schwankung der Uridinspiegel

Für die intraindividuelle Schwankung der Spiegel könnten mehrere Faktoren eine Rolle spielen: Obwohl die meisten Blutabnahmen vormittags erfolgten, konnte mangels Zeitangaben in den vorhandenen Daten nicht ausgeschlossen werden, dass einige Blutabnahmen eventuell auch nachmittags oder abends erfolgten. Da der Uridinplasmaspiegel durch einen aktiveren Katabolismus abends erniedrigt sein kann, könnte dies einige Messwerte beeinflusst haben [129]. Des weiteren kann eine nicht schnell erfolgte Weiterverarbeitung oder eine Hämolyse der Blutproben den Uridingehalt mindern [132]. Die Patienten wurden instruiert, nüchtern zur Blutentnahme zu erscheinen, da Nahrungsaufnahme den Uridinplasmaspiegel zumindest kurzfristig sowohl ansteigen als auch absinken lassen kann [128, 133-135]. Nach Ethanol- und Glukoseingestion ist für bis zu 2 Stunden ein um circa 20% erhöhter Uridinplasmaspiegel feststellbar [133, 134]. In Bier ist Uridin enthalten, was auch zu einem Anstieg führen kann, selbst wenn das Bier alkoholfrei ist [136]. Auch stärkere körperliche Anstrengung beeinflusst den Uridinplasmaspiegel positiv [137].

Die mehr als doppelt so hohe prozentuale Abweichung einzelner Messwerte vom Mittelwert in der Patientengruppe könnte darauf hindeuten, dass bei einigen Patienten eine mangelnde Compliance bezüglich Nahrungsaufnahme oder Alkoholverbot bestand oder dass der Uridinplasmaspiegel durch deren Medikation oder Erkrankungen beeinflusst wurde.

5.3 Uridinmittelwerte bei einmaliger und mehrmaliger Messung

Der Mittelwert, der nur aus den Erstmessungen der HIV-Patienten bzw. der Kontrollgruppe berechnet wurde, unterschied sich nicht signifikant von dem Mittelwert, der aus den Mittelwerten der Messreihen (wiederholte Messungen über einen Zeitraum von 2 Jahren) eines jeden Patienten bzw. Probanden berechnet wurde. Dies deutet darauf hin, dass der Uridinplasmaspiegel in den oben beschriebenen Grenzen in Übereinstimmung mit der Literatur streng reguliert wird, um Organen, die ihren Uridinbedarf vor allem über den Salvage-Pathway beziehen, wie zum Beispiel das Gehirn, eine konstante und ausreichende Versorgung mit Uridin zu gewährleisten (siehe auch Kap.5.1) [118, 120, 122].

5.4 Zusammenhänge zwischen Uridin und demografischen Daten

Das Geschlecht zeigte keinen Einfluss auf den Uridinplasmaspiegel. In der Literatur fanden sich keine direkten Vergleiche von Uridinspiegel zwischen Männern und Frauen. Auch Alter und BMI zeigten keinen signifikanten Einfluss auf den Uridinplasmaspiegel, auch wenn mit zunehmendem Alter und BMI der Uridinplasmaspiegel minimal abnahm. In der Literatur fanden sich keine Angaben zu Einflüssen von Alter und BMI auf den Uridinspiegel.

5.5 Zusammenhänge zwischen Uridin und Alkohol- und Tabakkonsum

Alkohol wies keinen signifikanten Einfluss auf den Uridinplasmaspiegel auf. Patienten mit leichtem und starkem Alkoholkonsum wiesen aber im Vergleich zu Patienten, die keinen Alkoholkonsum angaben, erniedrigte Uridinplasmaspiegel auf, wobei dies bei Patienten mit starkem Konsum (>40g/d) am ausgeprägtesten war. Die Uridinplasmaspiegel der Patientengruppe mit mittlerem Konsum war aufgrund von 4 Patienten mit auffallend hohem Spiegel (um 10 $\mu\text{mol/l}$) nicht erniedrigt. Patienten mit starkem Alkoholkonsum wiesen mit 70% deutlich häufiger eine Fettleber auf als durchschnittlich (51%), siehe Kap. 4.4. Da der Leber eine zentrale Rolle in der Kontrolle und Aufrechterhaltung des Uridinplasmaspiegels zuzukommen scheint [118, 121, 122], könnte eine alkoholtoxische Schädigung der Leber zu erniedrigten Uridinplasmaspiegeln führen. Zu bedenken ist allerdings auch, dass Alkohol und das in Bier enthaltene Pseudouridin zu einem kurzfristigen Anstieg des Uridinplasmaspiegels führen können [133, 136]. Zu-

dem wurde die Alkoholanamnese nicht standardisiert, sondern im Rahmen des Arzt-Patientengesprächs erhoben.

Inhalativer Tabakkonsum zeigte ebenfalls keinen signifikanten Einfluss auf den Uridinplasmaspiegel, was auch nicht zu erwarten war.

5.6 Zusammenhänge zwischen Uridin und HIV-Status

Beim HI-Virus selbst gibt es Hinweise auf mitochondriale Toxizität. Es fand sich beispielsweise ein erniedrigter mtDNA-Gehalt und eine verminderte Aktivität mitochondrial kodierter Komplexe der Atmungskette in Monozyten, Muskel- und Nervenzellen therapienaiver HIV-Patienten [38, 47, 48, 50-52]. Eine hohe Viruslast und ein langes Bestehen der Infektion könnten daher eventuell zu einer verstärkten mitochondrialen Toxizität führen. CD4-Zellzahl, Viruslast und Infektionsdauer zeigten in dieser Untersuchung mit Korrelationskoeffizienten von maximal 0,05 jedoch keine signifikante Korrelation mit dem Uridinplasmaspiegel. Ein direkter Einfluss des Virus auf den Uridinplasmaspiegel erscheint daher sehr unwahrscheinlich.

Patienten im Stadium C hatten jedoch auffallend niedrigere Spiegel als Patienten im Stadium A und B. Der Unterschied des mittleren Uridinplasmaspiegels zwischen den 3 Gruppen war aber auch nicht signifikant ($p=0,07$). Die auffallend niedrigen Uridinspiegel der Patienten im Stadium C könnten eventuell mit der antiretroviralen Therapie in Zusammenhang stehen. Sie erhielten signifikant häufiger dideoxy-NRTIs, insbesondere d4T, als die Patienten in Stadium A und B. D4T verfügt über eine stärkere mitochondriale Toxizität als die meisten anderen NRTIs (Kap.1.2.1) und ist mit vielen Langzeitnebenwirkungen, unter anderem auch Hepatotoxizität (Kap.1.3.2), assoziiert. Ein möglicher Einfluss der antiretroviralen Therapie auf den Uridinspiegel wird in Kap. 5.8 ausführlich diskutiert.

5.7 Zusammenhänge zwischen Uridin und Begleiterkrankungen

Die Uridinplasmaspiegel von Patienten mit Begleiterkrankung waren im Mittel um 16% im Vergleich zu Patienten ohne Begleiterkrankung signifikant ($P<0,01$) vermindert. Bei Differenzierung nach den einzelnen Befunden zeigte sich, dass nur bei Patienten mit Fettleber oder Diabetes mellitus Typ 2 signifikant erniedrigte Uridinplasmaspiegel vorlagen.

5.7.1 Fettleber

Der mittlere Uridinplasmaspiegel der HIV-Patienten mit Fettleber war im Vergleich zu HIV-Patienten ohne Fettleber um 11% verringert. Die Bedeutung der Leber für die Homöostase des Uridinplasmaspiegels wurde schon mehrfach erwähnt. Insofern könnten die signifikant erniedrigten Uridinplasmaspiegel durchaus mit einer Erkrankung der Leber in Zusammenhang stehen. Ob dabei eine Störung der Pyrimidin de novo-Synthese durch mitochondriale Toxizität eine Rolle spielt, ist unklar:

Direkte NRTI-assoziierte Hepatotoxizität tritt bei ungefähr 10% der HIV-Patienten auf, pathophysiologisch wird diese unter anderem auf mitochondriale Toxizität zurückgeführt (siehe Kap. 1.3.2) [138, 139]. Die HIV-Patienten mit Fettleber in vorliegender Untersuchung nahmen jedoch nicht häufiger NRTIs ein als Patienten ohne Fettleber. Direkte NRTI-assoziierte Hepatotoxizität erscheint daher eher weniger wahrscheinlich mit den verminderten Uridinspiegeln bei den Patienten mit Fettleber in Zusammenhang zu stehen.

Andererseits konnte *in vitro* und *in vivo* gezeigt werden, dass durch Uridin-supplementation eine ddC-, d4T- oder AZT-induzierte mitochondriale Hepatopathie gebessert werden kann, was indirekt auf eine möglicherweise gestörte hepatozytäre de novo-Pyrimidinbiosynthese unter NRTIs hindeuten könnte [24, 26]. Bei HIV-Patienten, die mit Thymidinanaloga (d4T und AZT) therapiert wurden, verbesserte Uridin außerdem signifikant die Funktion der mitochondrialen oxidativen Decarboxilierung der Leber [30].

Unabhängig von HIV-Erkrankung und antiretroviraler Therapie führt aber auch eine Fettleber per se durch vermehrte Bildung reaktiver Sauerstoffspezies zu mitochondrialen Schäden, zu Steatohepatitis, und diese wiederum zu ultrastrukturellen Veränderungen in Mitochondrien, Depletion mitochondrialer DNA, Dysfunktion der Atmungskette und vermindertem ATP-Gehalt der Hepatozyten [139, 140]. Eine Störung der de novo-Synthese von Uridin in der Leber mit konsekutiver vermindertem Uridinplasmaspiegel könnte daher auch über eine direkt mit Fettleber oder Steatohepatitis assoziierte mitochondriale Dysfunktion in Zusammenhang stehen.

5.7.2 Leberzirrhose und virale Hepatitis

Auch Patienten mit Leberzirrhose und Hepatitis C zeigten im Vergleich zu Patienten ohne diese Begleiterkrankungen um 10, bzw. um 9% erniedrigte Uridinplasmaspiegel (n.s.), was ungefähr auch dem Abfall des Uridinspiegels bei Fettleber (11%) entsprach. Allerdings war die Anzahl der Patienten geringer, so dass der Unterschied wahrscheinlich deshalb nicht signifikant war. Hinsichtlich antiretroviraler Therapie mit potenziell mitochondrialer Toxizität bestand kein signifikanter Unterschied zu Patienten ohne Zirrhose bzw. Hepatitis C, so dass ein Einfluss der Medikation hier ebenso unwahrscheinlich ist. Beide Begleiterkrankungen traten jedoch hochsignifikant gehäuft mit dem Befund Fettleber auf, die mit signifikant erniedrigten Uridinspiegeln assoziiert war.

Zusätzlich finden sich bei Hepatitis C viele Hinweise auf mitochondriale Toxizität des Virus per se in Hepatozyten (siehe Kap.1.2.3). Eine HCV-assoziierte mitochondriale Dysfunktion mit konsekutiv verminderter Uridinsynthese könnte daher hier hypothetisch eine Rolle spielen.

Deutlichere Unterschiede hätten eventuell durch eine genauere Differenzierung der Leberzirrhose nach CHILD-Pugh-Klassifikation oder der Hepatitis C nach Aktivität der Infektion und nach Genotyp des Virus gefunden werden können. Genotyp 1b weist beispielsweise eine stärkere mitochondriale Toxizität auf als andere Genotypen [36].

Interessanterweise fanden sich bei Patienten mit Hepatitis B-Koinfektion keine verminderten Uridinplasmaspiegel. Hepatitis B war zwar auch signifikant mit Fettleber assoziiert, eine deutliche mitochondriale Toxizität der HBV-Infektion bzw. des Hepatitis B-Virus selbst scheint jedoch nicht zu bestehen oder nicht so ausgeprägt wie bei Hepatitis C zu sein.

5.7.3 Diabetes mellitus

Mit im Mittel $4,2 \pm 1,1 \mu\text{mol/l}$ wiesen Patienten mit Diabetes mellitus 2 im Vergleich zu Patienten ohne diese Begleiterkrankung um 30% erniedrigte Uridinplasmaspiegel auf ($p=0,02$). Der Befund Diabetes mellitus 2 war zudem die Begleiterkrankung, die mit den niedrigsten Uridinplasmaspiegeln unter allen Begleiterkrankungen assoziiert war. Die Gruppe bestand allerdings nur aus 5 Patienten, so dass dies auch reiner Zufall sein könnte. Innerhalb der Gruppe lagen jedoch keine Ausreißer nach unten vor, wie die geringe Standardabweichung von $1,1 \mu\text{mol/l}$ zeigt. Alle Patienten waren schon vor Be-

ginn der HAART insulinpflichtig, damit handelte es sich wahrscheinlich nicht um einen HAART-bedingten Diabetes mellitus. Außer mit distal-sensibler Polyneuropathie war Diabetes mellitus mit keiner anderen Begleiterkrankung assoziiert. Ebenso wurde nicht signifikant häufiger ein Therapieregime mit erhöhter mitochondrialer Toxizität eingenommen. Dadurch scheint eine Dysfunktion der de novo-Uridinsynthese durch mitochondriale Toxizität nicht naheliegend zu sein.

Bei Diabetes mellitus könnte aber ein anderer Mechanismus zu verminderten Uridinplasmaspiegeln führen: Das Enzym Uridinkinase, das den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt des Pyrimidin-Salvage-Pathways von Uridin zu UMP katalysiert, kann durch Insulin aktiviert werden. Verminderte Insulinspiegel oder eine erhöhte Insulinresistenz der Leber könnten daher aber unter Umständen mit einer Störung des Salvage-Pathways von Uridin assoziiert sein [141].

5.7.4 Lipodystrophie

Bei Patienten mit Lipodystrophie-Syndrom wurden zur Auswertung zwischen 2 Komponenten des Lipodystrophie-Syndroms unterschieden: zum einen Lipoatrophie oder ein Mischbild mit Lipoatrophie, zum anderen ausschließlich Lipoakkumulation.

Lipoatrophie tritt vor allem unter der Therapie mit NRTIs, insbesondere unter Thymidinanaloga wie d4T auf. Pathogenetisch spielt mitochondriale Toxizität eine wichtige Rolle (Kap. 1.3.3). Die Uridinplasmaspiegel von Patienten mit Lipoatrophie waren um 7% im Vergleich zu Patienten ohne diesen Befund verringert, allerdings war dieser Unterschied nicht signifikant. Sutinen et al. fanden bei 20 HIV-Patienten, die die Thymidinanaloga d4T oder AZT erhielten und an Lipoatrophie litten, ebenfalls keine pathologisch verminderten Uridinplasmaspiegel [28]. Es zeigte sich jedoch eine deutliche Fettzunahme der lipoatrophischen Körperpartien nach einer mehrwöchigen oralen Uridin-substitution. Auch McComsey et al. konnten eine klinische Verbesserung der Lipoatrophie bei 14 HIV-Patienten unter HAART nach 16-wöchiger Uridin-Supplementation aufzeigen [29]. Diese Benefite durch Uridin-substitution als auch die tendenziell verminderten Uridinplasmaspiegel der Lipoatrophie-Patienten dieser Untersuchung könnten daher eventuell auf eine Störung des intrazellulären Pyrimidinstoffwechsels in lipoatrophischem Fettgewebe hindeuten. Zusätzlich war Lipoatrophie in dieser Untersuchung jedoch signifikant mit Fettleber und mit dideoxy-NRTIs assoziiert.

Die niedrigeren Uridinspiegel der Lipoatrophie-Patienten könnten daher auch eventuell damit in Zusammenhang stehen.

Lipoakkumulation dagegen ist im Gegensatz zu Lipoatrophie stark mit einer PI-haltigen Therapie assoziiert (Kap. 1.3.3). Mitochondriale Toxizität scheint, wenn überhaupt, eine weniger wichtige Rolle zu spielen. In dieser Untersuchung waren die Uridinplasmaspiegel der Patienten mit Lipoakkumulation im Vergleich zu denen ohne Lipoakkumulation geringfügig erhöht. Es fand sich also hier kein Hinweis auf eine Störung der Uridinsynthese bei Patienten mit Lipoakkumulation, was auch nicht zu erwarten war.

5.8 Zusammenhänge zwischen Therapieregime und Uridin

Zum besseren Verständnis empfiehlt es sich, Kap 4.13 und 4.14 nochmals zu betrachten. Um mögliche Zusammenhänge zwischen antiretroviraler Therapie und Uridinspiegel zu untersuchen, wurden die Patienten entsprechend ihrer Therapie in 4 unterschiedliche Gruppen aufgeteilt: Die erste Gruppe bestand aus Patienten, deren Therapieregime dideoxy-NRTIs (ddC, d4T, ddI) enthielt. In der zweiten Gruppe waren Patienten, deren Therapie NRTIs, aber keine dideoxy-NRTIs enthielt. Die dritte Gruppe bestand aus Patienten, deren Therapie keine NRTIs enthielt. Die vierte Patientengruppe erhielt keine antiretrovirale Therapie. Bezüglich der Begleiterkrankungen unterschieden sich die Therapiegruppen signifikant in Leberzirrhose und Lipoatrophie.

Die dideoxy-NRTI-Gruppe wies die niedrigsten, die keine-Therapie-Gruppe die höchsten Spiegel aller Gruppen auf. Bei einem Vergleich der mittleren Uridinplasmaspiegel aller 4 Therapiegruppen unterschieden sich die Uridinplasmaspiegel nicht signifikant. Es zeigte sich jedoch, dass die dideoxy-Gruppe im Vergleich zur keine-Therapie-Gruppe signifikant erniedrigte Uridinplasmaspiegel aufwies. Die anderen 2 Gruppen mit antiretroviraler Therapie wiesen dahingegen keinen signifikanten Unterschied zur keine-Therapie-Gruppe auf.

Dies könnte auf einen Einfluss der Therapie mit dideoxy-NRTIs auf den Uridinplasmaspiegel hindeuten. DDC, d4T und ddI besitzen unter NRTIs die höchste mitochondriale Toxizität, da sie starke Inhibitoren der mitochondrialen Pol- γ sind [11, 12]. Eine durch sie induzierte Dysfunktion der Atmungskette könnte die de novo-Pyrimidinsynthese daher stärker beeinträchtigen, als durch andere NRTIs mit geringerer Affinität

zur Pol- γ (Kap. 1.2.1 und 1.2.2) [19]. Die Patientengruppe mit dideoxy-NRTIs wies zudem auch die niedrigsten Uridinplasmaspiegel aller 4 Gruppen auf, was mit dieser Hypothese in Übereinstimmung steht. Zusätzlich fanden sich die niedrigsten Uridinplasmaspiegel in der dideoxy-NRTI-Gruppe unter ddC-Therapie. DdC gilt als stärkste Inhibition der Pol- γ unter sämtlichen NRTIs [11, 12]. Es nahmen allerdings nur 2 Patienten ddC ein, so dass dieses Ergebnis nicht überbewertet werden sollte. Ferner fiel innerhalb der dideoxy-NRTI-Gruppe auf, dass die Uridinplasmaspiegel unter dem Purinanaloga ddi höher waren als unter den Pyrimidinanaloga d4T und ddC. Interessanterweise konnte in vitro durch Uridin-Supplementation die mitochondriale Toxizität der Pyrimidinanaloga d4T, ddC und AZT auf Hepatozyten abgemildert werden, nicht aber die von Purinanaloga wie ddi [24].

Umgekehrt war der Uridinplasmaspiegel der keine-Therapie-Gruppe, in der ein Einfluss der Medikation ausgeschlossen werden kann, der höchste aller 4 Gruppen und lag 13% über dem der dideoxy-NRTI-Gruppe.

Die ohne-dideoxy-NRTI-Gruppe, deren Therapieregime mit AZT, 3TC, ABC oder TDF in einem wesentlich geringen Ausmaß als dideoxy-NRTIs Pol- γ inhibiert, wies die zweitniedrigsten Uridinplasmaspiegel auf (7% tiefer als die der keine-Therapie-Gruppe, n.s.). Dabei waren die Uridinplasmaspiegel von Patienten mit AZT-haltigem Therapie-regime tendenziell niedriger als die ohne AZT-haltiges. Diese Tendenz könnte damit in Zusammenhang stehen, dass AZT zwar nur ein schwacher Inhibitor der Pol- γ ist, aber noch über andere Mechanismen mitochondriale Toxizität aufweist und in vivo in geringem Umfang in d4T umgewandelt werden kann [13-16].

Die Uridinplasmaspiegel der keine-NRTI-Gruppe, in der eine NRTI-assoziierte mitochondriale Toxizität daher ausgeschlossen werden kann, wiesen mit 3% Verminderung den geringsten Unterschied zur keine-Therapie-Gruppe auf. Die hohe Standardabweichung dieser Gruppe spiegelt zum einen die geringe Patientenzahl (n=7) wider, zum anderen ist sie aber auch Ausdruck der in dieser Gruppe signifikant höheren Anzahl an Leberzirrhose, bei denen der Uridinplasmaspiegel deutlich niedriger war als bei den Patienten dieser Gruppe ohne Zirrhose.

Zusammenfassend kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass der Uridinplasmaspiegel insbesondere unter Therapieregimen, die eine höhere mitochondriale Toxizität

aufweisen, erniedrigt zu sein scheint. Es fiel zudem auf, dass sich die Höhe des Uridinplasma­spiegels der jeweiligen Gruppe analog zur potenziellen mitochondrialen Toxizität des entsprechenden Therapieregimes verhielt. Die verglichen mit der natürlichen Schwankungsbreite des Uridinplasma­spiegels hier nur sehr geringen Unterschiede zwischen den einzelnen Therapiegruppen zeigen jedoch, dass es sich um kein deutliches Phänomen handelt. Es könnte auch rein zufällig durch physiologische Schwankungen des Uridinplasma­spiegels bedingt sein. Stärker erniedrigte Uridinplasma­spiegel könnten vielleicht insbesondere bei Patienten mit histologisch nachgewiesen, NRTI-assozierten mitochondrialen Schäden der Hepatozyten beobachtet werden, wenn diese nicht mehr ausreichend Uridin zur Aufrechterhaltung des systemischen Uridinspiegels synthetisieren könnten.

5.9 Zusammenhänge zwischen Therapieregime, Begleiterkrankungen und Uridin

Zum besseren Verständnis empfiehlt es sich, Kap. 4.14 nochmals zu betrachten.

In den vorhergehenden 2 Kapiteln wurden Zusammenhänge zwischen Uridinplasma­spiegel und Begleiterkrankungen bzw. Therapieregime getrennt betrachtet, so dass Überschneidungen möglicher Einflüsse schwer zu differenzieren waren.

Wurde in den 4 Therapiegruppen nur die Uridinplasma­spiegel der Patienten ohne Begleiterkrankungen analysiert, so ergab sich ein deutlicher Anstieg des Uridinplasma­spiegels zwischen dem der dideoxy-NRTI-Gruppe, der am niedrigsten war, und den anderen 3 Gruppen (Abb. 4-10). Die Uridinplasma­spiegel der ohne-dideoxy-NRTI-Gruppe, der keine-NRTI-Gruppe und der keine-Therapie-Gruppe befanden sich auf ähnlich hohem Niveau. Dies deutet darauf hin, dass dideoxy-NRTIs unabhängig von Begleiterkrankungen einen Einfluss auf den Uridinplasma­spiegel haben könnten, während non-dideoxy-NRTIs, PIs und NNRTIs wenig Einfluss bis gar keinen haben.

Interessanterweise wiesen die Patienten ohne Therapie und ohne Begleiterkrankungen mit 7,18 $\mu\text{mol/l}$ einen ähnlich hohen Uridinplasma­spiegel auf, wie die gesunde Kontrollgruppe mit 7,31 $\mu\text{mol/l}$.

Wurde in den 4 Therapiegruppen nur die Patienten mit Begleiterkrankungen analysiert, so ergab sich ein nur geringer Anstieg des Uridinplasma­spiegels von der dideoxy-

Gruppe mit den niedrigsten, bis zur keine-Therapie-Gruppe mit den höchsten Uridinplasmaspiegeln. Die Unterschiede der Uridinplasmaspiegel der Patienten mit Begleiterkrankungen waren hierbei zwischen den Therapiegruppen nur sehr gering ausgeprägt und verharrten auf ähnlich niedrigem Niveau wie die Spiegel der dideoxy-NRTI-Gruppe (Abb. 4-10). Die gleich bleibend niedrigen Uridinplasmaspiegel der Patienten mit Begleiterkrankungen in allen 4 Therapiegruppen könnten darauf hindeuten, dass Begleiterkrankungen unabhängig von der Therapie mit erniedrigten Uridinplasmaspiegeln assoziiert sind. Dieser Effekt dürfte vor allem auf Fettleber beruhen, da sie mit Abstand die häufigste Begleiterkrankung (>50% der Patienten) war und neben Diabetes mellitus auch als Einzige signifikant mit erniedrigten Uridinspiegeln korrelierte.

Die Anzahl der Patienten in den einzelnen Therapiegruppen war jedoch durch die zusätzliche Unterteilung nach dem Vorliegen einer Begleiterkrankung teilweise sehr klein, so dass die Ergebnisse auch Zufall sein könnten.

5.10 Zusammenhänge zwischen klinisch-chemischen Parametern und Uridin

Der Uridinplasmaspiegel korrelierte signifikant positiv mit ChE, wobei die Korrelation jedoch relativ schwach war (Tab. 4-18). Erniedrigte Pseudo-Cholinesteraseaktivität deutet auf eine verminderte Syntheseleistung der Leber, wie z. B. bei Leberzirrhose oder bei medikamentenbedingter Leberschädigung hin. Erhöhte Werte finden sich beispielsweise bei nephrotischem Syndrom. Die erniedrigten Uridinplasmaspiegel bei verminderter ChE-Aktivität könnten daher eventuell auf eine bei verminderter Syntheseleistung ebenfalls verminderte Uridinsynthese der Leber hindeuten. Patienten mit ChE-Werten unter dem Normbereich zeigten jedoch keine pathologisch verminderten Uridinplasmaspiegel. Bei den HIV-Patienten dieser Untersuchung war ChE signifikant negativ mit Leberzirrhose und Fettleber korreliert. Bei Patienten mit diesen Begleiterkrankungen lagen auch verminderte Uridinplasmaspiegel vor (Kap. 4.5.). Eventuell hatten deshalb Patienten mit hohen ChE-Werten auch höhere Uridinplasmaspiegel, da diese Begleiterkrankungen dann seltener waren.

Zwischen Glukose und Uridin bestand keine signifikante Korrelation, und der Korrelationskoeffizient war fast gleich null. Es hätte eventuell erwartet werden können, dass bei erhöhten Glukosewerten auch erhöhte Uridinplasmaspiegel vorliegen [134]. Die Uridinplasmaspiegel normalisieren sich jedoch nach Glukosezufuhr schnell, so dass auch keine deutliche Korrelation zu erwarten gewesen wäre [134]. Einige Glukosewerte la-

gen über 120 mg/dl, mit deutlich erniedrigten Uridinspiegeln zwischen 2,5 und 4,7 µmol/l. Bei diesen Patienten handelte es sich um 4 der 5 Patienten mit Diabetes mellitus. Diabetes mellitus war signifikant mit verminderten Uridinplasmaspiegeln assoziiert, siehe Kap. 5.7.

Erhöhte Laktatwerte können bei HIV-Patienten Zeichen einer NRTI-assoziierten mitochondrialen Hepatotoxizität oder Myopathie sein (siehe Kap.1.3.2). Bei dieser Untersuchung zeigten sich auch signifikant erhöhte Laktatwerte bei Patienten unter dideoxy-NRTIs (Tab. 4-8 und Tab. 4-9). Insofern könnte hypothetisiert werden, dass Uridin bei steigenden Laktatwerten abfällt, da Patienten mit dideoxy-NRTI-haltigem Therapieregime erniedrigte Uridinplasmaspiegel aufwiesen. Es bestand jedoch keine signifikante Korrelation zwischen Uridin und Laktat, auch wenn Uridin mit ansteigenden Laktatwerten im Sinne der Hypothese abfiel, wenn auch nur schwach. Die Laktatspiegel der Patienten dieser Untersuchung lagen jedoch abhängig vom Therapieregime im Mittel bei 1,3-1,9 mmol/l, d.h. es bestand lediglich eine leichte, kompensierte Hyperlaktatämie [65, 79]. Stärker erniedrigte Uridinplasmaspiegel hätten sich eventuell bei dekompensierter Laktatazidose und Laktatwerten deutlich über 5 mmol/l zeigen können.

Uridin korrelierte signifikant negativ mit Triglyzeriden und signifikant positiv mit (LDL-)Cholesterin (Tab. 4-18). Hypertriglyzeridämie und Hypercholesterinämie sind häufige Nebenwirkungen der HAART, insbesondere der PI-Therapie [80]. Sie zählen zu den metabolischen Störungen im Rahmen eines Lipodystrophie-Syndroms, pathogenetisch werden dabei Störungen des Lipid- und Glukosestoffwechsels von Leber und Fettgewebe für die Dyslipidämien verantwortlich gemacht [95]. Neben PIs können aber auch NRTIs durch mitochondriale Toxizität in der Leber zu milden Anstiegen von Triglyzeriden, LDL-Cholesterin und weiterem Abfall von HDL-Cholesterin führen [80, 95]. Unter den NRTIs zeigen sich vor allem unter d4T Dyslipidämien [142].

In dieser Untersuchung waren Triglyzeride bei Patienten unter dideoxy-NRTIs, insbesondere unter d4T, signifikant erhöht (Tab. 4-8 und Tab. 4-9). Die erniedrigten Uridinplasmaspiegel bei erhöhten Triglyzeridwerten könnten daher mit mitochondrialer Toxizität, insbesondere von d4T, auf die Leber in Zusammenhang stehen. Signifikant erhöhte Triglyzeridwerte fanden sich unter anderem auch bei Patienten mit Fettleber, so dass die niedrigen Uridinspiegel bei erhöhten Triglyzeridwerten auch dadurch erklärt

werden könnten. Zusammenhänge zwischen Uridinplasmaspiegel und Fettleber wurden in Kap.5.7 diskutiert.

Bezüglich des (LDL-)Cholesterins verhielt sich der Uridinplasmaspiegel umkehrt wie bei Triglyzeriden, das heißt erhöhte Uridinplasmaspiegel bei erhöhtem Cholesterin. Es wäre aber eher zu erwarten gewesen, dass Uridin abfällt, wie auch bei steigenden Triglyzeridwerten.

5.11 Diskussion der multiplen Regression

Anschließend an die univariate Auswertung wurde eine multiple lineare Regression durchgeführt, um mögliche Einflussfaktoren auf den Uridinplasmaspiegel klarer zu identifizieren.

Als signifikante Einflussfaktoren ergaben sich Fettleber und Diabetes mellitus mit einer negativen Korrelation sowie HDL und Cholinesterase mit einer positiven Korrelation mit dem Uridinplasmaspiegel (Tab. 4-19). Lipase korrelierte grenzwertig signifikant positiv und wurde auch als Prädiktor in die Regressionsgleichung mitaufgenommen, da sich ein besserer Korrelationskoeffizient ergab. Der Korrelationskoeffizient r der Schätzgleichung zeigte mit einem Wert von 0,37 eine mittlere Abhängigkeit des Uridinplasmaspiegels von den Einflussfaktoren.

Fettleber und Diabetes mellitus waren auch in der univariaten Auswertung signifikant mit erniedrigten Uridinplasmaspiegel assoziiert, Cholesterinesterase korrelierte ebenfalls positiv mit Uridin in der univariaten Auswertung. Die Regressionsanalyse bestätigt somit hier die Ergebnisse der univariaten Auswertung.

Der Zusammenhang von erniedrigten Uridinplasmaspiegeln und Therapie mit dideoxy-NRTIs bestätigte sich in der multivariaten Auswertung nicht.

HDL-Cholesterin zeigte zwar in der univariaten Auswertung keine signifikante Korrelation, korrelierte dort aber dennoch positiv mit Uridin. Die signifikanten Einflußgrößen weisen darauf hin, dass die Leber in die Homöostase des systemischen Uridinspiegels involviert ist [118, 120, 122].

5.12 Uridinspiegel im Verlauf bei unterschiedlichen Therapiegruppen

Zur Auswertung der Uridinplasmaspiegel im Verlauf wurden sämtliche Mehrfachmessungen der Patienten im 1. Beobachtungszeitraum herangezogen. Bei Betrachtung

der einzelnen Messreihen fiel auf, dass Patienten mit anfangs unterdurchschnittlichen Spiegeln in der Folgezeit höhere Werte aufwiesen und umgekehrt. Dies könnte Ausdruck der physiologischen Schwankungsbreite des Uridinplasmaspiegels sein.

Bei Betrachtung der jeweiligen Regressionslinien der 4 Therapiegruppen zeigte sich zu Anfang des Beobachtungszeitraums eine deutlichere Änderung des Uridinspiegels als in den Folgemonaten. Die Gründe hierfür liegen am ehesten im Modell, das zur Berechnung der Regressionsgeraden angewandt wurde. Es erscheint auch unwahrscheinlich, dass beispielsweise ein starker Abfall des Uridinspiegels im Lauf einiger Jahre zu gegen null tendierenden Spiegeln führen würde.

In der dideoxy-NRTI-Gruppe zeigte sich ein Absinken der Uridinplasmaspiegel im Verlauf des Beobachtungszeitraums (siehe Abb. 4-11 u. Abb. 4-15). Das heißt, Uridin fiel im Mittel mit zunehmender Therapiedauer ab. Die Änderung des Uridinspiegels war mit einem Abfall von knapp 10% nach 12 Monaten wesentlich deutlicher, als in den anderen Therapiegruppen, was auf die höhere mitochondriale Toxizität dieses Therapieregimes hinweisen könnte.

In der ohne-dideoxy-NRTI-Gruppe war in Abb. 4-12 ein geringer Anstieg der Regressionslinie des Uridinplasmaspiegels im Verlauf des Beobachtungszeitraums erkennbar. Im Diagramm mit den interpolierten Werten (Abb. 4-15) zeigten sich im Verlauf fast gleich bleibende Spiegel. Interessanterweise wiesen alle Patienten, die kein AZT erhielten, steigende Spiegel auf, während bei Patienten mit AZT-haltiger Therapie dies nur bei der Hälfte der Patienten der Fall war ($p=0,04$). AZT ist zwar nur ein schwacher Inhibitor der Pol- γ , wirkt jedoch über weitere Mechanismen auf Mitochondrien toxisch und kann in vivo in geringem Umfang in d4T umgewandelt werden [13-16].

Der Messwert von 14 $\mu\text{mol/l}$ in Abb. 4-12 könnte durch einen bei dieser Patientin bekannten starken Alkoholkonsum beeinflusst worden sein. Alkohol und Bier (enthält Pseudouridin) können zu kurzfristig erhöhten Uridinspiegeln führen [133, 136].

Der Messwert von 1,03 $\mu\text{mol/l}$ in selbiger Abbildung stammte von einer Patientin mit Langzeitnebenwirkungen durch mitochondriale Toxizität sowie auffallend hohen Glukosespiegeln. Bei Patienten mit Diabetes mellitus, die ebenfalls erhöhte Glukosewerte hatten, lagen in dieser Untersuchung signifikant erniedrigte Uridinplasmaspiegel vor.

Die keine-NRTI-Gruppe bestand aus 7 Patienten, davon nur 3 mit Mehrfachmessungen. Die Regressionslinie in Abb. 4-13 zeigte tendenziell einen leichten Anstieg der Uridinspiegel mit zunehmender Therapiedauer, ebenso das Vergleichsdiagramm mit den interpolierten Werten in Abb. 4-15. In dieser Therapiegruppe konnte eine potenzielle mitochondriale Toxizität durch NRTIs ausgeschlossen werden. Ob dies mit den ansteigenden Uridinspiegel in Zusammenhang stehen könnte, kann aufgrund der zu geringen Patientenzahl nicht rational diskutiert werden.

In der keine-Therapie-Gruppe war in Abb. 4-13 ein geringer Anstieg der Regressionslinie im Verlauf des Beobachtungszeitraums erkennbar (7% höhere Spiegel nach einem Jahr). Nur 5 der 23 Patienten dieser Gruppe waren vortherapiert und machten eine Therapiepause. Sie wiesen nicht häufiger steigende Uridinspiegel auf als therapie-naive Patienten. Dies weist nicht darauf hin, dass der Anstieg der Uridinplasmaspiegel in dieser Therapiegruppe mit einer Erholung der Spiegel bei Therapiepause zusammenhängen könnte. Der deutliche Anstieg des Uridinplasmaspiegels am Ende des Beobachtungszeitraums ist in der größeren Schwankungsbreite des Mittelwerts bei geringerer Messwertdichte begründet.

Bei einem Vergleich der Steigungen der 4 Regressionslinien zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den 4 Therapiegruppen. Trotzdem fällt auf, dass die Gruppe, deren Therapieregime die höchste mitochondriale Toxizität innehatte (die dideoxy-NRTI-Gruppe), als einzige abfallende Uridinspiegel aufwies, während die Uridinspiegel der anderen Gruppen einen konstanten bis leicht ansteigenden Verlauf zeigten. Zusätzlich zeigte die ohne-dideoxy-NRTI-Gruppe zwar keine abfallenden Werte, blieb aber ebenso wie die dideoxy-Gruppe im Verlauf konstant unter den mittleren Uridinspiegeln der keine-NRTI- und der keine-Therapie-Gruppe, bei denen eine Therapie assoziierte mitochondriale Toxizität ausgeschlossen ist. Insgesamt könnte dies darauf hinweisen, dass eine länger andauernde Therapie, die eine höhere mitochondriale Toxizität aufweist, mit niedrigeren und sogar leicht abfallenden Uridinplasmaspiegel assoziiert sein könnte. Hypothetisch wäre als Erklärung denkbar, dass eine längere Therapiedauer zu einer stärkeren Schädigung des mitochondrialen Genoms führen könnte [143]. In der Folge könnte die *de novo*-Pyrimidinsynthese auch stärker beeinträchtigt werden, als es bei einer kürzeren Therapiedauer der Fall wäre.

5.13 Diskussion der Uridinspiegel im Follow-up

Bei 13 Patienten wurden nach Therapieumstellung von einem dideoxy-NRTI-haltigen Therapieregime auf ein NRTI-haltiges Therapieregime ohne dideoxy-NRTIs in einem 12 monatigen Follow-up wiederholt die Uridinplasmaspiegel bestimmt.

Mc Comsey et al. zeigten, dass bei HIV-Patienten durch Umstellung von d4T (hohe mitochondriale Toxizität) auf ABC (geringe mitochondriale Toxizität) der mtDNA-Gehalt der Mitochondrien erhöht sowie die Funktion der Atmungskette verbessern werden kann [91]. Insofern könnte sich eine durch mitochondriale Dysfunktion verminderte Uridinsynthese nach Therapieumstellung eventuell auch bessern.

Bei Betrachtung von Abb. 4-16 und Abb. 4-17 ist erkennbar, dass sowohl die Schwankungen als auch die absoluten Werte der Uridinspiegel vor und nach Therapieumstellung sich innerhalb der in Kap. 4.9 beschriebenen Grenzen bewegten.

Es zeigte sich kein eindeutiger Trend der Uridinplasmaspiegel nach Therapieumstellung: Bei 7 der 13 Patienten kam es zu einem Anstieg, bei 6 zu einem Abfall der Uridinspiegel.

Die Änderungen des Uridinspiegels nach Therapieumstellung entsprechen daher wahrscheinlich eher physiologischen Schwankungen des Uridinspiegels als einer therapiebedingten Änderung.

Patienten mit fallenden Werten wiesen jedoch häufiger eine Hepatitis C Koinfektion auf als Patienten mit steigenden Werten. Das Hepatitis C-Virus verfügt per se über eine gewisse mitochondriale Toxizität (Kap. 1.2.3), zudem war Hepatitis C mit erniedrigten Uridinplasmaspiegeln assoziiert (Kap. 4.12).

Ein möglicher Einfluss einer Therapieumstellung hätte eventuell mit einer größeren Patientengruppe gezeigt werden können. Mögliche Fehlerquellen des Follow-up's boten zudem der sehr kurze Mindestabstand einer Uridinplasmaspiegel-Messung von 1 Monat nach Therapieumstellung sowie die Lagerung einiger Proben von >3 Monaten. Uridin ist sicher stabil für mindestens einen Monat, für eine längere Lagerung liegen keine Daten vor [117].

6 Zusammenfassung

Einige Langzeitnebenwirkungen der antiretroviralen Therapie werden auf mitochondriale Toxizität von NRTIs zurückgeführt. Eine Dysfunktion der Atmungskette kann zu einer verminderten Pyrimidinsynthese mit intrazellulär erniedrigten Uridinspiegeln führen. In vitro und in vivo konnte gezeigt werden, dass durch Supplementation des Pyrimidins Uridin einige der NRTI-assoziierten Toxizitätseffekte abgemildert werden können.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob HIV-Patienten im Vergleich zu einer HIV-negativen Kontrollgruppe veränderte Uridinplasmaspiegel aufweisen. In der Gruppe der HIV-Patienten galt dabei besonderes Interesse möglichen Zusammenhängen zwischen Uridin und antiretroviraler Therapie, Langzeitnebenwirkungen sowie Änderungen der Uridinplasmaspiegel im Therapieverlauf.

Die Uridinplasmaspiegel der HIV-Patienten waren signifikant niedriger als die der Kontrollgruppe, blieben aber im physiologischen Normbereich gesunder Erwachsener. HIV-Patienten wiesen damit keine pathologisch erniedrigten Uridinplasmaspiegel auf.

Demografische Faktoren zeigten keine signifikante Korrelation mit dem Uridinplasmaspiegel.

Ebenso bestand keine signifikante Korrelation zwischen Markern der Schwere der HIV-Infektion und Uridinplasmaspiegel. Ein direkter Zusammenhang zwischen HIV-Infektion und Uridinplasmaspiegel scheint daher unwahrscheinlich zu sein.

Die Uridinplasmaspiegel von Patienten mit Begleiterkrankung waren im Vergleich zu Patienten ohne Begleiterkrankung signifikant vermindert. Bei Differenzierung nach den einzelnen Befunden zeigte sich, dass bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und chronischen Lebererkrankungen wie Steatosis hepatis signifikant erniedrigte Uridinplasmaspiegel vorlagen. Dies weist darauf hin, dass erniedrigte Uridinplasmaspiegel mit einer Erkrankung der Leber in Zusammenhang stehen könnten, da diese eine zentrale Rolle in der Kontrolle und Aufrechterhaltung des Uridinplasmaspiegels einnimmt. Auch die bei erniedrigter Cholinesterase und erhöhten Triglyzeriden signifikant verminderten Uridinplasmaspiegel unterstützen diese Hypothese.

Im Vergleich von 4 Patientengruppen mit unterschiedlichen Therapieregimen verhielten sich die Uridinplasmaspiegel analog zur potenziellen mitochondrialen Toxizität des jeweiligen Therapieregimes. Die Patientengruppe, die dideoxy-NRTIs einnahm, wies die niedrigsten Uridinplasmaspiegel auf und zeigte im Vergleich zur Patientengruppe ohne antiretrovirale Therapie signifikant erniedrigte Uridinplasmaspiegel. Dies könnte darauf hindeuten, dass Therapieregime, die eine höhere mitochondriale Toxizität aufweisen, mit erniedrigten Uridinplasmaspiegeln assoziiert sind.

Im Verlauf des Beobachtungszeitraums zeigte sich, dass die Uridinplasmaspiegel der Patientengruppe mit dideoxy-NRTI-haltigem Therapieregime abfallende, die anderen 3 Gruppen konstante bis leicht ansteigende Spiegel aufwiesen. Dies könnte bedeuten, dass eine längere Therapiedauer, die eine höhere mitochondriale Toxizität aufweist, mit niedrigeren und leicht abfallenden Uridinplasmaspiegeln assoziiert sein könnte.

Nach Therapieumstellung von einem dideoxy-NRTI-haltigen Therapieregime auf NRTI-haltiges Therapieregime ohne dideoxy-NRTIs zeigte sich kein eindeutiger Trend der Uridinplasmaspiegel nach der Umstellung.

7 Literaturverzeichnis

1. Lewis, W. and M.C. Dalakas, *Mitochondrial toxicity of antiviral drugs*. Nat Med, 1995. **1**(5): p. 417-22.
2. Brinkman, K., et al., *Adverse effects of reverse transcriptase inhibitors: mitochondrial toxicity as common pathway*. Aids, 1998. **12**(14): p. 1735-44.
3. Kakuda, T.N., *Pharmacology of nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitor-induced mitochondrial toxicity*. Clin Ther, 2000. **22**(6): p. 685-708.
4. White, A.J., *Mitochondrial toxicity and HIV therapy*. Sex Transm Infect, 2001. **77**(3): p. 158-73.
5. Lewis, W., B.J. Day, and W.C. Copeland, *Mitochondrial toxicity of NRTI antiviral drugs: an integrated cellular perspective*. Nat Rev Drug Discov, 2003. **2**(10): p. 812-22.
6. Cossarizza, A. and G. Moyle, *Antiretroviral nucleoside and nucleotide analogues and mitochondria*. Aids, 2004. **18**(2): p. 137-51.
7. Nolan, D. and S. Mallal, *Complications associated with NRTI therapy: update on clinical features and possible pathogenic mechanisms*. Antivir Ther, 2004. **9**(6): p. 849-63.
8. Longley, M.J., et al., *Characterization of the native and recombinant catalytic subunit of human DNA polymerase gamma: identification of residues critical for exonuclease activity and dideoxynucleotide sensitivity*. Biochemistry, 1998. **37**(29): p. 10529-39.
9. DiMauro, S. and E.A. Schon, *Mitochondrial respiratory-chain diseases*. N Engl J Med, 2003. **348**(26): p. 2656-68.
10. Walker, U.A., B. Setzer, and N. Venhoff, *Increased long-term mitochondrial toxicity in combinations of nucleoside analogue reverse-transcriptase inhibitors*. Aids, 2002. **16**(16): p. 2165-73.
11. Martin, J.L., et al., *Effects of antiviral nucleoside analogs on human DNA polymerases and mitochondrial DNA synthesis*. Antimicrob Agents Chemother, 1994. **38**(12): p. 2743-9.
12. Birkus, G., M.J. Hitchcock, and T. Cihlar, *Assessment of mitochondrial toxicity in human cells treated with tenofovir: comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors*. Antimicrob Agents Chemother, 2002. **46**(3): p. 716-23.
13. McKee, E.E., et al., *Zidovudine inhibits thymidine phosphorylation: a novel site of potential toxicity in non-mitotic cells*. Antiviral Therapy 2004; Abstracts presented at the 6th International Workshop on Adverse Drug Reactions and Lipodystrophy in HIV, 2004. **9**(6): p. L9, Abstract 13.
14. Hobbs, G.A., et al., *Cellular targets of 3'-azido-3'-deoxythymidine: an early (non-delayed) effect on oxidative phosphorylation*. Biochem Pharmacol, 1995. **50**(3): p. 381-90.

-
15. Barile, M., et al., *Mitochondria as cell targets of AZT (zidovudine)*. Gen Pharmacol, 1998. **31**(4): p. 531-8.
 16. Bonora, S., et al., *Detection of stavudine concentrations in plasma of HIV-infected patients taking zidovudine*. Aids, 2004. **18**(3): p. 577-8.
 17. Angermuller, S. and M. Loffler, *Localization of dihydroorotate oxidase in myocardium and kidney cortex of the rat. An electron microscopic study using the cerium technique*. Histochem Cell Biol, 1995. **103**(4): p. 287-92.
 18. Loffler, M., et al., *Dihydroorotat-ubiquinone oxidoreductase links mitochondria in the biosynthesis of pyrimidine nucleotides*. Mol Cell Biochem, 1997. **174**(1-2): p. 125-9.
 19. Gattermann, N., et al., *Severe impairment of nucleotide synthesis through inhibition of mitochondrial respiration*. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 2004. **23**(8-9): p. 1275-9.
 20. Bodnar, A.G., et al., *Respiratory-deficient human fibroblasts exhibiting defective mitochondrial DNA replication*. Biochem J, 1995. **305** (Pt 3): p. 817-22.
 21. King, M.P. and G. Attardi, *Human cells lacking mtDNA: repopulation with exogenous mitochondria by complementation*. Science, 1989. **246**(4929): p. 500-3.
 22. Sommadossi, J.P., et al., *Uridine reverses the toxicity of 3'-azido-3'-deoxythymidine in normal human granulocyte-macrophage progenitor cells in vitro without impairment of antiretroviral activity*. Antimicrob Agents Chemother, 1988. **32**(7): p. 997-1001.
 23. Keilbaugh, S.A., G.A. Hobbs, and M.V. Simpson, *Anti-human immunodeficiency virus type 1 therapy and peripheral neuropathy: prevention of 2',3'-dideoxycytidine toxicity in PC12 cells, a neuronal model, by uridine and pyruvate*. Mol Pharmacol, 1993. **44**(4): p. 702-6.
 24. Walker, U.A., et al., *Uridine abrogates mitochondrial toxicity related to nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors in HepG2 cells*. Vol. 88 5 1359-6535 5. 2003: 1359-6535. 463-70.
 25. Walker, U.A., et al., *Uridine abrogates the adverse effects of antiretroviral pyrimidine analogues on adipose cell functions*. Antivir Ther, 2006. **11**(1): p. 25-34.
 26. Lebrecht, D., et al., *Uridine supplementation antagonizes zalcitabine-induced microvesicular steatohepatitis in mice*. Hepatology, 2007. **45**(1): p. 72-9.
 27. Lebrecht, D., et al., *Uridine supplementation antagonizes zidovudine-induced mitochondrial myopathy and hyperlactatemia in mice*. Arthritis Rheum, 2008. **58**(1): p. 318-26.
 28. Sutinen J, W.U., Sevastianova K, Hakkinen AM, Ristola M, Yki-Jarvinen H, *Uridine supplementation increases subcutaneous fat in patients with HAART-associated lipodystrophy (HAL) -- a randomized, placebo-controlled trial*. Antivir Ther, 2005. **10**: p. L7.
 29. McComsey, G.A., et al., *Uridine supplementation in HIV lipodystrophy: pilot trial on safety and effect on mitochondrial indices*. Eur J Clin Nutr, 2007.

-
30. Banasch, M., et al., *Uridine supplementation enhances hepatic mitochondrial function in thymidine-analogue treated HIV-infected patients*. *Aids*, 2006. **20**(11): p. 1554-6.
 31. Walker, U.A., et al., *Beneficial effects of oral uridine in mitochondrial toxicity*. *Aids*, 2004. **18**(7): p. 1085-6.
 32. Larsen, C., et al., *Prevalence of hepatitis c virus (hcv) and hepatitis b virus (hbv) infection among hiv infected persons (france, 2004)*. 12th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease, Paris, July 1-5, , 2006(abstract P418).
 33. Sherman, K.E., et al., *Hepatitis C Virus prevalence among patients infected with Human Immunodeficiency Virus: a cross-sectional analysis of the US adult AIDS Clinical Trials Group*. *Clin Infect Dis*, 2002. **34**(6): p. 831-7.
 34. Braitstein, P., et al., *Special considerations in the initiation and management of antiretroviral therapy in individuals coinfecting with HIV and hepatitis C*. *Aids*, 2004. **18**(17): p. 2221-34.
 35. de Mendoza, C. and V. Soriano, *The role of hepatitis C virus (HCV) in mitochondrial DNA damage in HIV/HCV-coinfecting individuals*. *Antivir Ther*, 2005. **10 Suppl 2**: p. M109-15.
 36. Barbaro, G., et al., *Hepatocellular mitochondrial alterations in patients with chronic hepatitis C: ultrastructural and biochemical findings*. *Am J Gastroenterol*, 1999. **94**(8): p. 2198-205.
 37. Verucchi, G., et al., *Ultrastructural liver mitochondrial abnormalities in HIV/HCV-coinfecting patients receiving antiretroviral therapy*. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2004. **35**(3): p. 326-8.
 38. de Mendoza, C., et al., *Changes in mitochondrial DNA copy number in blood cells from HIV-infected patients undergoing antiretroviral therapy*. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2004. **20**(3): p. 271-3.
 39. Bauerle, J., et al., *Mitochondrial DNA depletion in liver tissue of patients infected with hepatitis C virus: contributing effect of HIV infection?* *HIV Med*, 2005. **6**(2): p. 135-9.
 40. de Mendoza, C., et al., *Mitochondrial DNA depletion in HIV-infected patients is more pronounced with chronic hepatitis C and enhanced following treatment with pegylated interferon plus ribavirin*. *Antivir Ther*, 2005. **10**(4): p. 557-61.
 41. Lai, M.M., *Hepatitis C virus proteins: direct link to hepatic oxidative stress, steatosis, carcinogenesis and more*. *Gastroenterology*, 2002. **122**(2): p. 568-71.
 42. Okuda, M., et al., *Mitochondrial injury, oxidative stress, and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein*. *Gastroenterology*, 2002. **122**(2): p. 366-75.
 43. Korenaga, M., et al., *Hepatitis C virus core protein inhibits mitochondrial electron transport and increases reactive oxygen species (ROS) production*. *J Biol Chem*, 2005. **280**(45): p. 37481-8.
 44. Rust, C. and G.J. Gores, *Does hepatitis C cause liver injury by pathways associated with mitochondrial dysfunction?* *Am J Gastroenterol*, 1999. **94**(8): p. 2003-5.

-
45. DeLeve, L.D. and N. Kaplowitz, *Importance and regulation of hepatic glutathione*. Semin Liver Dis, 1990. **10**(4): p. 251-66.
 46. Graziewicz, M.A., B.J. Day, and W.C. Copeland, *The mitochondrial DNA polymerase as a target of oxidative damage*. Nucleic Acids Res, 2002. **30**(13): p. 2817-24.
 47. Simpson, M.V., et al., *Studies on the inhibition of mitochondrial DNA replication by 3'-azido-3'-deoxythymidine and other dideoxynucleoside analogs which inhibit HIV-1 replication*. Biochem Pharmacol, 1989. **38**(7): p. 1033-6.
 48. Morgello, S., et al., *Mitochondrial abnormalities in human immunodeficiency virus-associated myopathy*. Acta Neuropathol (Berl), 1995. **90**(4): p. 366-74.
 49. Shikuma, C.M., et al., *Mitochondrial DNA decrease in subcutaneous adipose tissue of HIV-infected individuals with peripheral lipodystrophy*. Aids, 2001. **15**(14): p. 1801-9.
 50. Cote, H.C., et al., *Changes in mitochondrial DNA as a marker of nucleoside toxicity in HIV-infected patients*. N Engl J Med, 2002. **346**(11): p. 811-20.
 51. Miura, T., et al., *Depletion of mitochondrial DNA in HIV-1-infected patients and its amelioration by antiretroviral therapy*. J Med Virol, 2003. **70**(4): p. 497-505.
 52. Miro, O., et al., *Mitochondrial effects of HIV infection on the peripheral blood mononuclear cells of HIV-infected patients who were never treated with antiretrovirals*. Clin Infect Dis, 2004. **39**(5): p. 710-6.
 53. Walker, U.A., et al., *Evidence of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor--associated genetic and structural defects of mitochondria in adipose tissue of HIV-infected patients*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2002. **29**(2): p. 117-21.
 54. Raidel, S.M., et al., *Targeted myocardial transgenic expression of HIV Tat causes cardiomyopathy and mitochondrial damage*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002. **282**(5): p. H1672-8.
 55. Roumier, T., et al., *The C-terminal moiety of HIV-1 Vpr induces cell death via a caspase-independent mitochondrial pathway*. Cell Death Differ, 2002. **9**(11): p. 1212-9.
 56. Jacotot, E., et al., *The HIV-1 viral protein R induces apoptosis via a direct effect on the mitochondrial permeability transition pore*. J Exp Med, 2000. **191**(1): p. 33-46.
 57. Dalakas, M.C., et al., *Mitochondrial myopathy caused by long-term zidovudine therapy*. N Engl J Med, 1990. **322**(16): p. 1098-105.
 58. McCurdy, D.T., 3rd and J.M. Kennedy, *AZT decreases rat myocardial cytochrome oxidase activity and increases beta-myosin heavy chain content*. J Mol Cell Cardiol, 1998. **30**(10): p. 1979-89.
 59. Pereira, L.F., M.B. Oliveira, and E.G. Carnieri, *Mitochondrial sensitivity to AZT*. Cell Biochem Funct, 1998. **16**(3): p. 173-81.
 60. Arnaudo, E., et al., *Depletion of muscle mitochondrial DNA in AIDS patients with zidovudine-induced myopathy*. Lancet, 1991. **337**(8740): p. 508-10.

-
61. Lynx, M.D. and E.E. McKee, *3'-Azido-3'-deoxythymidine (AZT) is a competitive inhibitor of thymidine phosphorylation in isolated rat heart and liver mitochondria*. *Biochem Pharmacol*, 2006. **72**(2): p. 239-43.
 62. Barile, M., et al., *Mechanisms of toxicity of 3'-azido-3'-deoxythymidine. Its interaction with adenylate kinase*. *Biochem Pharmacol*, 1994. **48**(7): p. 1405-12.
 63. Manfredi, R., et al., *A prospective case-control survey of laboratory markers of skeletal muscle damage during HIV disease and antiretroviral therapy*. *Aids*, 2002. **16**(14): p. 1969-71.
 64. John, M. and S. Mallal, *Hyperlactatemia syndromes in people with HIV infection*. *Curr Opin Infect Dis*, 2002. **15**(1): p. 23-9.
 65. John, M., et al., *Chronic hyperlactatemia in HIV-infected patients taking antiretroviral therapy*. *Aids*, 2001. **15**(6): p. 717-23.
 66. Hocqueloux, L., et al., *Prevalence, risk factors and outcome of hyperlactataemia in HIV-infected patients*. *HIV Med*, 2003. **4**(1): p. 18-23.
 67. Boubaker, K., et al., *Hyperlactatemia and antiretroviral therapy: the Swiss HIV Cohort Study*. *Clin Infect Dis*, 2001. **33**(11): p. 1931-7.
 68. Miro, O., et al., *Short communication: reversible mitochondrial respiratory chain impairment during symptomatic hyperlactatemia associated with antiretroviral therapy*. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2003. **19**(11): p. 1027-32.
 69. Montaner, J.S., et al., *Nucleoside-related mitochondrial toxicity among HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy: insights from the evaluation of venous lactic acid and peripheral blood mitochondrial DNA*. *Clin Infect Dis*, 2004. **38 Suppl 2**: p. S73-9.
 70. Bissuel, F., et al., *Fulminant hepatitis with severe lactate acidosis in HIV-infected patients on didanosine therapy*. *J Intern Med*, 1994. **235**(4): p. 367-71.
 71. Olano, J.P., et al., *Massive hepatic steatosis and lactic acidosis in a patient with AIDS who was receiving zidovudine*. *Clin Infect Dis*, 1995. **21**(4): p. 973-6.
 72. Chariot, P., et al., *Zidovudine-induced mitochondrial disorder with massive liver steatosis, myopathy, lactic acidosis, and mitochondrial DNA depletion*. *J Hepatol*, 1999. **30**(1): p. 156-60.
 73. Miller, K.D., et al., *Lactic acidosis and hepatic steatosis associated with use of stavudine: report of four cases*. *Ann Intern Med*, 2000. **133**(3): p. 192-6.
 74. Brivet, F.G., et al., *Fatal lactic acidosis and liver steatosis associated with didanosine and stavudine treatment: a respiratory chain dysfunction?* *J Hepatol*, 2000. **32**(2): p. 364-5.
 75. Haas, S., et al., *[Nucleoside induced hepatopathy in HIV patients. Diagnostic value of liver biopsy assessment]*. *Pathologie*, 2004. **25**(5): p. 406-11.
 76. Duong Van Huyen, J.P., et al., *[Mitochondrial hepatic toxicity associated with antiretroviral treatment]*. *Ann Pathol*, 2005. **25**(4): p. 299-308.

-
77. Gerschenson, M., et al., *Chronic stavudine exposure induces hepatic mitochondrial toxicity in adult Erythrocebus patas monkeys*. J Hum Virol, 2001. **4**(6): p. 335-42.
 78. Walker, U.A., et al., *Depletion of mitochondrial DNA in liver under antiretroviral therapy with didanosine, stavudine, or zalcitabine*. Hepatology, 2004. **39**(2): p. 311-7.
 79. Ristig, M., H. Drechsler, and W.G. Powderly, *Hepatic steatosis and HIV infection*. AIDS Patient Care STDS, 2005. **19**(6): p. 356-65.
 80. Hoffmann, J.K. Rockstroh, and Kamps, *Das Lipodystrophie-Syndrom, HIV.NET 2006*. 2006: p. 307-322.
 81. Carr, A., et al., *Diagnosis, prediction, and natural course of HIV-1 protease-inhibitor-associated lipodystrophy, hyperlipidaemia, and diabetes mellitus: a cohort study*. Lancet, 1999. **353**(9170): p. 2093-9.
 82. Mallon, P.W., et al., *Prospective evaluation of the effects of antiretroviral therapy on body composition in HIV-1-infected men starting therapy*. Aids, 2003. **17**(7): p. 971-9.
 83. Gripshover, B., et al., *Lipoatrophy is the Dominant Feature of the Lipodystrophy Syndrome in HIV-infected Men*. Paper presented at: 10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; Boston, MA., 2003: p. paper 732.
 84. Wand, H., et al., *Increase in limb fat after nucleoside analogue cessation is not associated with decreased visceral fat and has different risk factors*. Antiviral Therapy Abstracts presented at the 7th International Workshop on Adverse Drug Reactions and Lipodystrophy in HIV 13–16 November 2005, Dublin, Ireland, 2005. **10**(L5): p. Abstract 3.
 85. Lichtenstein, K.A., *Redefining lipodystrophy syndrome: risks and impact on clinical decision making*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2005. **39**(4): p. 395-400.
 86. Nolan, D., et al., *Mitochondrial DNA depletion and morphologic changes in adipocytes associated with nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy*. Aids, 2003. **17**(9): p. 1329-38.
 87. Rabing Christensen, E., et al., *Mitochondrial DNA levels in fat and blood cells from patients with lipodystrophy or peripheral neuropathy and the effect of 90 days of high-dose coenzyme Q treatment: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study*. Clin Infect Dis, 2004. **39**(9): p. 1371-9.
 88. van der Valk, M., et al., *Prevalence of lipoatrophy and mitochondrial DNA content of blood and subcutaneous fat in HIV-1-infected patients randomly allocated to zidovudine- or stavudine-based therapy*. Antivir Ther, 2004. **9**(3): p. 385-93.
 89. Buffet, M., et al., *Mitochondrial DNA depletion in adipose tissue of HIV-infected patients with peripheral lipoatrophy*. J Clin Virol, 2005. **33**(1): p. 60-4.
 90. Hammond, E., et al., *Reduction of mitochondrial DNA content and respiratory chain activity occurs in adipocytes within 6-12 months of commencing nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy*. Aids, 2004. **18**(5): p. 815-7.

-
91. McComsey, G.A., et al., *Improvements in lipoatrophy, mitochondrial DNA levels and fat apoptosis after replacing stavudine with abacavir or zidovudine*. *Aids*, 2005. **19**(1): p. 15-23.
 92. Nolan, D., et al., *Contribution of nucleoside-analogue reverse transcriptase inhibitor therapy to lipoatrophy from the population to the cellular level*. *Antivir Ther*, 2003. **8**(6): p. 617-26.
 93. Jones, S.P., et al., *Assessment of adipokine expression and mitochondrial toxicity in HIV patients with lipoatrophy on stavudine- and zidovudine-containing regimens*. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2005. **40**(5): p. 565-72.
 94. Mallon, P., et al., *Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors Decrease Mitochondrial and PPARgamma Gene Expression in Adipose Tissue after only 2 Weeks in HIV-uninfected Healthy Adults*. 11th Conference on Retroviruses & Opportunistic Infections. San Francisco, Calif., USA. Abstract 76., 2004.
 95. Nolan, D., M. John, and S. Mallal, *Antiretroviral therapy and the lipodystrophy syndrome, part 2: concepts in aetiopathogenesis*. *Antivir Ther*, 2001. **6**(3): p. 145-60.
 96. Johnson, J.A., et al., *Increased systemic and adipose tissue cytokines in patients with HIV-associated lipodystrophy*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004. **286**(2): p. E261-71.
 97. Vigouroux, C., et al., *Serum adipocytokines are related to lipodystrophy and metabolic disorders in HIV-infected men under antiretroviral therapy*. *Aids*, 2003. **17**(10): p. 1503-11.
 98. Madge, S., et al., *Lipodystrophy in patients naive to HIV protease inhibitors*. *Aids*, 1999. **13**(6): p. 735-7.
 99. Dowell, P., et al., *Suppression of preadipocyte differentiation and promotion of adipocyte death by HIV protease inhibitors*. *J Biol Chem*, 2000. **275**(52): p. 41325-32.
 100. Lenhard, J.M., et al., *HIV protease inhibitors block adipogenesis and increase lipolysis in vitro*. *Antiviral Res*, 2000. **47**(2): p. 121-9.
 101. Bastard, J.P., et al., *Association between altered expression of adipogenic factor SREBP1 in lipoatrophic adipose tissue from HIV-1-infected patients and abnormal adipocyte differentiation and insulin resistance*. *Lancet*, 2002. **359**(9311): p. 1026-31.
 102. Caron, M., et al., *The HIV protease inhibitor indinavir impairs sterol regulatory element-binding protein-1 intranuclear localization, inhibits preadipocyte differentiation, and induces insulin resistance*. *Diabetes*, 2001. **50**(6): p. 1378-88.
 103. Caron, M., et al., *Some HIV protease inhibitors alter lamin A/C maturation and stability, SREBP-1 nuclear localization and adipocyte differentiation*. *Aids*, 2003. **17**(17): p. 2437-44.
 104. Wulff, E.A., A.K. Wang, and D.M. Simpson, *HIV-associated peripheral neuropathy: epidemiology, pathophysiology and treatment*. *Drugs*, 2000. **59**(6): p. 1251-60.

-
105. Youle, M., *HIV-associated antiretroviral toxic neuropathy (ATN): a review of recent advances in pathophysiology and treatment*. *Antivir Ther*, 2005. **10 Suppl 2**: p. M125-9.
 106. Moore, R.D., et al., *Incidence of neuropathy in HIV-infected patients on monotherapy versus those on combination therapy with didanosine, stavudine and hydroxyurea*. *Aids*, 2000. **14**(3): p. 273-8.
 107. Keswani, S.C., et al., *HIV-associated sensory neuropathies*. *Aids*, 2002. **16**(16): p. 2105-17.
 108. Moyle, G.J. and M. Sadler, *Peripheral neuropathy with nucleoside antiretrovirals: risk factors, incidence and management*. *Drug Saf*, 1998. **19**(6): p. 481-94.
 109. Keilbaugh, S.A., W.H. Prusoff, and M.V. Simpson, *The PC12 cell as a model for studies of the mechanism of induction of peripheral neuropathy by anti-HIV-1 dideoxynucleoside analogs*. *Biochem Pharmacol*, 1991. **42**(1): p. R5-8.
 110. Cui, L., et al., *Effect of nucleoside analogs on neurite regeneration and mitochondrial DNA synthesis in PC-12 cells*. *J Pharmacol Exp Ther*, 1997. **280**(3): p. 1228-34.
 111. Dalakas, M.C., C. Semino-Mora, and M. Leon-Monzon, *Mitochondrial alterations with mitochondrial DNA depletion in the nerves of AIDS patients with peripheral neuropathy induced by 2'3'-dideoxycytidine (ddC)*. *Lab Invest*, 2001. **81**(11): p. 1537-44.
 112. Simpson, D.M. and M. Tagliati, *Nucleoside analogue-associated peripheral neuropathy in human immunodeficiency virus infection*. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retroviro*, 1995. **9**(2): p. 153-61.
 113. Pike, I.M. and C. Nicaise, *The didanosine Expanded Access Program: safety analysis*. *Clin Infect Dis*, 1993. **16 Suppl 1**: p. S63-8.
 114. Kahn, J.O., et al., *A controlled trial comparing continued zidovudine with didanosine in human immunodeficiency virus infection. The NIAID AIDS Clinical Trials Group*. *N Engl J Med*, 1992. **327**(9): p. 581-7.
 115. Moore, R.D., J.C. Keruly, and R.E. Chaisson, *Incidence of pancreatitis in HIV-infected patients receiving nucleoside reverse transcriptase inhibitor drugs*. *Aids*, 2001. **15**(5): p. 617-20.
 116. Havlir, D.V., et al., *Effects of treatment intensification with hydroxyurea in HIV-infected patients with virologic suppression*. *Aids*, 2001. **15**(11): p. 1379-88.
 117. Zilly, M., et al., *Liquid chromatographic method for the determination of uridine in human serum*. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2004. **803**(2): p. 345-51.
 118. Connolly, G.P. and J.A. Duley, *Uridine and its nucleotides: biological actions, therapeutic potentials*. *Trends Pharmacol Sci*, 1999. **20**(5): p. 218-25.
 119. Loffler, M., et al., *Pyrimidine pathways in health and disease*. *Trends Mol Med*, 2005. **11**(9): p. 430-7.

-
120. Traut, T.W. and M.E. Jones, *Uracil metabolism--UMP synthesis from orotic acid or uridine and conversion of uracil to beta-alanine: enzymes and cDNAs*. Prog Nucleic Acid Res Mol Biol, 1996. **53**: p. 1-78.
 121. Liu, M.P., et al., *Discrete roles of hepatocytes and nonparenchymal cells in uridine catabolism as a component of its homeostasis*. Am J Physiol, 1998. **274**(6 Pt 1): p. G1018-23.
 122. Pizzorno, G., et al., *Homeostatic control of uridine and the role of uridine phosphorylase: a biological and clinical update*. Biochim Biophys Acta, 2002. **1587**(2-3): p. 133-44.
 123. Monks, A., O. Ayers, and R.L. Cysyk, *Effect of 5-benzylacetylouridine, a potent inhibitor of uridine phosphorylase, on the metabolism of circulating uridine by the isolated rat liver*. Biochem Pharmacol, 1983. **32**(13): p. 2003-9.
 124. Gasser, T., J.D. Moyer, and R.E. Handschumacher, *Novel single-pass exchange of circulating uridine in rat liver*. Science, 1981. **213**(4509): p. 777-8.
 125. Holstege, A., et al., *Uridine catabolism by the isolated perfused rat liver*. J Hepatol, 1992. **14**(2-3): p. 335-41.
 126. Webster, D., et al., *Hereditary orotic aciduria and other disorders of pyrimidine metabolism*. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th ed (Scriver CR, et al., editors), 2001. **2**: p. 2663-2704.
 127. Traut, T.W., *Physiological concentrations of purines and pyrimidines*. Mol Cell Biochem, 1994. **140**(1): p. 1-22.
 128. Davies, P.M., et al., *Plasma uridine as well as uric acid is elevated following fructose loading*. Adv Exp Med Biol, 1998. **431**: p. 31-5.
 129. el Kouni, M.H., et al., *Circadian rhythm of hepatic uridine phosphorylase activity and plasma concentration of uridine in mice*. Biochem Pharmacol, 1990. **40**(11): p. 2479-85.
 130. Karle, J.M., et al., *Determination of serum and plasma uridine levels in mice, rats, and humans by high-pressure liquid chromatography*. Anal Biochem, 1980. **109**(1): p. 41-6.
 131. Darnowski, J.W. and R.E. Handschumacher, *Tissue uridine pools: evidence in vivo of a concentrative mechanism for uridine uptake*. Cancer Res, 1986. **46**(7): p. 3490-4.
 132. Williams, M.G., J. Palandra, and E.M. Shobe, *Rapid determination of rat plasma uridine levels by HPLC-ESI-MS utilizing the Captiva plates for sample preparation*. Biomed Chromatogr, 2003. **17**(4): p. 215-8.
 133. Yamamoto, T., et al., *Effect of ethanol and fructose on plasma uridine and purine bases*. Metabolism, 1997. **46**(5): p. 544-7.
 134. Yamamoto, T., et al., *Effect of glucose on the plasma concentration and urinary excretion of uridine and purine bases*. Metabolism, 1999. **48**(3): p. 338-41.
 135. Yamamoto, T., et al., *Effect of amino acids on the plasma concentration and urinary excretion of uric acid and uridine*. Metabolism, 1999. **48**(8): p. 1023-7.

-
136. Yamamoto, T., et al., *Effect of beer on the plasma concentrations of uridine and purine bases*. Metabolism, 2002. **51**(10): p. 1317-23.
137. Yamamoto, T., et al., *Effect of muscular exercise on the concentration of uridine and purine bases in plasma--adenosine triphosphate consumption-induced pyrimidine degradation*. Metabolism, 1997. **46**(11): p. 1339-42.
138. Montessori, V., M. Harris, and J.S. Montaner, *Hepatotoxicity of nucleoside reverse transcriptase inhibitors*. Semin Liver Dis, 2003. **23**(2): p. 167-72.
139. Day, L., C. Shikuma, and M. Gerschenson, *Mitochondrial injury in the pathogenesis of antiretroviral-induced hepatic steatosis and lactic acidemia*. Mitochondrion, 2004. **4**(2-3): p. 95-109.
140. Pessayre, D., A. Mansouri, and B. Fromenty, *Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. V. Mitochondrial dysfunction in steatohepatitis*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2002. **282**(2): p. G193-9.
141. Anderson, C.M. and F.E. Parkinson, *Potential signalling roles for UTP and UDP: sources, regulation and release of uracil nucleotides*. Trends Pharmacol Sci, 1997. **18**(10): p. 387-92.
142. Gallant, J.E., et al., *Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naive patients: a 3-year randomized trial*. Jama, 2004. **292**(2): p. 191-201.
143. Côté, H.C., *Possible ways nucleoside analogues can affect mitochondrial DNA content and gene expression during HIV therapy*. Antivir Ther, 2005. **10**(Supplement 2): p. M3-M11.

Danksagung

Sehr herzlich möchte ich mich bei Herrn Priv.-Doz. Dr. Langmann für die Überlassung des Themas, die Übernahme des Referats sowie die stets sehr gute Zusammenarbeit bedanken.

Frau Diana Schirmer und dem Team des wissenschaftlichen Labors des Schwerpunktes Hepatologie/Infektiologie der Medizinischen Klinik und Poliklinik II danke ich vielmals für die Durchführung der analytischen Labortätigkeiten und die Erklärung der Methodik.

Herrn Prof. Dr. Rethwilm danke ich sehr herzlich für die Übernahme des Koreferats.

Herrn Dr. Ralf Winzer danke ich für seinen Rat in klinischen und wissenschaftlichen Fragen sowie für die Tipps bei der Datenerhebung.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. Haubitz, die mich in statistischen Fragestellungen beraten hat.

Bei meinen Eltern bedanke ich mich für die moralische Unterstützung und das Korrekturlesen der Promotionsarbeit.