



**Die Wirkung von Dopamin und Faktoren der dopaminergen
Neurotransmission auf HIV-Infektion und Immunaktivierung: Fokus auf
Dopamin-assoziierte Gene**

**The impact of dopamine and factors influencing the dopaminergic
neurotransmission on HIV infection and immune activation: focus on
dopamine-associated genes**

Dissertation zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades
der Graduate School of Life Sciences, Julius-Maximilians-Universität Würzburg,
Klasse Infektion und Immunität

Vorgelegt von

Anne Horn

aus

Wunsiedel im Fichtelgebirge

Würzburg 2014

Eingereicht am:

Mitglieder des Promotionskomitees:

Vorsitzender: Prof. Dr. Thomas Hünig

1. Betreuer: Prof. Dr. Eleni Koutsilieri

2. Betreuer: PD Dr. Carsten Scheller

3. Betreuer: Prof. Dr. Thomas Dandekar

Tag des Promotionskolloquiums:

Doktorurkunden ausgehändigt am:

ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich an Eides statt, die Dissertation „Die Wirkung von Dopamin und Faktoren der dopaminergen Neurotransmission auf HIV-Infektion und Immunaktivierung: Fokus auf Dopamin-assoziierte Gene“ eigenständig, d.h. insbesondere selbständig und ohne Hilfe eines kommerziellen Promotionsberaters, angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Ich erkläre außerdem, dass die Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Würzburg, den

Anne Horn

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS	I
ZUSAMMENFASSUNG	1
ABSTRACT	3
1 EINLEITUNG	5
1.1 HIV	5
1.1.1 Struktur von HIV	5
1.1.2 Der HIV-Replikationszyklus	6
1.1.3 Subtypen von HIV	7
1.1.4 Pathophysiologie der HIV-Infektion	7
1.1.5 Genetische Polymorphismen bei Chemokinen und Chemokin-Rezeptoren.....	9
1.1.6 Therapie und Resistenz.....	11
1.2 HIV im ZNS	13
1.2.1 Neuropathogenese der HIV-Infektion	13
1.2.2 Neuropathologie der HIV-Infektion	15
1.2.3 Bedeutung des ZNS als Virus-Reservoir.....	16
1.3 HIV-assoziierte Demenz und HIV-assoziierte neurokognitive Störung (HAND)	16
1.3.1 Epidemiologie von HAND	16
1.3.2 Symptomatologie von HAND	17
1.3.3 Diagnose von HAND.....	18
1.4 Dopamin	20
1.4.1 Rolle von Dopamin in der Pathogenese der HIV-Infektion	20
1.4.2 Das dopaminerge System	23
1.4.3 Genetische Polymorphismen, die die dopaminerge Neurotransmission beeinflussen	28
1.5 Zielsetzung der Dissertation	30
2 MATERIAL UND METHODEN	31
2.1 MATERIAL	31
2.2 METHODEN	37
2.2.1 Demographische Daten.....	37
2.2.2 Molekularbiologische Methoden	38
2.2.3 Zellbiologische Methoden	53
2.2.4 Proteinbiochemische Methoden	55
2.2.5 Statistische Analyse.....	57

3 ERGEBNISSE	58
3.1 Klinische Charakterisierung der HIV-Patienten	58
3.2 Rolle von Dopamin in der HIV-Infektion	60
3.2.1 Allelhäufigkeiten von genetischen Polymorphismen, die die dopaminerge Neurotransmission beeinflussen	60
3.2.2 Einfluss des DAT 3'-UTR VNTR auf die Dopamin-Konzentration im Liquor und die DAT-Expression auf PBMCs in HIV-Patienten.....	67
3.2.3. Einfluss der BDNF Val66Met-, COMT Val108/158Met-, DRD ₂ TaqI α -, DRD ₃ Ser9Gly- und DRD ₄ -Polymorphismen auf die Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor und die DAT-Expression auf PBMCs	70
3.2.4. Einfluss der HIV-Infektion auf die periphere Expression von Dopamin-Rezeptoren	74
3.3 Zusammenhang zwischen Dopamin und der Immunaktivierung	77
3.4 Rolle der Immunaktivierung während der HIV-Infektion	81
3.3.1 Immunaktivierung in deutschen HIV-Patienten	81
3.3.2 Immunaktivierung in südafrikanischen HIV-Patienten	85
3.3.3 Vergleich der Immunaktivierung in Deutschen und Südafrikanern	91
3.3.4 Immunaktivierung in <i>Echinococcus</i> und <i>Schistosoma</i> -koinfizierten südafrikanischen HIV-Patienten	93
3.3.5 Antiretrovirale Resistenzen in therapierten HIV-Patienten.....	94
3.3.6 Genetische Polymorphismen bei Chemokinen und Chemokin-Rezeptoren.....	95
4 DISKUSSION	101
QUELLEN	120
DANKSAGUNG	137
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	139
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	143
TABELLENVERZEICHNIS	145
PUBLIKATIONEN	146
ANHANG	147

ZUSAMMENFASSUNG

HIV verursacht eine progressive Zerstörung des Immunsystems und führt zusätzlich durch Veränderungen im ZNS zu neurokognitiven Störungen (*HIV-associated neurocognitive disorders*, HAND). Die HIV-Infektion geht mit einer Dysfunktion von dopaminergen Signalwegen einher, die sich unter anderem in einer erhöhten Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor von Therapie-naiven HIV-Patienten äußert. Der Grund für die Dysregulation der dopaminergen Signalwege in HIV-Patienten ist nicht geklärt. Aufgrund dessen war das Hauptziel dieser Arbeit die Identifizierung des pathogenetischen Mechanismus, der zu einer erhöhten Dopamin-Konzentration im Liquor von HIV-Patienten führt. Die primäre Hypothese war, dass die erhöhte Dopamin-Verfügbarkeit nicht durch das Virus selbst, sondern vielmehr durch die genetische Konstitution der HIV-Patienten hervorgerufen wird. Deshalb wurden Polymorphismen untersucht, die die dopaminerge Neurotransmission beeinflussen. Es wurde vermutet, dass a) verschiedene Genotypen dieser Polymorphismen in nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen mit anderen Häufigkeiten auftreten, b) verschiedene Genotypen mit veränderten Dopamin-Verfügbarkeiten assoziiert sind, c) unterschiedliche Genotypen Auswirkungen auf Marker der Progression der HIV-Infektion haben und d) verschiedene Genotypen die Immunaktivierung beeinflussen. Dazu wurden in 190 HIV-infizierten und nicht-infizierten Teilnehmern unterschiedlicher Ethnien die Polymorphismen BDNF Val66Met, COMT Val108/158Met, DAT 3'-UTR VNTR, DRD2 TaqIa, DRD3 Ser9Gly und DRD4 VNTR mit PCR, ggf. Restriktionsverdau und Agarose-Gelelektrophorese analysiert und die Expression des Dopamin-Transporters mit *real time* PCR bestimmt. Darüber hinaus wurden zur weiteren klinischen Charakterisierung die Immunmarker MCP-1, sCD14, suPAR und RANTES mit ELISA analysiert, da eine Erhöhung dieser Parameter mit einer beschleunigten HIV-Progression assoziiert ist. Die Bestimmung der T-Zell-Aktivierung (CD3/CD8/CD38/HLA-DR) wurde mit einer durchflusszytometrischen Analyse durchgeführt. In dieser Arbeit haben wir gezeigt, dass HIV-Patienten hochsignifikant häufiger homozygot für das 10-repeat Allel des Dopamin-Transporter-Polymorphismus sind als nicht-infizierte Personen (57,1 % bzw. 26,8 %, $p = 0,001$, OR = 3,93, 95 % CI 1,72 – 8,96, direkte logistische Regression). HIV-Patienten und nicht-infizierte Personen mit diesem Genotyp weisen eine signifikant höhere Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor auf als Personen mit dem 9/10-Genotyp ($p = 0,03$) und eine signifikant geringere Expression des Dopamin-Transporters auf PBMCs ($p = 0,05$). Der DAT 10/10-Genotyp ist im Gegensatz zu anderen Genotypen in HIV-Patienten jedoch weder mit unterschiedlichen CD4⁺-Zellzahlen und Viruslasten noch mit einer veränderten Häufigkeit von HAND verbunden.

Zusätzlich weisen deutsche und südafrikanische nicht-infizierte und HIV-infizierte Personen mit dem DAT 10/10-Genotyp eine signifikant höhere MCP-1-Konzentration im Plasma auf als Personen mit anderen DAT-Genotypen ($p = 0,0076$). Keiner der Immunmarker ist mit der Dopamin-Verfügbarkeit assoziiert. Dennoch ist die Immunaktivierung in südafrikanischen HIV-Patienten im Vergleich zu nicht-infizierten Südafrikanern signifikant erhöht: HIV-Patienten zeigen im Vergleich zu nicht-infizierten Personen eine stärkere T-Zell-Aktivierung ($p = 0,0001$), eine erhöhte Plasma-Konzentration von MCP-1 ($p = 0,0014$), eine gesteigerte sCD14-Konzentration ($p = 0,0004$) und eine vermehrte suPAR-Konzentration im Plasma ($p = 0,006$). In der vorliegenden Arbeit konnte kein Nachweis erbracht werden, dass die erhöhte Immunaktivierung in den südafrikanischen HIV-Patienten durch die Koinfektion mit *Echinococcus* oder durch genetische Polymorphismen bei Chemokinen hervorgerufen wird. Eine chronisch erhöhte Immunaktivierung stellt eine treibende Kraft für die Virusreplikation dar und kann letztendlich zu einer Erschöpfung des Immunsystems führen.

Der 10/10-Genotyp des DAT VNTR könnte einen Risiko-Faktor für die HIV-Infektion darstellen, da dieser eine erhöhte Dopamin-Verfügbarkeit nach sich zieht. Dopamin aktiviert HIV in chronisch infizierten T-Lymphoblasten und führt zudem zu einer erhöhten Expression und Sezernierung von $\text{TNF-}\alpha$, das wiederum die Expression von HIV induziert. Diese Ergebnisse untermauern den Zusammenhang von Dopamin und HIV. Es ist jedoch nicht völlig geklärt, ob die erhöhte Dopamin-Konzentration ausschließlich durch den Genotyp hervorgerufen oder auch durch die HIV-Infektion begünstigt wird.

ABSTRACT

HIV infection has adverse effects on the immune system and also leads to a HIV-associated neurocognitive disorder (HAND) due to changes within the CNS. It is associated with a dysfunction of dopaminergic pathways which amongst others involves an increased dopamine availability within the cerebrospinal fluid (CSF) of therapy naïve HIV patients. The reason for the dysregulation of dopaminergic pathways has not been found yet. Therefore, the main goal of this work was the identification of the pathogenetic mechanism leading to an elevated dopamine availability. The primary hypothesis was that the higher dopamine availability is not caused by the virus itself but rather by the genetic background of HIV patients. That is why we analyzed genetic polymorphisms which influence the dopaminergic neurotransmission. We hypothesized that a) different genotypes of these polymorphisms occur with different frequencies in HIV infected and uninfected individuals, b) different genotypes are associated with changes in dopamine availability, c) different genotypes have an impact on markers of HIV disease progression and d) different genotypes influence immune activation. We analyzed the polymorphisms BDNF Val66Met, COMT Val108/158Met, DAT 3'-UTR VNTR, DRD2 TaqI α , DRD3 Ser9Gly und DRD4 VNTR in 190 HIV infected and uninfected participants of different ethnicities by PCR, restriction digestion and agarose gel electrophoresis and the expression of the dopamine transporter by real time PCR. For further clinical characterization the immune markers MCP-1, RANTES, sCD14 and suPAR were measured by ELISA as they are associated with HIV disease progression. The analysis of T cell activation (CD3/CD8/CD38/HLA-DR) was performed using flow cytometry. We found that HIV patients are highly significantly more often homozygous for the 10-repeat allele of the dopamine transporter polymorphism than uninfected individuals (57.1 % and 26.8 %, respectively, $p = 0.001$, OR = 3.93, 95 % CI 1.72 – 8.96, direct logistic regression analysis). HIV patients and uninfected subjects with this genotype display a significantly higher dopamine availability in CSF compared to people with the 9/10 genotype ($p = 0.03$) and significantly decreased mRNA expression of the dopamine transporter on PBMCs ($p = 0.05$). However, the DAT 10/10 genotype compared to other genotypes is neither linked to a difference in CD4 T cell counts and viral loads nor to an altered frequency of HAND. Additionally, German and South African uninfected and HIV infected participants with the DAT 10/10 genotype show higher concentrations of MCP-1 in plasma ($p = 0.0076$). None of the immune markers is associated with dopamine availability. In contrast, immune activation is significantly higher in South African HIV patients compared to uninfected subjects. HIV patients display an augmented T cell activation ($p = 0.0001$), an

elevated plasma concentration of MCP-1 ($p = 0.0014$), increased sCD14 plasma levels ($p = 0.0004$) and a higher suPAR concentration in plasma ($p = 0.006$) compared to uninfected participants. In this study, we could not provide evidence that the higher immune activation in South African HIV patients is due to the parasitic infection *Echinococcus* or due to genetic polymorphisms of chemokines. A chronically elevated immune activation represents a driving force for viral replication and can lead eventually to the exhaustion of the immune system.

The 10/10 genotype of the DAT VNTR could be a risk factor for HIV infection as this genotype causes a higher dopamine availability. Dopamine activates HIV in chronically infected T lymphoblasts and leads to an enhanced expression and secretion of TNF- α which in turn results in an induction of HIV expression. These results emphasize the interaction of dopamine and HIV. However, it has not been completely elucidated whether the elevated dopamine availability is entirely associated with the genotype or it might be a consequence of HIV infection.

1 EINLEITUNG

1.1 HIV

Ende 2012 waren weltweit 35,3 Millionen Menschen mit dem *human immunodeficiency virus* (HIV) infiziert (UNAIDS, 2013). In 2012 waren außerdem 2,3 Millionen Neuinfektionen zu verzeichnen, wobei 70 % aller Neuinfektionen südlich der Sahara auftraten (UNAIDS, 2013). Die HIV-Infektion ist durch einen progredienten Verlust von CD4-positiven (CD4⁺) Leukozyten gekennzeichnet, wodurch Patienten in der *acquired immunodeficiency syndrome* (AIDS)-Phase an opportunistischen Infektionen erkranken und sterben, welche bei normaler Funktion des Immunsystems meist gut zu behandeln wären (C. Janeway, 2009).

Die Übertragung erfolgt über Körperflüssigkeiten wie z.B. Blut, Samenflüssigkeit, Vaginalsekret und Muttermilch (S. J. Flint, 2009). Die Primärinfektion geht häufig mit grippeähnlichen Symptomen einher oder verläuft asymptomatisch (S. J. Flint, 2009). Es kommt zu einer vorübergehenden starken Virusvermehrung und einem Verlust von CD4⁺-Zellen (Kornfeld *et al.*, 1982). Durch das Einsetzen der Zell-vermittelten Immunität und der Bildung von neutralisierenden Antikörpern (Serokonversion) innerhalb weniger Wochen sinkt die Viruslast (S. J. Flint, 2009). Diese bleibt nun über längere Zeit stabil (*viral setpoint*), die Zahl der CD4⁺-Zellen steigt vorübergehend wieder an. Nun kommt es zu einer symptomfreien Latenzphase, die bis zu mehreren Jahren andauern kann. Durch eine allmähliche Erhöhung der Viruslast und das allmähliche Sinken der CD4⁺-Zellzahl (S. J. Flint, 2009) kommt es schließlich zum Ausbruch der Immunschwäche, da das Immunsystem den Körper nicht mehr vor opportunistischen Infektionen schützen kann (C. Janeway, 2009).

1.1.1 Struktur von HIV

HIV ist ein Retrovirus und gehört zur Gattung der Lentiviren (S. J. Flint, 2009). Das behüllte Virus enthält zwei positiv-strängige RNA-Moleküle (C. Janeway, 2009). Die drei wichtigsten Gene von HIV sind *gag*, *pol* und *env*. *Gag* (*group-specific antigen*) kodiert für Matrix-, Kapsid- und Nukleokapsidproteine, das *pol*-Gen (*polymerase*) für die Enzyme Protease, reverse Transkriptase (RT) und Integrase und *env* für die die Hüllproteine (*envelope*) (siehe Abb. 1.1). Die Hüllproteine bestehen aus der Transmembran-Domäne Glykoprotein 41 (Gp41) und dem stark glykosyliertem Oberflächenprotein Gp120 (S. Modrow, 1997). Das Virus besitzt des Weiteren essentielle regulatorische Proteine (Tat und Rev) und

akzessorische Proteine (Vif, Vpr, Vpu, Nef), die für die Infektiösität eine wichtige Rolle spielen (S. J. Flint, 2009).

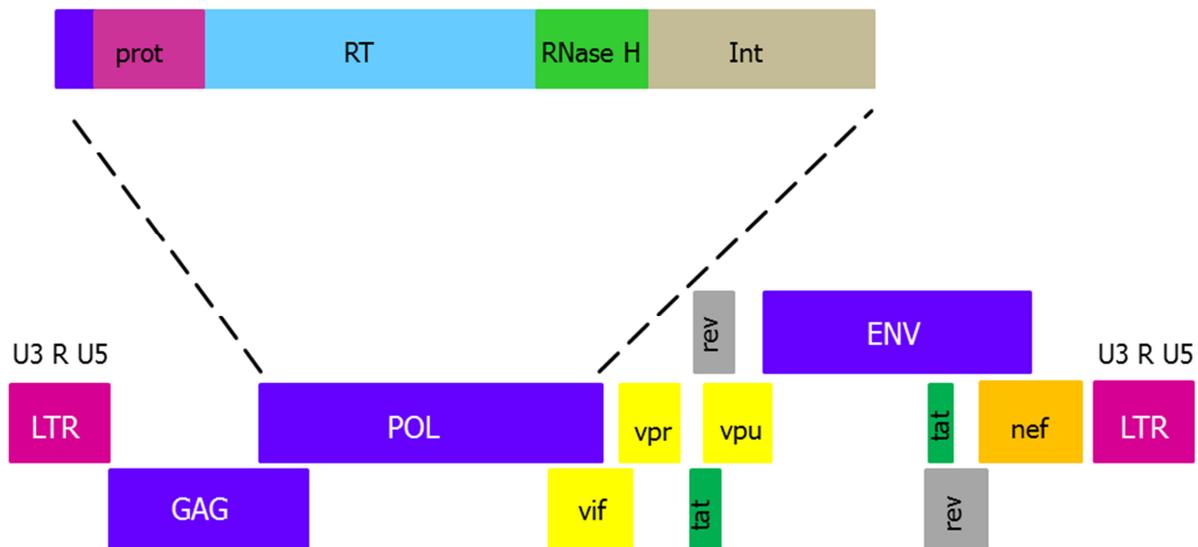


Abb. 1.1: Organisation des Genoms von HIV. Das Genom wird an beiden Seiten von *long terminal repeats* (LTR) flankiert, diese enthalten Promotoren und *Enhancer*. Das Genom von HIV besteht aus gag, pol, env und akzessorischen und regulatorischen Proteinen. Eine detailliertere Darstellung der pol-Region ist vergrößert dargestellt, modifiziert nach (Emerman, 1996).

1.1.2 Der HIV-Replikationszyklus

HIV infiziert CD4⁺-Zellen, v.a. T-Helferzellen, aber auch Monozyten wie z.B. Dendritische Zellen, Makrophagen und Mikroglia. Es bindet über die V3-Schleife (*V3 loop*) von Gp120 an den CD4-Rezeptor der Wirtszelle und zusätzlich an einen der beiden hauptsächlich verwendeten Korezeptoren CXCR4 (CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4) oder CCR5 (CC-Motiv-Chemokin-Rezeptor 5) (Clapham & McKnight, 2001). Monozyten exprimieren nur CCR5, T-Helferzellen sowohl CCR5 als auch CXCR4 (C. Janeway, 2009). Nach Rezeptorbindung, Fusion und Eintritt in die Zelle erfolgt im Zytoplasma die Freisetzung des Nukleokapsids (*uncoating*). Nun wird die RNA durch reverse Transkription (RT) in komplementäre DNA (cDNA) umgeschrieben, die anschließend in den Kern importiert und mit der Integrase in die genomische DNA der Wirtszelle integriert wird. Nach der Transkription durch die zelluläre DNA-abhängige RNA-Polymerase II erfolgt der Export der mRNA aus dem Zellkern; im Zytoplasma an den Ribosomen kommt es zur Proteinsynthese. Anhand von Signalpeptiden assemblieren alle Proteine mit den RNA-Genomen und neue

Viruspartikel werden an der Zytoplasma-Membran abgeschnürt (*budding*). Die Reifung dieser Virionen erfolgt durch die Spaltung der Vorläuferproteine in die reifen Proteine durch das virale Enzym Protease (S. Modrow, 1997).

1.1.3 Subtypen von HIV

Bis heute sind zwei Arten von HI-Viren bekannt, HIV-1 und HIV-2. Die Aminosäure-Sequenzen beider Arten stimmen zu 45 bis 50 % überein. Die HIV-2 Infektion verursacht ebenso wie HIV-1 AIDS, hat aber eine längere Inkubationszeit und eine geringere Mortalität der Infizierten zur Folge (S. J. Flint, 2009). HIV-1 wird in die Gruppen M (*major*), O (*outlier*), N (*non-M, non-O*) und P eingeteilt, wobei die globale Pandemie Viren der Gruppe M zuzuschreiben ist (Perrin *et al.*, 2003). Diese Gruppe wird weiter in die Subtypen A, B, C, D, F, G, H, J und K unterteilt, von denen A, B, C und D am häufigsten auftreten. Die Unterteilung in Subtypen erfolgte anhand von Sequenzhomologien von Env auf Aminosäure-Ebene. Die Homologie in den unterschiedlichen Subtypen beträgt ca. 75 %. Innerhalb eines Subtyps kommt es zu einem Sequenz-Unterschied von bis zu 20 %. Der Unterschied der *env*-Sequenz aller Quasispezies innerhalb eines infizierten Individuums beträgt bis zu 10 % (Perrin *et al.*, 2003). Die Evolution von HIV wird durch die hohen Fehlerraten der viralen reversen Transkriptase (3×10^{-5}) und der Wirts RNA-Polymerase II (10^{-5}), ebenso wie der hohen Replikationsrate vorangetrieben (C. Janeway, 2009). Rekombination und der Selektionsdruck, der vom Immunsystem des Wirts und antiviralen Medikamenten ausgeht, spielen ebenso eine Rolle in der raschen Evolution des Virus (Perrin *et al.*, 2003).

In den Jahren 2004 bis 2007 handelte es sich bei 11,3 % der HIV-Infektionen weltweit um Subtyp B, wobei dieser in Europa und Nordamerika endemisch ist (Hemelaar *et al.*, 2011; Paraskevis *et al.*, 2009). Subtyp C kommt mit 48,2 % weltweit am häufigsten vor (Hemelaar *et al.*, 2011), auf den in Südafrika 89 % der HIV-Infektionen zurückzuführen sind (Jacobs *et al.*, 2009).

1.1.4 Pathophysiologie der HIV-Infektion

Die Pathophysiologie der HIV-Infektion ist komplex. Neben der andauernden Replikation des Virus und dem Verlust von CD4⁺-Zellen liegt in HIV-Patienten eine chronische Aktivierung des Immunsystems vor (Klatt *et al.*, 2013). Diese ist ein besserer Marker für eine schnelle Progression der HIV-Infektion als die Viruslast selbst (Giorgi *et al.*, 1999).

Die Immunaktivierung ist durch eine erhöhte Aktivierung von T-Zellen, eine Veränderung der Zytokinproduktion sowie einer Dysfunktion spezieller Zellen (T-Zellen, Natürliche Killer (NK)-Zellen, Monozyten) gekennzeichnet. Ferner kommt es zu einer erhöhten Durchlässigkeit des Darms für Bakterien und infolgedessen zu einer mikrobiellen Translokation in den Körper sowie zu einer allgemeinen Immunaktivierung (z.B. Interleukin-6 (IL-6)) (Lichtfuss *et al.*, 2011).

Einer der bekanntesten Immunaktivierungs-Marker von T-Zellen ist der *cluster of differentiation* 38 (CD38), der in die Zelladhäsion und Signaltransduktion involviert ist. CD38 *knock-out* Mäuse zeigen eine geschwächte Immunantwort (Malavasi *et al.*, 2008). Eine erhöhte Aktivierung von CD4⁺-T-Zellen vor der Serokonversion ist mit einem höheren Risiko, an AIDS zu erkranken, verbunden (Hazenberg *et al.*, 2003). Eine erhöhte Immunaktivierung in Form von CD38-Expression auf CD4⁺- und CD8⁺-Zellen (T-Helfer-Zellen bzw. zytotoxische T-Zellen) ist zudem in HIV-Patienten mit einer geringeren Lebenserwartung assoziiert (Giorgi *et al.*, 1999). Ein weiterer gängiger Marker für die Aktivierung von CD8⁺-T-Zellen ist das humane Leukozytenantigen (HLA-DR), der Ligand für den T-Zell-Rezeptor und den Korezeptor CD4. Bei anderen Wirbeltieren wird HLA MHC-II (*major histocompatibility complex II*) genannt. Durch gehäufte Präsentation von Peptiden von Antigen-präsentierenden Zellen nimmt die Expression von HLA auf T-Zellen zu.

Die erhöhte Permeabilität des Darms von HIV-Patienten rührt daher, dass es in den ersten zwei bis drei Wochen der HIV-Infektion zum Absterben von bis zu 60 % der CD4⁺-T-Zellen der Darmschleimhaut kommt (Mehandru *et al.*, 2006). Dieser T-Zell-Verlust ist in der HIV-Infektion wichtig, da sich die Mehrzahl der CD4⁺-T-Zellen im gastrointestinalen Trakt, den Lymphknoten und anderen lymphatischen Geweben befinden und nicht in der Peripherie (Brenchley *et al.*, 2004). Dieser Zellverlust wurde auch in *simian immunodeficiency virus* (SIV)-infizierten Rußmangaben, einem Tiermodell für HIV, untersucht. Die Infektion dieser Affen verläuft apathogen. Der Zellverlust im Darm tritt zwar ebenfalls auf, jedoch findet nur eine limitierte lokale und systemische Immunaktivierung statt sowie eine geringere Apoptoserate der T-Zellen im Gegensatz zur pathogenen SIV- und HIV-Infektion (Gordon *et al.*, 2007; Silvestri *et al.*, 2003).

Durch den „löchrigen“ Darm von HIV-Patienten können mikrobielle Produkte leicht vom Darmlumen ins Blut gelangen. Diese zirkulierenden bakteriellen Bestandteile sind mitverantwortlich für die chronische Immunaktivierung während der HIV-Infektion. Ein bekannter Marker für bakterielle Translokation ist Lipopolysaccharid (LPS), ein Bestandteil der äußeren Membran gram-negativer Bakterien (Brenchley *et al.*, 2006), das über lösliches

CD14 (sCD14) und die Bindung an den Toll-like-Rezeptor 4 (TLR4) zur Aktivierung von Monozyten führt. sCD14 ist zudem mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko während der HIV-Infektion assoziiert (Sandler *et al.*, 2011). Zusätzlich ist der lösliche Urokinase-Rezeptor (*soluble urokinase plasminogen activator receptor* (suPAR, CD87)) während der HIV-Infektion erhöht und ist ebenso ein Anzeichen für eine höhere Mortalität (Ostrowski *et al.*, 2005; Sidenius *et al.*, 2000). suPAR ist mit Fibrinolyse assoziiert und ist in immunologische Prozesse wie Zelladhäsion und Zellmigration involviert (Madsen *et al.*, 2007). Ein weiterer Immunmarker für Monozyten ist das *monocyte chemoattractant protein 1* (MCP-1), das von aktivierten Monozyten sezerniert wird, was zur Rekrutierung weiterer aktivierter Monozyten und T-Zellen führt (Leonard & Yoshimura, 1990).

Eine andauernde Hyperaktivierung des Immunsystems trägt wahrscheinlich zur Beeinträchtigung von T-Zellen bei und führt schließlich zur Erschöpfung des T-Zell-Pools (Hazenberg *et al.*, 2003). Eine Senkung der Immunaktivierung könnte die antiretrovirale Therapie in Ländern, in denen die Therapie spät begonnen wird, ergänzen. So führte in einer Studie von unserer Arbeitsgruppe die Behandlung von HIV-Patienten mit dem immunsuppressiven Kortikosteroid Prednisolon zu einer Senkung der Immunaktivierung und tendenziell zu einem Anstieg der CD4⁺-Zellzahl (Kasang *et al.*, 2012).

1.1.5 Genetische Polymorphismen bei Chemokinen und Chemokin-Rezeptoren

Die Analyse des genetischen Hintergrundes nimmt in der Erforschung der HIV-Infektion immer mehr an Bedeutung zu (siehe Review (Levine *et al.*, 2009)). Tritt ein Allel in der Bevölkerung mit einer Häufigkeit von mehr als einem Prozent Allelfrequenz auf, wird dieses als genetischer Polymorphismus bezeichnet (Lewin, 2002); ist dies nicht der Fall, spricht man von einer Mutation oder einer Sequenzvariation. Mutationen in Genen, die zu einer Veränderung des Proteins führen, gehen meist mit Beeinträchtigungen von physiologischen Prozessen einher. Es können verschiedene Prozesse betroffen sein, z.B. die DNA-Replikation, die Transkription, die Genexpression, die Funktionalität des entsprechenden Proteins oder die Aktivität des zugehörigen Enzyms. Hat eine Mutation eine physiologische Veränderung zur Folge, wie zum Beispiel eine 50 %ige Veränderung der Transkription in einem Reporter-Assay, spricht man von einem funktionellen Polymorphismus (Albert, 2011). Bei einem nicht-funktionellen Polymorphismus haben verschiedene Genvarianten keine funktionelle Änderung zur Folge. Im Zusammenhang mit der HIV-Infektion spielen v.a. Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs, *single nucleotide polymorphism*) und Kopienzahlvarianten (VNTR,

variable number of tandem repeats) eine Rolle. In einem SNP ist ein einziges Nukleotid durch ein anderes ersetzt, was zu einer anderen Aminosäure-Sequenz führen kann und folglich zu einer Veränderung der Proteinaktivität (Chorley *et al.*, 2008). SNPs, die im regulatorischen Teil eines Gens, also dem nicht-kodierenden Bereich liegen, führen häufig zu einer veränderten Transkription (Chorley *et al.*, 2008). VNTRs oder Minisatelliten sind durch die 10- bis 100-fache Wiederholung eines bestimmten Sequenzabschnitts von 10 bis 100 Basenpaaren (bp) gekennzeichnet (Ramel, 1997; Seyffert, 2003). Mikrosatelliten bestehen aus Sequenzwiederholungen zwischen 2 und 4 bp (Ramel, 1997). Zudem gehören Insertions- und Deletions-Polymorphismen (INDEL) zu den möglichen Formen der Polymorphismen, die zu einer Verschiebung des Leserasters und damit zu einem nicht-funktionellen Protein führen.

Es wurden einige Polymorphismen identifiziert, die mit der Pathogenese der HIV-Infektion bzw. der Krankheitsprogression zusammenhängen. Diese Polymorphismen liegen insbesondere in Genen, die für Zytokin-Rezeptoren oder Zytokine kodieren, wie es im Review von Levine und Mitarbeitern detailliert beschrieben wird (Levine *et al.*, 2009). Der bekannteste Polymorphismus ist die 32 Basenpaar-Deletion im Korezeptor CCR5, die zu einem nicht-funktionellen Korezeptor führt und so homozygote Träger vor der sexuellen Transmission von HIV schützt (Liu *et al.*, 1996). Weitere Gene, bei denen eine bestimmte Variante die Progression der HIV-Infektion verändert, betreffen die chemotaktisch wirksamen Zytokine *regulated upon activation, normal T-cell expressed and secreted* (RANTES) und MCP-1.

MCP-1 rekrutiert Monozyten, T-Gedächtniszellen und Dendritische Zellen an Entzündungsstellen. Ein SNP im *ccl2*-Gen (MCP-1-2518A→G-Polymorphismus) führt zu einem Austausch von A durch G. Der SNP liegt in der genregulatorischen Region (-2518 relativ zur Transkriptionsstartstelle) (Rovin *et al.*, 1999). Erwachsene mit dem G/G-Allel haben ein 50 % geringeres Risiko, sich mit HIV zu infizieren. Nach der Etablierung einer HIV-Infektion ist derselbe Genotyp jedoch mit einem schnelleren Krankheitsverlauf und einem 4,5-fach erhöhten Risiko, an HIV-Demenz zu erkranken, assoziiert (Gonzalez *et al.*, 2002). Interleukin-1 β (IL-1 β)-stimulierte *peripheral blood mononuclear cells* (PBMCs) von Personen mit mindestens einem G an dieser Stelle des Gens produzieren mehr MCP-1 als PBMCs von Individuen, die homozygot für A sind (Rovin *et al.*, 1999). McDermott und Mitarbeiter zeigten auch *in vivo*, dass Personen mit dem G/G-Genotyp höhere MCP-1-Konzentrationen im Serum aufweisen als solche mit anderen Genotypen (McDermott *et al.*, 2005).

RANTES (CCL5) rekrutiert Leukozyten, v.a. T-Zellen und eosinophile Granulozyten an Entzündungsstellen. Da RANTES (ebenso wie MIP-1 α und MIP-1 β) an CCR5 bindet, ist es neben MIP-1 α und MIP-1 β einer der wichtigsten natürlichen HIV supprimierenden Faktoren, der v.a. von CD8⁺-Leukozyten produziert wird (Cocchi *et al.*, 1995; Coffey *et al.*, 1997). Ein Polymorphismus von RANTES (RANTES Int1.1) liegt im ersten Intron des *ccl5*-Gens auf Chromosom 17. RANTES Int1.1 Cytosin (C) führt zu einer geringeren RANTES-Transkription durch geringere Bindung an Kernproteine (An *et al.*, 2002). Int1.1 C korreliert *in vivo* auch mit erhöhter Ausbreitung von HIV, was wahrscheinlich einen schnelleren Verlauf der Infektion begünstigt (An *et al.*, 2002). HIV-infizierte Personen mit mindestens einem C-Allel zeigen eine schnellere Progression zu AIDS (An *et al.*, 2002). Das Thymin (T)-Allel könnte dagegen ein Risikofaktor für die Transmission von HIV-1 sein (Rathore *et al.*, 2008).

RANTES -403G→A ist ein Polymorphismus in der Promotorregion des Gens. Adenin (A) an der Stelle – 403 relativ zur Transkriptionsstartstelle führt in einer Mastzelllinie und Jurkat-Zellen zu einer erhöhten RANTES-Transkription (Nickel *et al.*, 2000). Menschen mit dem RANTES-403Adenin/Guanin (G)-Genotyp zusammen mit dem RANTES -28C/C-Allel hatten eine höhere Wahrscheinlichkeit, sich mit HIV zu infizieren als solche mit dem 403G/G-Genotyp; zudem war dieser Genotyp mit einer langsameren Progression zu AIDS verknüpft (McDermott *et al.*, 2000). Dieser Genotyp (RANTES-403A/G und -28C/C) könnte also bei HIV-Infizierten einen schützenden Faktor darstellen (McDermott *et al.*, 2000).

1.1.6 Therapie und Resistenz

Im Jahr 1996 wurde die antiretrovirale Kombinationstherapie, die aus drei verschiedenen antiretroviralen Medikamenten besteht, eingeführt. Sie enthält in der Regel eine Kombination aus zwei nukleosidischen/nukleotidischen reverse- Transkriptaseinhibitoren (NRTI) mit entweder einem nicht-nukleosidischen RT-Inhibitor (NNRTI), einem Proteaseinhibitor (PI) oder einem Integraseinhibitor (AIDS-Gesellschaft, 2014), siehe Abb. 1.2. Die Kombination dieser Präparate wird heute als hoch-aktive antiretrovirale Therapie (HAART) oder Kombinations-antiretrovirale Therapie (cART) bezeichnet (S. J. Flint, 2009). In vielen Ländern, so auch in großen Teilen Afrikas und auch in Südafrika, werden aus finanziellen Gründen ausschließlich NRTIs, NNRTIs und PIs angewendet (Abb. 1.2, rot). Andere Medikamente, die v.a. in der westlichen Welt eingesetzt werden, inhibieren die Rezeptorbindung, die Fusion mit der Wirtszelle, die Integration in die genomische DNA und

die Reifung der Viruspartikel, Beispiele der Medikamente sind in Abb. 1.2 dargestellt (Abb. 1.2, blau). Eine Heilung der HIV-Infektion ist bis heute nicht möglich. Zudem haben weltweit nur 54 % der HIV-Infizierten, die die Voraussetzungen für eine Behandlung mit HAART erfüllen, Zugang zu Medikamenten (UNAIDS, 2012).

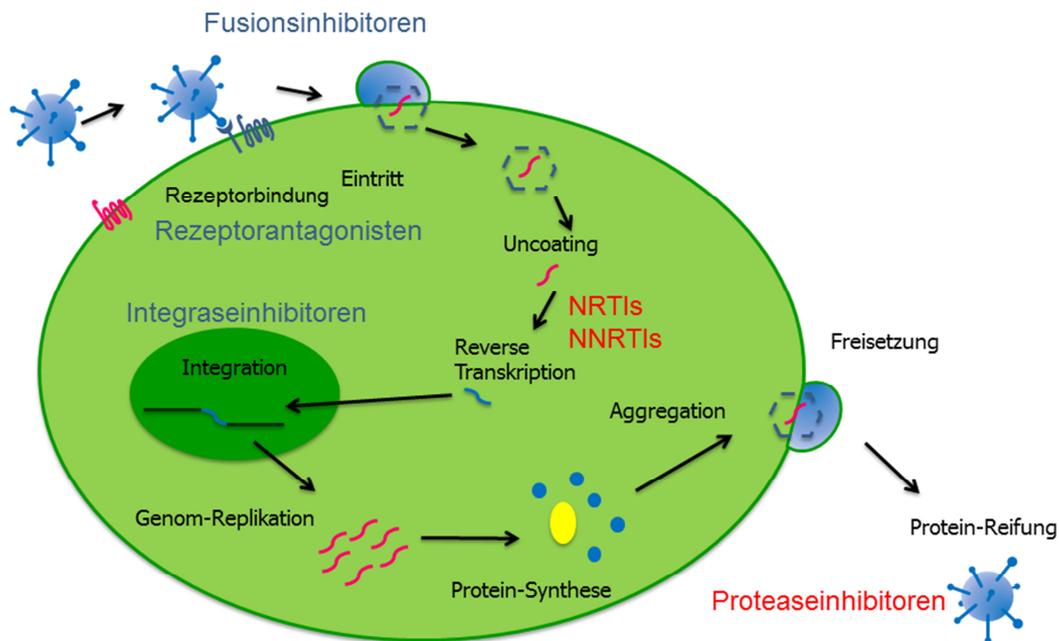


Abb. 1.2: Replikationszyklus von HIV und Wirkstationen antiretroviraler Medikamente. In ärmeren Ländern sind derzeit nur NRTIs, NNRTIs und PIs verfügbar (rot). In Industrieländern stehen auch Medikamente zur Verfügung, die die Korezeptor-Bindung, die Fusion und die Integration unterbinden (blau).

Etwa 10 % der Infizierten in Deutschland sind mit Viren infiziert, die gegen eines oder mehrere Medikamente resistent sind. Vor Beginn der Therapie ist deshalb die Analyse des Resistenzprofils unerlässlich, um eine geeignete Kombination wirksamer Medikamente auswählen zu können. Die Prävalenz der übertragenen Resistenz-assoziierten Mutationen von HIV in Ländern mit mittlerem oder geringem Einkommen wird auf 6,6 % geschätzt (WHO, 2012). Im Gegensatz dazu wurden von unserer Arbeitsgruppe in einer Studie in einem Krankenhaus in Mwanza, Tansania 19,1 % der über 25-jährigen HIV-Patienten als Träger resistenter HI-Viren identifiziert und 0 % der unter 25-Jährigen (Kasang *et al.*, 2011). Da Resistenzen nach den WHO-Kriterien nur in unter 25-Jährigen untersucht werden, legt diese Studie eine dramatische Unterschätzung der Prävalenz von Resistenzen nahe (Kasang *et al.*, 2011). Die meisten der gefundenen Mutationen von HIV verursachen eine Resistenz gegenüber NRTIs und NNRTIs.

1.2 HIV im ZNS

Das Virus gelangt innerhalb der ersten beiden Wochen der Infektion, d.h. während eine sehr hohe Viruslast im Körper herrscht (Virämie), in das zentrale Nervensystem (ZNS) (Davis *et al.*, 1992; Hughes *et al.*, 1997). Obwohl die Blut-Hirn-Schranke und die Blut-Liquor-Schranke das ZNS vor dem Eintritt von Krankheitserregern und Toxinen aus der Peripherie schützen, infiltriert HIV dennoch das ZNS. Wie dies genau geschieht, ist bis heute nicht genau geklärt. Es gibt vier Hypothesen (Arendt, 2007): a) HIV könnte die Endothelzellen und Astrozyten der Blut-Hirn-Schranke direkt infizieren und anschließend in das ZNS abgesetzt werden (Moses *et al.*, 1993; Strelow *et al.*, 1998), b) Das Virus könnte als zell-freies Partikel in das Gehirn eindringen, indem es von Endothelzellen aufgenommen wird. c) Das Virus könnte zufällig und unspezifisch über die beeinträchtigte Blut-Hirn-Schranke ins Gehirn gelangen (Arendt, 2007). d) HIV könnte durch infizierte Monozyten ins Gehirn gelangen. Derzeitigen Annahmen zufolge ist die zuletzt genannte die wahrscheinlichste Hypothese, sie wird als Modell des „trojanischen Pferdes“ bezeichnet (Gendelman *et al.*, 1989; Kaul *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2000).

1.2.1 Neuropathogenese der HIV-Infektion

Das Virus etabliert nun im Gehirn eine Infektion von perivaskulären Makrophagen und Mikroglia. Es wurde besonders in diesen beiden Zelltypen sowie in multinukleären Riesenzellen virales Antigen identifiziert (Pumarola-Sune *et al.*, 1987), siehe auch Reviews (Kaul *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2000). Durch die Infektion von Makrophagen und Mikroglia schütten diese vermehrt proinflammatorische Zytokine aus, wodurch, neben einer Aktivierung durch HIV selbst, auch nicht-infizierte Makrophagen und Mikroglia aktiviert werden (Kaul *et al.*, 2001). Die Mikroglia-Aktivierung tritt bei vielen ZNS-Erkrankungen auf, ist aber meist eine Folge der Erkrankung. Im Zusammenhang mit HIV ist die Mikroglia-Aktivierung keine Folge, sondern die Initiation einer inflammatorischen Kaskade und neurotoxischer Mechanismen (siehe Abb. 1.3). Man unterscheidet die direkte und die indirekte Neurotoxizität. Die direkte Toxizität wird von viralen Molekülen verursacht, deren Einfluss zur Schädigung und Apoptose von Neuronen führt. Diese wird v.a. durch Gp120 und Tat hervorgerufen (Brenneman *et al.*, 1988; New *et al.*, 1997). Die indirekte Toxizität entsteht durch die Sezernierung von Zytokinen und Neurotoxinen zellulären oder viralen Ursprungs, die zur Schädigung und Apoptose von Neuronen führen können.

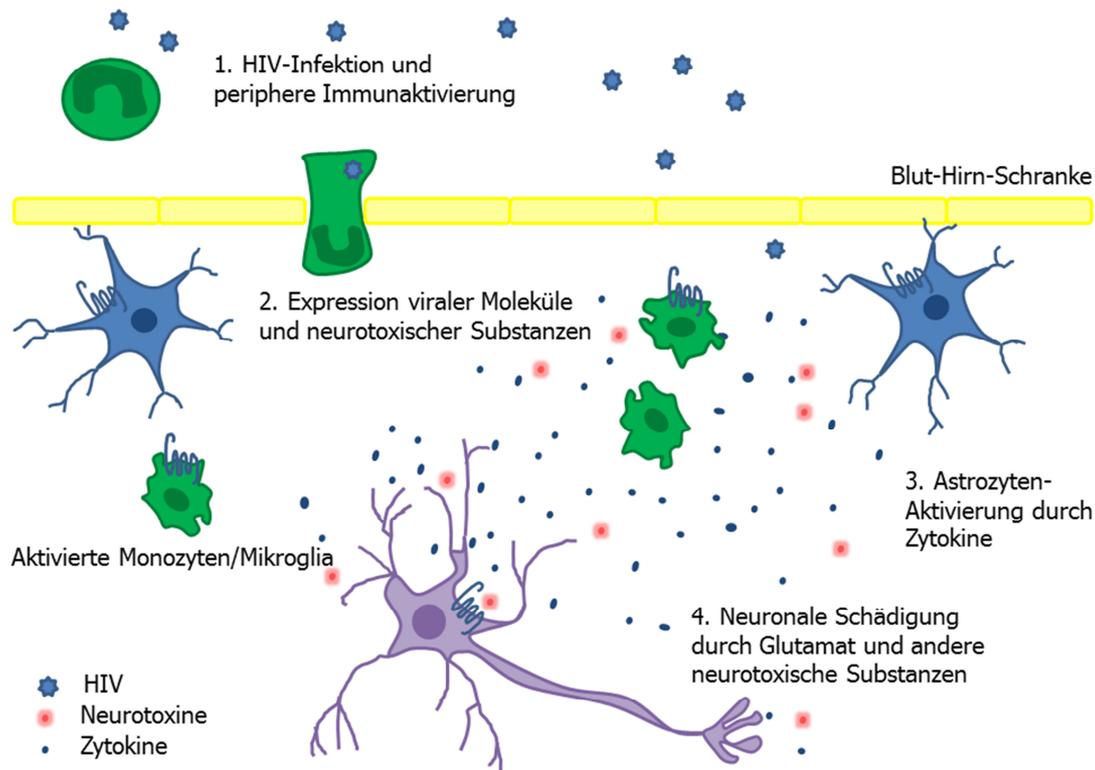


Abb. 1.3: HIV im ZNS. Schematische Übersicht über die neuronale Schädigung im Gehirn. HIV gelangt über Monozyten ins Gehirn, wodurch andere Monozyten und Mikroglia im Gehirn aktiviert und/oder infiziert werden. Durch die vermehrte Expression von Zytokinen werden Astrozyten aktiviert. Zusätzlich exprimieren infizierte und aktivierte Monozyten/Mikroglia virale Moleküle und neurotoxische Substanzen wie z.B. Glutamat, die zur Schädigung von Neuronen führen.

Die wichtigsten involvierten Zytokine sind Interferon- γ (IFN- γ), Tumornekrose-Faktor α (TNF- α) und IL-1 β (Genis *et al.*, 1992). Als Neurotoxine sind Quinolinsäure (Kerr *et al.*, 1998), Arachidonsäure, PAF (*platelet activating factor*) (Gelbard *et al.*, 1994), Glutamat und reaktive Sauerstoffspezies (ROS) von Bedeutung. Durch diese Neurotoxine werden Astrozyten aktiviert und die sezernierenden Funktionen verändert. So bilden Astrozyten z.B. MCP-1 (Conant *et al.*, 1998) und Stickstoffmonoxid (NO) (Mollace *et al.*, 1993), was zur Schädigung der Neuronen bzw. zu einer veränderten Signalübermittlung führt. Zusätzlich wird die Blut-Hirn-Schranke durch die Veränderung der Astrozyten durchlässiger, wodurch mehr Entzündungszellen ins Gehirn migrieren können. Eine wichtige Rolle spielt in diesem Zusammenhang die Exzitotoxizität (Koutsilieri *et al.*, 1999); dieser Mechanismus beinhaltet die exzessive oder andauernde Überstimulation von N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren (NMDA) durch oben genannte Neurotoxine und führt schließlich zur Apoptose (Doble, 1999). Aus der Überstimulation folgt ein Calciuminflux, wodurch zahlreiche zelluläre Enzyme aktiviert werden, was zu einer Schädigung zellulärer Strukturen führt. Ebenso sind hier eine mitochondriale Dysfunktion und eine Aktivierung von Caspasen, die zu neuronalem Zelltod

führen, zu nennen. Studien zeigen auch, dass eine zelluläre Isoform des apathogenen Prion-Proteins (sPrP^c) in die Pathogenese neuropsychiatrischer Störungen im Rahmen der HIV-Infektion involviert ist (Megra *et al.*, 2013). sPrP^c ist an der Signaltransduktion und Zelladhäsion beteiligt und wird als potentieller Biomarker für die neuropsychiatrische Beeinträchtigung bei der HIV-Infektion diskutiert, da es im ZNS von HIV-Patienten mit neuropsychiatrischen Auffälligkeiten im Gegensatz zu solchen ohne neuropsychiatrische Störungen erhöht ist (Mouillet-Richard *et al.*, 2000; Roberts *et al.*, 2010). Die letztendliche Schädigung der Neuronen wird also wahrscheinlich nicht, wie anfänglich vermutet, durch eine direkte Infektion der Neuronen ausgelöst (Pumarola-Sune *et al.*, 1987), sondern durch eine Vielzahl schädigender Substanzen, die durch die Aktivierung von Makrophagen und Mikroglia freigesetzt werden (S. J. Flint, 2009). Es spielen sowohl degenerative Mechanismen als auch die Neuro-Immunaktivierung eine Rolle. Die Dysfunktion bzw. die Degeneration von Neuronen kann letztendlich zu neuropsychiatrischen und neurokognitiven Beeinträchtigungen von HIV-Patienten führen. Mehrere Studien haben gezeigt, dass der Neurotransmitter Dopamin eine wichtige Rolle in der HIV- und SIV-Infektion spielt (Czub *et al.*, 2004; Czub *et al.*, 2001; Lopez *et al.*, 1999; Scheller *et al.*, 2010; Scheller *et al.*, 2005). Darauf wird in Kapitel 1.4.1 näher eingegangen, da die Wirkung von Dopamin auf die HIV-Infektion einen Schwerpunkt dieser Arbeit darstellt.

1.2.2 Neuropathologie der HIV-Infektion

Die HIV-Infektion ist histopathologisch durch eine Enzephalitis, also eine Entzündung des Gehirns charakterisiert und ist neuropathologisch durch vielkernige Riesenzellen (*multinucleated giant cells*), perivaskuläre Infiltrate von Lymphozyten (*perivascular cuffing*) und Mikroglia-Knoten gekennzeichnet (Navia *et al.*, 1986a). Vielkernige Riesenzellen bestehen aus Mikroglia und Makrophagen und entstehen durch die Fusion der viralen Glykoproteine auf infizierten Zellen mit den zellulären Rezeptoren benachbarter Zellen. Weitere histopathologische Kennzeichen sind sowohl das Auftreten von diffuser Gliose, das Ausbleichen der Myelinscheiden von Neuronen und das Auftreten einer Meningitis (Hirnhautentzündung) als auch die Aktivierung von Mikroglia (Mikrogliose) und Astrozyten (Astrogliose) (An *et al.*, 1996). Zudem ist die Neuronendichte in HIV-Patienten geringer als in nicht-infizierten Menschen, die Synapsendichte in HIV-Demenz-Patienten ist ebenso wie das Volumen der Basalganglien reduziert. Dies legt eine allgemeine Gehirnatrophie bei HIV-Demenz-Patienten nahe (Aylward *et al.*, 1993; Everall *et al.*, 1999; Everall *et al.*, 1991).

1.2.3 Bedeutung des ZNS als Virus-Reservoir

Durch die Trennung des ZNS von der Peripherie durch die Blut-Hirn-Schranke und die Blut-Liquor-Schranke liegt eine sogenannte Kompartimentbildung vor, d.h. HIV kann im ZNS und in der Peripherie unabhängig voneinander evolvieren (Petito, 2004). Das bedeutet, dass HIV im ZNS autonom repliziert; so wurden im Gehirn und in der Peripherie andere Quasispezies identifiziert (Epstein *et al.*, 1991). Daneben liegt eine pharmakologische Kompartimentbildung vor, da nicht alle Medikamente in der Lage sind, die Blut-Hirn-Schranke gut zu durchdringen (Letendre *et al.*, 2010). Medikamente, die das ZNS nicht penetrieren können oder nur eine dauerhaft niedrige Konzentration der Medikamente im Gehirn erreichen, führen einerseits dazu, dass das Gehirn zu einem Reservoir für das Virus wird und andererseits zur Selektion von resistenten HI-Viren (Kramer-Hammerle *et al.*, 2005; Smit *et al.*, 2004). Zudem können die resistenten Quasispezies in den Körper zurückgelangen, wodurch es zum Therapie-Versagen kommen kann.

1.3 HIV-assoziierte Demenz und HIV-assoziierte neurokognitive Störung (HAND)

1.3.1 Epidemiologie von HAND

Vor der Einführung der *highly active antiretroviral therapy* (HAART) (vor 1989) waren in der westlichen Welt ca. 50 % der HIV-Patienten von neuropsychiatrischen Störungen betroffen; ungefähr 15 bis 20 % litten an der schwersten Form der Erkrankung, die v.a. im AIDS-Stadium auftritt (McArthur *et al.*, 1993; Reinvang *et al.*, 1991). Diese Störungen von HIV-Patienten wurden in dieser Zeit als HIV-assoziierte Demenz bezeichnet, welche zu den subkortikalen Demenzen gehört (Navia *et al.*, 1986a). Bei einer solchen Demenz sind Gehirnbereiche unterhalb der Großhirnrinde (Kortex) betroffen. Bei den neuropsychiatrischen Störungen während der HIV-Infektion sind v.a. die Basalganglien, die besonders stark dopaminerg innerviert und reich an dopaminergen Neuronen sind, betroffen (Kure *et al.*, 1990).

Seit der Einführung von HAART wird dieser Symptomkomplex zusammenfassend als HAND (*HIV-associated neurocognitive disorder*) bezeichnet. Diese Bezeichnung schließt verschiedene Schweregrade der Erkrankung ein, wobei HIV-assoziierte Demenz die schlimmste Form darstellt. Durch die Kombinationstherapie ist die Prävalenz von HIV-Demenz auf unter 5 % gefallen (Ances & Ellis, 2007) (Review). Jedoch zeigen heute immer

noch ca. 50 % der therapierten Patienten neurokognitive Komplikationen (Clifford, 2008), wobei die milderen Formen häufiger vorkommen. Nach der Einführung von HAART ist zwar die Inzidenz von HAND gefallen (Sacktor *et al.*, 2001), die Prävalenz ist aber immer noch steigend, da die Lebenserwartung von HIV-Patienten seit HAART gestiegen ist (Mothobi & Brew, 2012).

Über die Epidemiologie von HAND in Afrika ist im Gegensatz zu der westlichen Welt sehr wenig bekannt. In einer Studie aus Uganda wurden 64 % als „wahrscheinliche HAND-Patienten“ diagnostiziert (Nakku *et al.*, 2013). In Kamerun wurden 21 % und in Sambia 33 % der HIV-Patienten als HAND-Patienten identifiziert (Njamnshi *et al.*, 2008; Robertson *et al.*, 2010).

HAND tritt möglicherweise nicht bei allen HIV-Subtypen gleich häufig auf. Eine Studie von Sacktor und Mitarbeitern zeigte in einem kleinen Patientenkollektiv, dass in Uganda 89 % der Patienten, die mit dem Subtyp D infiziert sind, neurologische Symptome zeigen, jedoch nur 24 % der Subtyp A-Infizierten (Sacktor *et al.*, 2009). Von Subtyp C-infizierten Personen zeigen 23,5 % neurokognitive Defizite (Joska *et al.*, 2010).

Die neuropsychiatrische Beeinträchtigung von HIV-Patienten wurde erstmalig von Navia und Mitarbeitern und Price beschrieben (Navia *et al.*, 1986a; Navia *et al.*, 1986b; Price *et al.*, 1986). Sie ist weltweit die häufigste Form der Demenz, die bei unter 40-Jährigen auftritt (Sacktor *et al.*, 2005), Review). Oft tritt HIV-assoziierte Demenz als erster Hinweis des AIDS-Stadiums auf, es ist mit einer geringen CD4⁺-Zellzahl und einer hohen Viruslast assoziiert. Leidet ein Patient an HIV-assoziiierter Demenz, stirbt er meist innerhalb eines halben Jahres (McArthur *et al.*, 1993; S. J. Flint, 2009).

1.3.2 Symptomatologie von HAND

Die Klassifizierung von HAND wurde von Antinori und Mitarbeitern überarbeitet (Antinori *et al.*, 2007). Das früheste Stadium wird als asymptomatische neurokognitive Beeinträchtigung (ANI, *asymptomatic neurocognitive impairment*) bezeichnet. In diesem Stadium haben Patienten für den Außenstehenden keine offensichtlichen Einschränkungen, sie zeigen jedoch in zwei Domänen eines neuropsychologischen Tests (z.B. Sprache, Arbeitsgedächtnis, Lernen) eine Standardabweichung von mindestens 1,0 von einem Normwert, der auf das Alter und die Ausbildung angepasst ist. Das zweite Stadium, das milde neurokognitive Defizit, MCMD (*minor cognitive motor disorder*), das auch als MND (*mild neurocognitive disorder*) bezeichnet wird, ist durch leichte motorische und kognitive Symptome gekennzeichnet. In neuropsychologischen Tests weisen Patienten ebenso in zwei Domänen eine

Standardabweichung von 1,0 auf (Antinori *et al.*, 2007). Zusätzlich berichtet der Patient über leichte Schwierigkeiten im Haushalt oder Ineffizienz bei der Arbeit und/oder andere Personen berichten über leichte mentale Einschränkungen des Patienten. Im Stadium der HIV-assoziierten Demenz können Patienten einfachste Funktionen des Alltags nicht mehr selbstständig ausführen und sind nicht mehr in der Lage zu arbeiten.

Bei HAND/HIV-assoziiierter Demenz treten motorische und kognitive Beeinträchtigungen und Verhaltensveränderungen auf (Navia *et al.*, 1986b), Review. Die motorischen Symptome sind auf eine Beeinträchtigung der Feinmotorik zurückzuführen und führen zu Tollpatschigkeit, Rigidität (Steifheit), Bradykinesie (Verlangsamung von Bewegungen), Tremor (Schüttellähmung) (Navia *et al.*, 1986b) und einer Beeinträchtigung des Gleichgewichts. Insgesamt erinnern die motorischen Einschränkungen stark an die Beeinträchtigungen, welche auch bei Morbus Parkinson auftreten (Arendt *et al.*, 1990). Die kognitive Symptomatologie kann, wie bei anderen subkortikalen Demenzen auch, wegen einer Veränderung der dopaminergen Neurotransmission zu Demotivation, Unkonzentriertheit, Beeinträchtigung des Planens und Entscheidens, Vergesslichkeit und schließlich dem Verlust des Gedächtnisses führen (Cummings & Benson, 1984). Verhaltensänderungen sind von einem Verlust der Motivation, Initiative und Spontaneität geprägt, was sich z.B. im sozialen Rückzug und allgemein geringerer Emotionalität äußert. Patienten leiden häufig an Depressionen und Apathie und im Gegensatz dazu auch an Manie und Psychosen (Navia *et al.*, 1986b). Das Endstadium der Erkrankung ist durch Demenz, Inkontinenz, Stummheit, Paraplegie (Lähmung der oberen oder unteren Extremitäten) und manchmal Myoklonie (unwillkürliche Muskelzuckungen) charakterisiert (Navia *et al.*, 1986b).

1.3.3 Diagnose von HAND

HAND wird in erster Linie durch einen HIV-Test und eine neurologische Untersuchung diagnostiziert, zusätzlich werden neuropsychologische Tests angewendet. Zur Bekräftigung der Diagnose HAND und für den Ausschluss anderer Ätiologien können bildgebende Verfahren, wie z.B. eine Magnetresonanztomographie, durchgeführt werden (Arendt & Nolting, 2012). Für den Ausschluss von opportunistischen Erkrankungen ist auch die Diagnostik von Krankheitserregern im Liquor von Bedeutung, die zu neuropsychologischen Beeinträchtigungen führen können. Als andere Ursachen ähnlicher Symptome sind u.a. die zerebrale Zytomegalie-Virus-Infektion, zerebrale Toxoplasmose und Kryptokokken-

Meningitis zu nennen, aber auch Schädel-Hirn-Trauma, Alkohol- oder Drogenmissbrauch und Depressionen. Zusätzlich ist eine Fremdanamnese von Personen aus dem Alltag des HIV-Patienten wichtig, da Patienten ihre neurokognitiven Fähigkeiten häufig falsch einschätzen (Arendt & Nolting, 2012).

Anfangs wurde HIV-Demenz mit einem Screening-Test, dem Mini Mental Status Test, der auch für Morbus Alzheimer verwendet wird, diagnostiziert. Da die Alzheimer Erkrankung eine kortikale Demenz ist, stellte sich dieser Test als nicht spezifisch genug für die Diagnostik einer subkortikalen Demenz heraus. Power und Mitarbeiter entwickelten 1995 einen ebenso schnellen und einfach durchzuführenden *bedside* Screening Test, die HIV-Demenz Skala (HDS) (Power *et al.*, 1995). Die HDS setzt sich aus vier Einheiten zusammen: der Analyse a) der Aufmerksamkeit, b) der psychomotorischen Geschwindigkeit, c) der visuellen Raumvorstellung und d) des Gedächtnisses. Dabei werden a) die Fehlerrate bei anti-sakkadischen Augenbewegungen, b) die Zeit, die für das Aufschreiben des Alphabetes benötigt wird, c) die Zeit, die für das Abmalen eines perspektivischen Würfelbildes benötigt wird und d) das Wiedergeben von vier vor Beginn des Tests genannten Begriffen, gemessen (Power *et al.*, 1995). Ab einer Punktzahl von ≤ 10 ist der Patient ein Kandidat für HAND

Die Weiterentwicklung der HDS, die internationale Demenz Skala (IHDS), bietet ebenso die Möglichkeit einer schnellen Diagnose für HAND, ist aber auch für HIV-Patienten außerhalb der westlichen Welt einsetzbar (Sacktor *et al.*, 2005). Diese besteht aus drei Einheiten, a) die Zeit, die für „Finger klopfen“ (*fingertapping*) mit der nicht-dominanten Hand benötigt wird b) die Zeit, die für eine bestimmte Sequenzabfolge mit der nicht-dominanten Hand benötigt wird und c) die Wiederholung von vier vor Beginn des Tests genannten Begriffen. Dabei wird getestet a) die motorische Geschwindigkeit, b) die psychomotorische Geschwindigkeit und c) das Gedächtnis (Sacktor *et al.*, 2005).

Ist ein Patient laut Testergebnis der HDS oder IHDS neurokognitiv beeinträchtigt, wird für eine genaue Klassifikation eine detailliertere neuropsychologische Test-Batterie durchgeführt. Daraus wird letztendlich der *global deficit score* (GDS) errechnet (Carey *et al.*, 2004). Diese beinhaltet neben der Analyse von Aufmerksamkeit, Gedächtnis und psychomotorischer Geschwindigkeit, die auch bei der HDS/IHDS getestet werden, ferner die Kategorien Lernen, exekutive Funktionen und Sprache. Für die Kategorie Lernen müssen Wörter bestimmter Kategorien gelernt werden. Um die exekutiven Funktionen zu analysieren, muss z.B. eine Karte anhand eines Symbols oder einer Farbe anderen Karten mit diesen Symbolen und Farben zugeordnet werden. Die Wortflüssigkeit wird gemessen, indem ein Patient so viele Früchte oder Gemüsesorten wie möglich innerhalb einer bestimmten Zeit nennt. Ab einer

Punktzahl von $\geq 0,5$ ist ein Patient neuropsychiatrisch beeinträchtigt. Die genauen angewendeten Tests sind in Kapitel 2.2.1 in Material und Methoden aufgeführt.

1.4 Dopamin

Das dopaminerge System wird in Kapitel 1.4.2 detaillierter beschrieben. Zunächst soll die Interaktion von Dopamin und HIV erläutert werden.

1.4.1 Rolle von Dopamin in der Pathogenese der HIV-Infektion

Wie in Kapitel 1.2.1 erwähnt, spielt Dopamin während der HIV-Infektion und der Pathogenese von HAND eine essentielle Rolle. So treten gp41-positive Zellen in Gehirnen von AIDS-Patienten mit Enzephalitis hauptsächlich in den Dopamin-reichen Basalganglien wie z.B. dem Globus pallidus, dem Striatum, dem Thalamus und der Substantia nigra auf (Kure *et al.*, 1990).

Die Rolle des dopaminergen Systems während der HIV-Infektion wird kontrovers diskutiert. HIV-Patienten zeigen zum einen Symptome, die auf eine Hypoaktivität des dopaminergen Systems schließen lassen, wie z.B. Bradykinesie, Hypokinesie, Tremor, Depressionen und Apathie (Koutsilieri *et al.*, 2002c). Zum anderen treten Symptome auf, die auf eine Hyperaktivität des dopaminergen Systems zurückzuführen sind; diese sind z.B. Manie und Psychosen.

In AIDS-Patienten wurde eine geringere intrazelluläre Dopamin-Konzentration im Vergleich zu nicht-infizierten Probanden im Nucleus caudatus nachgewiesen (Sardar *et al.*, 1996). Die Dopamin-Konzentration ist in HIV-Patienten auch in anderen Gehirnbereichen wie z.B. dem Putamen, dem Globus pallidus und der Substantia nigra verringert (Kumar *et al.*, 2009). In den Gehirnregionen, in denen die höchsten Viruslasten auftraten, fand auch die größte Reduktion von Dopamin statt (Kumar *et al.*, 2009). Alle eben genannten Gehirnbereiche gehören zu den Basalganglien. Die Basalganglien sind besonders reich an dopaminergen Neuronen und sind maßgeblich an der Regulation der Motorik (M. Bear, 2007), aber auch an exekutiven und kognitiven Funktionen, beteiligt (Graybiel, 2000). Zu den exekutiven Funktionen gehören Antrieb, Initiative, Planen, Spontaneität, Setzen von Prioritäten und Affekt, zu den kognitiven Fähigkeiten gehören u.a. Sprache, Wahrnehmung, Problemlösung und Aufmerksamkeit. In der Substantia nigra von HIV-Patienten wurde zudem eine erhebliche neuronale Degeneration nachgewiesen (Itoh *et al.*, 2000). Zusätzlich ist in HIV-Patienten eine Reduktion des Gesamt-Volumens des Gehirns auffällig, die in HIV-Demenz-

Patienten stärker als in nicht-dementen HIV-Patienten ausgeprägt ist (Aylward *et al.*, 1993). Dies legt eine allgemeine Gehirn-Atrophie nahe (Aylward *et al.*, 1993).

Zudem wurde in SIV-infizierten Rhesusaffen im Putamen, im Hippocampus und im Frontalkortex eine geringere intrazelluläre Dopamin-Konzentration im Vergleich zu nicht-infizierten Tieren nachgewiesen (Czub *et al.*, 2001; Scheller *et al.*, 2005). Neuropathologische Veränderungen in Dopamin-reichen Gebieten (Globus pallidus und Substantia nigra) treten nicht nur bei HIV, sondern auch bei SIV auf und gehen mit einer Reduktion von Dopamin einher (Czub *et al.*, 2004; Marcario *et al.*, 2004). Zur Kompensierung des intrazellulären Dopamin-Verlustes wurden SIV-infizierte Rhesusaffen pharmakologisch mit Medikamenten behandelt, die die Dopamin-Verfügbarkeit erhöhen; dies führte zu einer signifikanten Inhibierung der Aktivität der Monoaminoxidase A und B (Czub *et al.*, 1999), die eine Erhöhung der Dopamin-Verfügbarkeit im Putamen zur Folge hatte (Czub *et al.*, 2001). Allerdings führte diese Behandlung zu einer Verschlechterung der Neuropathologie und zu einer Beschleunigung der Infektion (Czub *et al.*, 2004). Besonders in den Dopamin-reichen Basalganglien in SIV-infizierten und behandelten Affen waren diese Prozesse relevant (Czub *et al.*, 2004).

Des Weiteren ist im Liquor von Therapie-naiven HIV-Patienten während der asymptomatischen Infektion eine erhöhte Dopamin-Konzentration vorhanden (Scheller *et al.*, 2010).

Es ist bekannt, dass Drogen wie Methamphetamine und Kokain die extrazelluläre Dopamin-Konzentration erhöhen. Purohit und Shurtleff beschreiben zudem, dass bei HIV-Patienten, die Drogen konsumieren, der Schweregrad der Infektion deutlicher ausgeprägt ist als bei Patienten ohne Drogenkonsum (Purohit *et al.*, 2011). In diesen HIV-Patienten tritt signifikant häufiger eine HIV-Enzephalitis auf (Davies *et al.*, 1997). HIV-Patienten, die Methamphetamine konsumierten, zeigten auch signifikant häufiger neuropsychologische Defizite als HIV-Patienten ohne Drogenmissbrauch (Rippeth *et al.*, 2004). Auch war die Blut-Hirn-Schranke in einem HIV-Patienten, der Methamphetamine und Kokain konsumierte, besonders nahe der Basalganglien zusammengebrochen (Nath *et al.*, 2001).

Während der HIV-assoziierten Demenz sind auch Unterschiede in der subkortikalen Stoffwechselaktivität auffällig. In HIV-Patienten im AIDS-Stadium zeigte sich in den Basalganglien und im Parietallappen ein Hypermetabolismus, der nach sechs Monaten stärker ausgeprägt war (Hinkin *et al.*, 1995). Der Hypermetabolismus ist möglicherweise ein Mechanismus, um die neuronale Dysfunktion, die mit der Zeit auftritt, zu kompensieren (Levine *et al.*, 2009). Am Anfang der HIV-Demenz tritt ebenso ein subkortikaler

Hypermetabolismus im Thalamus und den Basalganglien, mit fortschreitender Krankheit ein kortikaler und subkortikaler Hypometabolismus auf (Rottenberg *et al.*, 1987). HIV-Patienten weisen in der Substantia nigra im Gegensatz zu Kontrollen auch eine Dysfunktion auf, wie von Obermann und Mitarbeitern mit einer Ultraschall-Untersuchung herausgefunden wurde; diese war mit geringeren Dopamin-Konzentrationen im Liquor, geringeren CD4⁺-Zellzahlen und schlechterem Abschneiden in einem neuropsychologischen Test assoziiert (Obermann *et al.*, 2009).

Ein schnelleres Auftreten von neurologischen Symptomen wurde auch in Murinen Leukämievirus (MLV)-infizierten Ratten beobachtet, die mit einer Substanz, die die Dopamin-Verfügbarkeit erhöht, behandelt wurden. Diese Ratten zeigten ebenso eine erhöhte Viruslast im ZNS (Czub *et al.*, 1999). Eine weitere Beobachtung stützt die Verschlechterung der intrazerebralen Infektion durch dopaminerge Behandlung, nämlich die erhöhte TNF- α mRNA-Expression in Gehirnen von SIV-infizierten Rhesusaffen mit erhöhter Dopamin-Verfügbarkeit (Czub *et al.*, 2004).

In vitro-Studien geben ebenso Hinweise auf eine Interaktion von Dopamin und HIV bzw. auf den Einfluss von Dopamin auf Neuronen (zusammengefasst in (Koutsilieri *et al.*, 2002b)). So aktiviert Dopamin HIV in chronisch infizierten ACH-2-Zellen (Scheller *et al.*, 2000). Die Aktivierung wurde durch einen Mechanismus ausgelöst, der oxidativen Stress beinhaltet, da die Zugabe der Antioxidantien Glutathion oder N-Acetylcystein die Aktivierung von HIV durch Dopamin verlangsamte (Scheller *et al.*, 2000). Tatsächlich wurden Hinweise auf oxidativen Stress in Gehirnen von HIV-Demenz-Patienten im Gegensatz zu nicht-dementen HIV-Patienten gefunden, die durch erhöhte Nitrotyrosin-Konzentrationen gekennzeichnet waren (Boven *et al.*, 1999). Es ist bekannt, dass Dopamin rasch autooxidiert und dadurch oxidativen Stress verursacht, was zur Schädigung von Neuronen beiträgt.

Dopamin stimuliert zudem die Expression von HIV in Jurkat-Zellen über die Aktivierung von NF- κ B (Rohr *et al.*, 1999). Rekombinantes TNF- α induziert die Expression von HIV in chronisch infizierten Zellen (Folks *et al.*, 1989), endogenes TNF- α reguliert ebenso die Transkription von integriertem HIV in chronisch infizierten Zellen hoch (Poli *et al.*, 1990). Die TNF- α -Expression war auch in Gehirnen von SIV-infizierten Rhesusaffen erhöht, die mit Medikamenten behandelt wurden, die die Dopamin-Verfügbarkeit erhöhen (Czub *et al.*, 2004).

1.4.2 Das dopaminerge System

Der Neurotransmitter Dopamin wurde zum ersten Mal 1959 von Avid Carlsson beschrieben, der dafür mit dem Nobel-Preis ausgezeichnet wurde (Carlsson, 1959). Dabei handelt es sich um ein biogenes Amin, das neben Noradrenalin und Adrenalin zur Gruppe der Katecholamine gehört. Katecholaminerge Neuronen sind durch das Vorhandensein des Enzyms Tyrosin-Hydroxylase charakterisiert. Dopamin ist ein sog. modulierender Neurotransmitter und besitzt sowohl exzitatorische (erregende) als auch inhibitorische Funktionen. Im ZNS kommt er vor allem als Neurotransmitter und als Intermediat bei der Noradrenalin-Synthese vor. Im peripheren Nervensystem ist Dopamin sowohl bei der Noradrenalin- als auch bei der Adrenalin-Synthese als Zwischenprodukt vorhanden und reguliert dort die Durchblutung innerer Organe.

Es spielt eine essentielle Rolle im Belohnungs-System (Yokel & Wise, 1975), was wiederum für elementare Prozesse wie z.B. Essen, Trinken und Fortpflanzung wichtig ist (Arias-Carrion *et al.*, 2010). Zudem ist Dopamin für die Motorik, Motivation, Gedächtnis, Aufmerksamkeit, Lernen und Suchtverhalten unerlässlich (Phillips *et al.*, 2008; Smith & Villalba, 2008). Für die Regulation dopaminerger Signalwege sind die Basalganglien von zentraler Bedeutung, die im Folgenden näher betrachtet werden.

Neuronen, in denen Dopamin synthetisiert wird, werden dopaminerge Neuronen genannt. Sie kommen im ZNS hauptsächlich im Mittelhirn, im Zwischenhirn und im Riechkolben vor. Die Somata (Perikaryi) der Nervenzellen befinden sich hauptsächlich in der Substantia nigra pars compacta, der Area tegmentalis ventralis (VTA) und der retro-rubralen Region (Arias-Carrion *et al.*, 2010). Von dort projizieren die dopaminergen Neuronen in Bereiche des Zwischen- und Großhirns hinein, in denen sich die Synapsen der dopaminergen Neuronen befinden. Die Synapsen liegen v.a. im Striatum, in der Amygdala (Mandelkern), im Hippocampus und im Frontallappen.

Im ZNS gibt es acht dopaminerge Signalwege, vier davon spielen eine übergeordnete Rolle und sind im Review von Arias-Carrion *et al.* zusammengefasst (Arias-Carrion *et al.*, 2010). Das nigrostriatale System entspringt der Substantia nigra pars compacta und projiziert v.a. in das Striatum. Dieser Verarbeitungspfad ist an der Kontrolle von willkürlichen Bewegungen beteiligt und ist Teil des sog. *basal ganglia motor loops* (Smith & Villalba, 2008). Dieses System ist häufig beim Auftreten von hypokinetischen (bewegungsarmen) Symptomen von Morbus Parkinson betroffen (Bjorklund & Dunnett, 2007). Das mesolimbische System entspringt der Area tegmentalis ventralis (VTA) und projiziert in das limbische System, also v.a. die Amygdala, den Hippocampus und den Nucleus accumbens. Es ist das

Belohnungssystem, das bei zu geringer Aktivität zu Antriebs- und Lustlosigkeit führt. Bei Einnahme von Substanzen wie z.B. Kokain oder Amphetaminen und bei natürlichen Belohnungen wie z.B. Essen wird dieser Signalweg stimuliert (Baik, 2013; Nestler & Carlezon, 2006). Das mesokortikale System entspringt auch der VTA und projiziert zum Frontallappen. Dieses ist für exekutive Funktionen und Motivation von Bedeutung (Arias-Carrion *et al.*, 2010). Das tuberoinfundibuläre System geht vom Hypothalamus aus und zieht zum Hypophysenvorderlappen. Dort wird die Freisetzung von Prolaktin und daher bspw. die Milchsekretion gehemmt.

Wichtige Schritte der Synthese und des Abbaus von Dopamin in einer dopaminergen Synapse sind in Abb. 1.4 dargestellt.

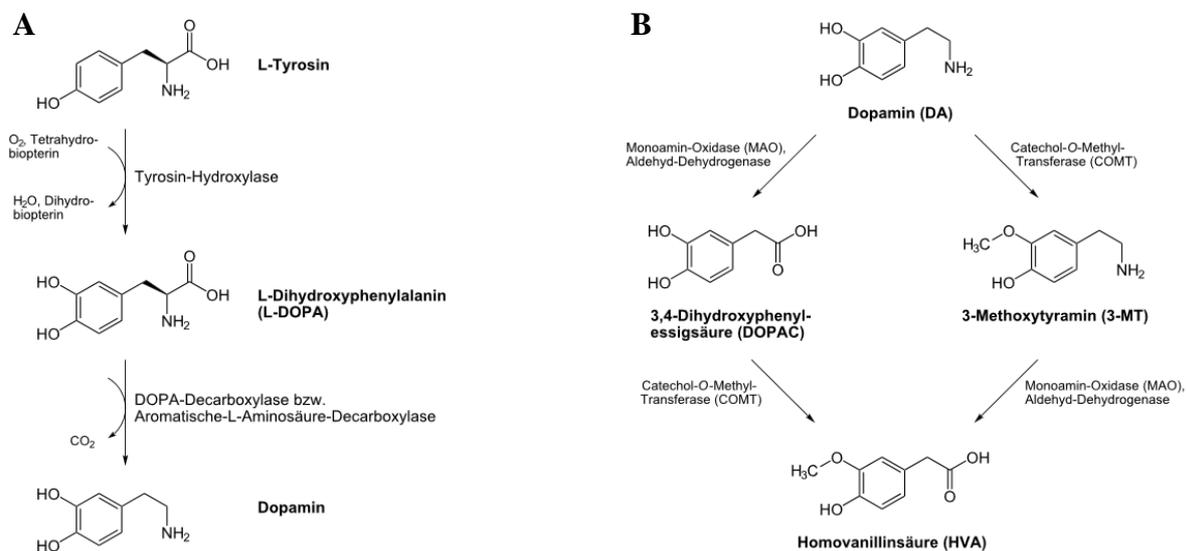


Abb. 1.4: Synthese und Abbau von Dopamin. **A:** Dopamin wird ausgehend von L-Tyrosin über das Intermediat L-DOPA synthetisiert. **B:** Der Abbau von Dopamin erfolgt über die Intermediate DOPAC oder 3-MT zu HVA. Quelle: <http://de.wikipedia.org/wiki/Dopamin>, <http://de.wikipedia.org/wiki/Catechol-O-Methyltransferase>.

Die Vorstufe von Dopamin ist die nicht-essentielle Aminosäure L-Tyrosin, die auch aus der essentiellen Aminosäure Phenylalanin gebildet werden kann. L-Tyrosin wird durch die Tyrosin-Hydroxylase zu L-DOPA (L-Dihydroxyphenylalanin) hydroxyliert. L-DOPA wird mit der aromatischen L-Aminosäure-Decarboxylase (AADC) zu Dopamin decarboxyliert und mit dem VMAT (*vesicular monoaminotransporter*) in Speichervesikel gepumpt und dort gelagert (Allen *et al.*, 2013; Moriyama *et al.*, 1993). Der Geschwindigkeits-limitierende Schritt in der Dopamin-Synthese ist die Umwandlung von L-Tyrosin zu L-DOPA. Die Dopamin-Synthese kann durch synaptisches Dopamin gehemmt werden, was auch als Endprodukt-Hemmung bezeichnet wird. Die Freisetzung von Dopamin geschieht durch

Exozytose oder einen reversen Transport durch den Dopamin-Transporter (DAT). Dopamin gelangt schließlich über den synaptischen Spalt zu den Rezeptoren des postsynaptischen Neurons und leitet so Informationen weiter. Zur Beendigung der Signalübertragung kann Dopamin mit dem DAT wieder in die präsynaptische Zelle aufgenommen, metabolisiert werden oder wegdiffundieren (siehe Abb. 1.5).

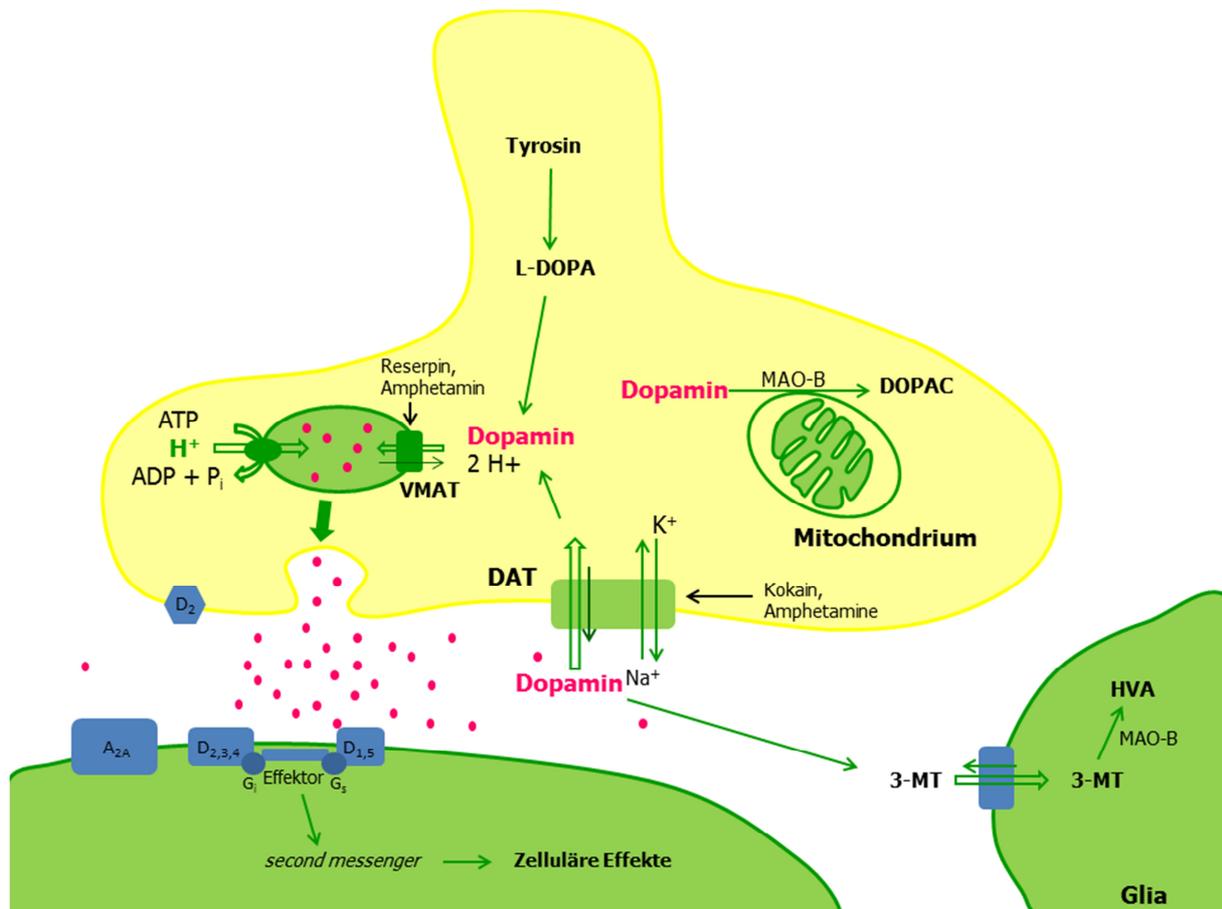


Abb. 1.5: Dopaminerge Synapse. Schematische Übersicht über die Synthese, die Speicherung, den Metabolismus von Dopamin und der Effekt auf nachgeschaltete Neuronen und Gliazellen.

Im ZNS erfolgt der Abbau von Dopamin hauptsächlich durch die intrazellulär vorkommende Monoaminooxidase (MAO) durch Desaminierung zu 3,4-Dihydroxyphenylethylamin (DOPAC). Dies wird anschließend mit der Catechol-O-Methyltransferase (COMT), die hauptsächlich in Astrozyten vorkommt, zu Homovanillinsäure (HVA) methyliert (Westerink, 1985).

Die dopaminerge Neurotransmission findet durch Bindung von Dopamin an Rezeptoren der postsynaptischen Zelle statt. Alle Dopamin-Rezeptoren sind G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (Missale *et al.*, 1998). Die Dopamin-Rezeptoren (DR) wurden anhand ihrer

pharmakologischen und biochemischen Eigenschaften in zwei Hauptgruppen eingeteilt: D₁- und D₂-Rezeptoren. DRD₁ und DRD₅ gehören zur Gruppe der D₁-Rezeptoren und wirken exzitatorisch auf das Neuron (Emilien *et al.*, 1999). Durch die Bindung des Liganden an den Rezeptor wird ein stimulatorisches G-Protein (G_s-Protein) aktiviert. Dieses stimuliert das Enzym Adenylatzyklase, das für die Synthese des sekundären Botenstoffs zyklisches Adenosin-Monophosphat (cAMP) aus Adenosintriphosphat (ATP) verantwortlich ist (Kebabian & Calne, 1979). cAMP aktiviert die Proteinkinase A, die essentiell für die Phosphorylierung zellulärer Enzyme und Natrium-Kanäle und damit deren Öffnung ist. Somit kommt es zu einer Depolarisation des Neurons, es entsteht ein exzitatorisches postsynaptisches Potential (EPSP).

DRD₂, DRD₃ und DRD₄ gehören zur Gruppe der D₂-Rezeptoren und verursachen eine Hyperpolarisation des postsynaptischen Neurons. Durch Bindung des Liganden an den Rezeptor wird ein inhibitorisches G-Protein (G_i-Protein) aktiviert, die Adenylatzyklase inhibiert und ein IPSP (inhibitorisches postsynaptisches Potential) ausgelöst. Dies hat die Aktivierung von Kalium-Kanälen zur Folge, das Ruhepotential wird demzufolge stabilisiert (für eine Übersicht über Dopamin-Rezeptoren siehe (Missale *et al.*, 1998; Vallone *et al.*, 2000)).

DRD₁ kommt v.a. in Striatum und dem Nucleus accumbens vor, zudem im Kortex und im Tuberculum olfactorium (Mengod *et al.*, 1991; Takahashi, 2013). Der ebenfalls exzitatorisch wirkende DRD₅ wird im Hippocampus und in der Amygdala exprimiert (Meador-Woodruff *et al.*, 1994).

DRD₂ ist abundant u.a. im Nucleus accumbens und der Substantia nigra vorhanden (Vallone *et al.*, 2000). DRD₃ und DRD₄ werden hauptsächlich in Regionen des limbischen Systems exprimiert. DRD₃ tritt im Nucleus accumbens, Thalamus und Cerebellum und DRD₄ v.a. im Hippocampus auf (Amygdala, Frontallappen) (Choi *et al.*, 1995; Meador-Woodruff *et al.*, 1994; Sun *et al.*, 2012).

Dopamin-Rezeptoren werden auch außerhalb des ZNS exprimiert. In der Peripherie kommt hauptsächlich DRD₂ vor und dort v.a. in der Niere und im vaskulären System (Vallone *et al.*, 2000). Zudem werden alle Dopamin-Rezeptoren auf Zellen des Immunsystems z.B. in T-Zellen, B-Zellen und Monozyten exprimiert (McKenna *et al.*, 2002; Ostadali *et al.*, 2004). Dopamin und Dopamin-Rezeptoren auf Lymphozyten sind an der Regulation von zytotoxischen T-Zellen, regulatorischen T-Zellen, der Proliferation und Differenzierung von Lymphozyten und der Expression bestimmter Zytokine beteiligt (Bergquist *et al.*, 1994; Besser *et al.*, 2005; Cosentino *et al.*, 2007; Kipnis *et al.*, 2004; Saha *et al.*, 2001). Einige

neuropsychologische Erkrankungen sind mit einer Dysregulation von Dopamin-Rezeptoren und mit veränderten Dopamin-Konzentrationen assoziiert. So wurde gezeigt, dass Parkinson-Patienten im Gegensatz zu gesunden Personen eine erhöhte Dichte D₁- und D₂-ähnlicher Dopamin-Rezeptoren auf Lymphozyten und Schizophrenie-Patienten eine erhöhte DRD₂-mRNA-Expression auf Lymphozyten aufweisen (Barbanti *et al.*, 1999; Meador-Woodruff *et al.*, 1994; Zvara *et al.*, 2005).

Die extrazelluläre Dopamin-Konzentration wird hauptsächlich von DAT reguliert. Dieser ist ein integrales Membran-Protein und gehört zur Familie der *solute carrier molecule family* (SLC). Diese Transporter spielen eine wichtige Rolle in der Regulation der Neurotransmitter-Homöostase (Giros & Caron, 1993). Das humane *dat*-Gen besteht aus 15 Exons und ist 64 kb lang. Das Protein besteht aus 620 Aminosäuren. DAT nimmt zwei Natrium-Ionen und ein Chlorid-Ion zusammen mit Dopamin aus dem extrazellulären Raum auf, transportiert diese in die Zelle und beendet daher die dopaminerge Transmission (Giros *et al.*, 1996; Kristensen *et al.*, 2011). Außerhalb der Zelle herrscht eine hohe Natriumkonzentration, innerhalb der Zelle eine niedrige. Die treibende Kraft des Transportes ist somit der Konzentrationsgradient bzw. der elektrochemische Potentialunterschied, der durch Natrium-Kalium-ATPasen aufrechterhalten wird (Uhl, 2003). DAT kann, wie oben erwähnt, aber auch die Freisetzung von Dopamin bewirken; so ist der Transporter auch für die dendritische Freisetzung von Dopamin wichtig (Falkenburger *et al.*, 2001). Er wird hauptsächlich in Dendriten und Axonen exprimiert, v.a. außerhalb der Synapsen (Kristensen *et al.*, 2011).

DAT spielt eine Rolle in einigen Erkrankungen, die mit einer pathologischen Veränderung des dopaminergen Systems einhergehen (z.B. das Aufmerksamkeits-Defizit-Syndrom (ADHS), Morbus Parkinson, Tourette Syndrom) (Jijun *et al.*, 2010; Krause, 2008; Varrone & Halldin, 2010). Deshalb ist DAT Ziel diverser Medikamente zur Behandlung dieser Erkrankungen, ebenso wirken Psychostimulantien wie Kokain und Amphetaminen am DAT (Kristensen *et al.*, 2011).

Die Dichte von Dopamin-Rezeptoren und des – Transporters bzw. die Aktivität der Enzyme, die für die Synthese oder den Metabolismus von Dopamin verantwortlich sind, ist von Mensch zu Mensch unterschiedlich und von bestimmten Faktoren abhängig. Zum Beispiel spielen Kompensationsmechanismen eine Rolle. Ein längerfristig erhöhter Dopamin-Spiegel, der durch Methamphetamine induziert wird, führt in neuronalen Zellkulturen dazu, dass D₂-Rezeptoren herunterreguliert werden (Bennett *et al.*, 1998). Für die generelle Rezeptor-Dichte, Enzym-Aktivität oder Expression des Transporters eines Menschen sind genetische Faktoren verantwortlich. So wurden genetische Polymorphismen in synaptischen Elementen

identifiziert, die in die dopaminerge Transmission involviert sind; diese regulieren die Expression des jeweiligen Elements und beeinflussen deshalb die dopaminerge Neurotransmission.

1.4.3 Genetische Polymorphismen, die die dopaminerge Neurotransmission beeinflussen

Genetische Untersuchungen nehmen in der Erforschung der Pathogenese neuropsychiatrischer Erkrankungen immer mehr zu (Caspi & Moffitt, 2006). Hier sind v.a. Krankheiten zu nennen, die mit einem veränderten Dopamin-Haushalt zusammenhängen wie z.B. Schizophrenie, Morbus Parkinson, Depressionen und ADHS. Als Gegenstand derzeitiger Forschungen sind v.a. der Wachstumsfaktor *brain derived neurotrophic factor* (BDNF), das Enzym COMT, der DAT und die Dopamin-Rezeptoren. Auf genetische Polymorphismen im Allgemeinen wurde in Kapitel 1.1.5 näher eingegangen. Nun sollen Polymorphismen, die die dopaminerge Neurotransmission beeinflussen, näher beschrieben werden.

Der SNP des DRD₂-Polymorphismus liegt in der 3'-untranslatierten Region (3-UTR) des *drd2*-Gens. In gesunden Personen führt das A1/A2-Allel zu einer geringeren Dichte des Rezeptors im Striatum (Jonsson *et al.*, 1999; Pohjalainen *et al.*, 1998). Heterozygote Personen zeigen auch eine erhöhte striatale Aktivität der L-AADC, vermutlich also eine erhöhte Dopamin-Verfügbarkeit (Laakso *et al.*, 2005). A1/A2-Träger haben des Weiteren zudem ein erhöhtes Risiko, an Depressionen und bipolaren Störungen zu erkranken (Zhang *et al.*, 2014).

Der DRD₃-Polymorphismus liegt im ersten Exon des *drd3*-Gens und umfasst einen Aminosäure-Austausch von Serin zu Glyzin. Das Glyzin-Allel des Polymorphismus wurde mit einer kognitiven Beeinträchtigung in HIV-infizierten Personen, die Methamphetamine konsumieren, assoziiert (Gupta *et al.*, 2011). CHO-Zellen, die homozygot für Glyzin sind, zeigen zudem erhöhte Dopamin-Bindungsraten (Lundstrom & Turpin, 1996).

Der DRD₄-VNTR liegt in der dritten zytoplasmatischen Schleife der kodierenden Region des Gens (im dritten Exon). Dieser Polymorphismus besteht aus einem 48 bp Fragment, das zwischen 2 und 11 Mal wiederholt wird (Ding *et al.*, 2002). Das 7-repeat-Allel hatte andere pharmakologische Eigenschaften als das 2/4 und das 4/4-repeat-Allel, wenn es in COS-Zellen exprimiert wurde (Van Tol *et al.*, 1992). Junge Erwachsene mit mindestens einer Kopie des 7-repeat Allels des DRD₄-VNTR zeigen im Vergleich zu anderen Allel-Trägern häufiger promiskes Verhalten (Garcia *et al.*, 2010) und eine reduzierte Inhibitionskontrolle (Congdon *et al.*, 2008). Zudem zeigen Israelis mit mindestens einer Kopie des 7-repeat-Allels häufiger

novelty seeking-Verhalten im Gegensatz zu Personen mit anderen Genotypen (Ebstein *et al.*, 1996).

Der DAT VNTR liegt in der 3'-untranslatierten Region (3'-UTR) des *slc6a3*-Gens auf Chromosom 5p13.3 und besteht aus einem 40-bp Fragment, das in einer drei bis 11-fachen Wiederholung vorliegt (Vandenbergh *et al.*, 1992). Es wurden in Einwohnern der Elfenbeinküste bis zu 16 Wiederholungen gefunden (Santovito *et al.*, 2008). In diesem Polymorphismus ist die Aminosäure-Sequenz nicht verändert. Das 10/10-repeat Allel wurde mit einer geringeren Dichte von DAT-Bindungsstellen und ADHS assoziiert (Hawi *et al.*, 2005; van de Giessen *et al.*, 2009; Waldman *et al.*, 1998).

Im *comt*-Gen wurde ein SNP nachgewiesen, der einen Aminosäure-Austausch von Valin zu Methionin beinhaltet, der COMT 108/158Val→Met-Polymorphismus. Das Met-Allel führt zu einer drei- bis vierfach verringerten Enzymaktivität der COMT und zu erhöhter Thermolabilität und somit zu einer erhöhten Dopamin-Verfügbarkeit (Lachman *et al.*, 1996). Schizophrenie-Patienten und gesunde Personen mit dem Met-Allel zeigten bessere kognitive Funktionen als Patienten bzw. Personen mit anderen Genotypen des COMT-Polymorphismus (Bilder *et al.*, 2002).

Ein wichtiger Faktor für die synaptische Plastizität, also die Veränderung der Elemente der Synapse, ist BDNF. Es wird von Neuronen und nicht-neuronalem Gewebe (wie z.B. Muskeln) sezerniert und ist essentiell für das Wachstum und das Überleben von dopaminergen Neuronen (Hyman *et al.*, 1991) und für die Regulation der Expression von DRD₁ und DRD₃ (Do *et al.*, 2007; Guillin *et al.*, 2003). Es spielt auch in SIV-infizierten Rhesus-Makaken eine Rolle: durch die Erhöhung der Proteinexpression von BDNF konnte das Auftreten von Dopamin-Defiziten verhindert werden (Meisner *et al.*, 2008). Das Met-Allel des BDNF-Polymorphismus wurde mit einem schlechteren Gedächtnis und einer abnormalen Funktion des Hippocampus assoziiert (Egan *et al.*, 2003). Zudem fanden Chen und Mitarbeiter in Mäusen, die homozygot für das Met-Allel sind, eine gestörte Freisetzung von BDNF aus Neuronen (Chen *et al.*, 2006).

1.5 Zielsetzung der Dissertation

In dieser Arbeit wurde der Zusammenhang zwischen Dopamin und der HIV-Infektion ebenso wie die Bedeutung von Dopamin in Bezug auf die Immunaktivierung während der HIV-Infektion untersucht. Das Hauptziel dieser Arbeit war die Identifizierung des pathogenetischen Mechanismus, der zu einer erhöhten Dopamin-Konzentration im Liquor von HIV-Patienten führt. So könnte die erhöhte Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor von HIV-Patienten nicht direkt durch das Virus, sondern durch Wirtsfaktoren bedingt sein. Die primäre Hypothese war es, herauszufinden, ob dieses Phänomen durch Unterschiede in genetischen Polymorphismen hervorgerufen wird, die die dopaminerge Neurotransmission beeinflussen. Zudem wurde angenommen, dass verschiedene Genotypen dieser Polymorphismen in HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen mit unterschiedlichen Häufigkeiten auftreten. Genotypen, die eine erhöhte Dopamin-Verfügbarkeit nach sich ziehen, könnten außerdem einen ungünstigen Einfluss auf die HIV-Infektion haben im Gegensatz zu Genotypen, die zu einer geringeren Dopamin-Verfügbarkeit führen. Um zu erforschen, ob Faktoren wie der Subtyp von HIV, die Art der Transmission, das Geschlecht und Umweltfaktoren eine Rolle spielen, wurde sowohl Patientenmaterial von einer deutschen, als auch von einer südafrikanischen Kohorte analysiert.

Zusätzlich wurde der Einfluss von verschiedenen Genotypen dieser Polymorphismen auf die Immunaktivierung analysiert, da der Aktivierungsstatus des Immunsystems ebenso eine wichtige Rolle in der Progression der HIV-Infektion spielt. Eine mögliche Ursache für die Ausprägung der Immunaktivierung ist der genetische Hintergrund der HIV-Patienten. Deshalb wurden genetische Polymorphismen, die die Immunaktivierung beeinflussen, in deutschen und südafrikanischen HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen analysiert und mit der Immunaktivierung korreliert.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 MATERIAL

Chemikalien und Lösungen

Bezeichnung	Firma, Firmensitz	Katalognummer
Agarose NEEO Ultra Qualität	Roth, Karlsruhe	2267.3
Ammoniumsulfat	Roth, Karlsruhe	5606.1
Beta-Mercaptoethanol	AppliChem, Darmstadt	A1108.2500
Bromphenolblau	AppliChem, Darmstadt	A3640.0010
Bovines Serumalbumin (BSA)	Roth, Karlsruhe	3737.2
Calciumchlorid	Merck, Darmstadt	1.02384.0100
Diethyldicarbonat (DEPC)	Roth, Karlsruhe	T143.1
Dimethylsulfoxid (DMSO)	AppliChem, Darmstadt	A3672.0100
Dinatriumhydrogenphosphat	Roth, Karlsruhe	4948.1
dNTPs (100 mM each)	Promega, Mannheim	U1240
Essigsäure	AppliChem, Darmstadt	A0820.2500
Ethanol, p.a. (99,5 %)	Roth, Karlsruhe	5054.5
Ethidiumbromid 1 %-Lösung	AppliChem, Darmstadt	A1152.0100
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	Roth, Karlsruhe	CN06.3
Fluorescein Calibration Dye (1 mM)	BioRad, München	170-8780
Fötales Rinderserum (FBS)	Life Technologies, Darmstadt	10270-106 (Gibco)
Gelred	VWR International, Darmstadt	41003 (Biotium)
Glycerin wasserfrei	AppliChem, Darmstadt	A3552.2500
Histopaque-1077 (Ficoll)	Sigma-Aldrich, Taufkirchen	10771
Kaliumchlorid	Roth, Karlsruhe	6781.1
Kaliumhydrogenphosphat	Roth, Karlsruhe	3904.1
L(+)-Glutamin	Roth, Karlsruhe	3772.1
BD FACS Lysepuffer	Becton-Dickinson, Heidelberg	349202
Magnesiumchlorid	Roth, Karlsruhe	2189.1
Natriumchlorid	Roth, Karlsruhe	3957.2
Natriumhypochlorit	Roth, Karlsruhe	9062.1
Penicillin (Infectocillin parenteral 10 Mega)	Infectopharm, Heppenheim	Apotheke des Klinikums der Universität Würzburg
2-Propanol	Roth, Karlsruhe	6752.4
Roti-Histofix 4 % (Paraformaldehyd)	Roth, Karlsruhe	P087.5
RPMI 1640	Life Technologies, Darmstadt	21875-091 (Gibco)
Salzsäure 37 %	AppliChem, Darmstadt	A0659.2500
Streptomycin Salz	Sigma-Aldrich, Taufkirchen	S6501

Trishydroxymethyl-aminomethan (TRIS)	Roth, Karlsruhe	5429.1
Trypanblau-Lösung	Sigma-Aldrich, Taufkirchen	93595 (Fluka Analytical)
Tween 20	AppliChem, Darmstadt	A1389.0500
Xylencyanol	Sigma-Aldrich, Taufkirchen	X4126

Enzyme und Reaktionspuffer

Bezeichnung	Firma, Firmensitz	Katalognummer
<i>Taq</i> DNA Polymerase (5 U/μl)	Thermo Scientific, Dreieich	EP0282 (Fermentas)
<i>Taq</i> 2x Mastermix	NEB, Frankfurt	M0270S
Magnesiumchlorid (25 mM)	NEB, Frankfurt	B9021S
NcoI (10 U/μl)	NEB, Frankfurt	0193S
NlaIII (10 U/μl)	NEB, Frankfurt	R0125S
TaqαI (20 U/μl)	NEB, Frankfurt	R0149S
Eco72I (10 U/μl)	Thermo Scientific, Dreieich	ER0361 (Fermentas)
MlsI (5 U/μl)	Thermo Scientific, Dreieich	ER1212 (Fermentas)
PvuII (10 U/μl)	NEB, Frankfurt	R0151S
MboII (5 U/μl)	Thermo Scientific, Dreieich	ER0821 (MBI Fermentas)
MaeIII (2 U/μl)	Roche Biocompare Basel, Schweiz	10822248001
Puffer rot (10x)	Thermo Scientific, Dreieich	z.B. in ER1212 enthalten
Puffer blau (10x)	Thermo Scientific, Dreieich	z.B. in ER0821 enthalten
Puffer grün (10x)	Thermo Scientific, Dreieich	z.B. in ER0631 enthalten
Puffer Tango (10x)	Thermo Scientific, Dreieich	z.B. in ER0361 enthalten
Puffer 4	NEB, Frankfurt	z.B. in R0149S enthalten
BSA (10 mg/ml)	NEB, Frankfurt	B9001S

Kits

Bezeichnung	Firma, Firmensitz	Katalognummer
BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing PR-100	Life Technologies, Darmstadt	4337450 (Applied Biosystems)
DyNaMo Color Flash SYBR Green Kit	Biozym, Hessisch Oldendorf	F-416L (Finnzymes)
GenElute Gel Extraction Kit	Sigma-Aldrich, Taufkirchen	NA1111
GenElute PCR Purification Kit	Sigma-Aldrich, Taufkirchen	NA 1020
iScript cDNA Synthesis Kit	BioRad, München	170-8891

Montage Seq96	Merck Millipore, Darmstadt	LSKS09624
QIAamp DNA Mini Kit	Qiagen, Hilden	51304
QIAamp MinElute Virus Spin Kit	Qiagen, Hilden	57704
QIAGEN OneStep RT-PCR Kit	Qiagen, Hilden	210212
RNeasy Plus Mini Kit	Qiagen, Hilden	74134

Größenstandards

Bezeichnung	Detektionsbereich	Firma, Firmensitz	Katalognummer
O'Range Ruler 50 bp DNA ladder	50 bp – 1000 bp	Thermo Scientific, Dreieich	SM0613 (Fermentas)
GeneRuler DNA ladder Mix	100 bp – 10 kb	Thermo Scientific, Dreieich	SM0331 (Fermentas)

Primer

Name	Bezugsquelle	Katalognummer
Hs_ActB_2_SG QuantiTect Primer Assay	Qiagen, Hilden	QT01680476
Hs_DRD ₃ _1_SG QuantiTect Primer Assay	Qiagen, Hilden	QT00020307
Hs_DRD ₅ _1_SG QuantiTect Primer Assay	Qiagen, Hilden	QT00217651

Alle anderen Primer wurden von Sigma-Aldrich, Taufkirchen, bestellt (Sequenzen siehe Material und Methoden).

Antikörper

Bezeichnung	Firma, Firmensitz	Katalognummer
PerCP CD3	Becton-Dickinson, Heidelberg	345766
FITC CD8	Becton-Dickinson, Heidelberg	345772
PE Mouse Anti-Human CD38	Becton-Dickinson, Heidelberg	555460
APC HLA-DR	Becton-Dickinson, Heidelberg	347403
PE Mouse IgG1 κ Isotype Control	Becton-Dickinson, Heidelberg	555749
APC Mouse IgG2a, κ Isotype Control	Becton-Dickinson, Heidelberg	555576

APC: Allophycocyanin, FITC: Fluoresceinisothiocyanat, PE: Phycoerythrin, PerCP: Peridinin Chlorophyll A Komplex.

ELISA-Kits

Bezeichnung	Firma, Firmensitz	Katalognummer
Human CCL2/MCP-1 Quantikine ELISA Kit	R&D Systems, Wiesbaden	DCP00

Human CCL5/RANTES Quantikine ELISA Kit	R&D Systems, Wiesbaden	DRN00B
Human sCD14 Quantikine ELISA Kit	R&D Systems, Wiesbaden	DC140
suPARnostic	Virogates, Birkenrød, Dänemark	Nicht vorhanden

Verbrauchsmaterial

Glas

Material	Volumen	Hersteller
Erlenmeyerkolben	50 ml, 250 ml	Schott
Glaspipetten	5 ml, 10 ml, 25 ml	Brand
Messzylinder	50 ml, 100 ml, 250 ml, 1 l	Schott
Neubauer Zählkammer		Marienfeld, Lauda-Königshofen
Schraubverschlussflaschen	100 ml, 250 ml, 500 ml, 1 l	Schott

Plastik

Material	Volumen/Bezeichnung	Hersteller
FACS-Röhrchen	BD Falcon	Becton-Dickinson, Heidelberg, 352052
Filterspitzen SafeSeal-Tips professional	0,1 – 10 µl 2 – 20 µl, 1 – 200 µl, 100 – 1000 µl	Hartenstein (FB10) Biozym, Hessisch Oldendorf
Messzylinder	50 ml, 100 ml, 250 ml, 1 l	Vitlab
Parafilm		Roth, Karlsruhe
Plastikpipetten	5 ml, 10 ml (Bio-one)	Greiner
Pipettenspitzen	0,5 – 1000 µl	Roth, Karlsruhe und Hartenstein, Würzburg
qRT-PCR-Platten	Semi-skirted 96 well PCR plate	Peqlab, 82-0900-A
Reaktionsgefäße	0,2 ml	Hartenstein (R02)
Reaktionsgefäße	1,5 ml, 2 ml	Sarstedt, Nümbrecht
Reaktionsgefäße RNase-frei	1,5 ml, 2 ml, SafeSeal	Sarstedt, 72.706.400, Nümbrecht
Skalpell	Ratiomed	Hartenstein, Würzburg

Sonstiges

Material	Volumen/Bezeichnung/Details	Hersteller
Einmalhandschuhe	Nitril, Sensicare Ice	Medline Industries
Desinfektionsmittel	Terralin Liquid	Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt
Magnetrührerstäbchen	6 – 50 mm	Hartenstein, Würzburg

Optische Folie	iCycler iQ optical tape	BioRad, München, 2239444
QIAshredder-Säulen		Qiagen, Hilden 79656
Sterilfilter	0,45 µm (Minisart)	Sartorius, Hartenstein

Geräte

Gerät	Typbezeichnung	Hersteller
Agarosegel-Gießkammer		Institutswerkstatt
Agarosegel-Laufkammer		Institutswerkstatt
Brutschrank CO ₂ begast		Heraeus
Durchflusszytometer	FACSCalibur	Becton Dickinson
Eismaschine	AF-10	Scotsman
Elektrophorese Power Supply	E455 3000xi	Consort BioRad
Feinwaage	MC1 Analytic AC 210 S	Sartorius
Gefrier- und Kühlschränke		Bosch
Geldokumentation	Gel Imager Intas UV Systeme	Intas
ELISA-Plattenlesegerät	Vmax kinetic microplate reader	Molecular Devices
Kolbenhubpipetten		Gilson, Eppendorf
Kryoeinfriergerät	Mr. Frosty	Nalgene
Laborwaage	SBA 51	Scaltec
Lichtmikroskop	Labovert FS	Leitz
Magnetrührer	Ikamag RC	Janke und Kunkel
Mikrowelle	Powerwave ER-200	Brother
pH-Meter		Schott
Pipettierhilfe	Pipetboy comfort	Integra Biosciences
Sequencer	3130xl genetic analyzer	Applied Biosystems
Spektrometer	Nanodrop 2000	Peqlab
Sterilwerkbank	BSB 4A	Gelaire Flow Laboratories
Thermoblock	TDB 120	Hartenstein
Thermocycler (PCR)	MyCycler	BioRad, München
Thermocycler (qPCR)	iCycler iQ	BioRad, München
UV-Handlampe	Fluotest	Original Hanau
Vakuumpumpe	Membranpumpe ME 8	Vacuubrand
Vortexer		Heidolph
Waage	SBA 51	ScaleTec
Wasserbad		Institutseigene Werkstatt
Zentrifugen	Multifuge 1 S-R	Heraeus
	Rotina 48 R	Hettich
	Tischzentrifuge 5415 C	Eppendorf
	Kühlzentrifugen Mikro 200R	Hettich
	Mikro 22 R	Hettich

Software

Software	Hersteller
ApE – A Plasmid Editor	Wayne Davis
Cellquest Pro v4.0.2	BD Biosciences
EndNote X5 und X6	ResearchSoft
iCycler iQ optical system software v3.1	BioRad, München
Intas GDS Windows v3.28	Intas GmbH
Lasergene SeqMan NGen 3.0	DNASTAR, Inc.
MS Office 2010 Windows	Microsoft
Graph Pad Prism v4.0c für Mac OS X bzw. v6.0	Graph Pad Software, Inc.
Sequencing analysis v5.4	Applied Biosystems
SoftMax Pro 3.0	Molecular Devices

Online Software

Online Software	Anwendung	Hersteller
http://www.bioafrica.net/regagenotype/html/subtypinghiv.html	Bestimmung des HIV-Subtyps	UKZN, Südafrika; University of Oxford, Großbritannien; University of Pretoria, Südafrika; Katholieke Universiteit Leuven, Belgien
http://sierra2.stanford.edu/sierra/servlet/JSierra	Bestimmung der Resistenz von HIV	Stanford University, CA, USA
http://cels.uri.edu/gsc/resources/cndna.html	Bestimmung der Molekülzahl bei <i>real time</i> PCR	URI Genomics & Sequencing Center, University of Rhode Island, RI, USA

2.2 METHODEN

2.2.1 Demographische Daten

In dieser Arbeit wurde Patientenmaterial von 190 HIV-infizierten und nicht-infizierten Personen analysiert. 83 HIV-infizierte deutschen Männern und 22 nicht-infizierte Männer vergleichbaren Alters bzw. 66 HIV-infizierte Südafrikaner und 19 nicht-infizierte Personen wurden in die diese Arbeit eingeschlossen. Alle Deutschen waren weiß. Die Südafrikaner bestanden zu 82 % aus Xhosa (schwarz), 17 % waren farbig und stammten von Vorfahren verschiedener Rassen ab und 1 % war weiß. Die südafrikanische Kontrollgruppe bestand zu 63 % aus Frauen, während 64 % der HIV-Patienten weiblich waren. Deutsche hatten mindestens einen höheren Schulabschluss, südafrikanische Personen gingen mindestens acht Jahre zur Schule. Das Virus wurde durch Geschlechtsverkehr übertragen, in der deutschen Kohorte höchstwahrscheinlich über homosexuellen, in der südafrikanischen über heterosexuellen Kontakt. 67 % der deutschen HIV-Patienten und 73 % der südafrikanischen Patienten standen unter antiretroviraler Therapie. Menschen mit einer neurologischen oder psychiatrischen Erkrankung, opportunistischen Infektionen des ZNS oder diejenigen, die in der Vergangenheit zum Drogenmissbrauch neigten, wurden nicht in die Studie eingeschlossen. Die Studie wurde nach den Richtlinien der Deklaration von Helsinki durchgeführt und von den Ethikkommissionen der Universitäten Düsseldorf, Essen, Münster, Stellenbosch und Kapstadt bewilligt.

Alle Personen wurden einer neurologischen Untersuchung und neuropsychologischen Tests unterzogen. Diese Untersuchungen wurden für die deutschen Patienten in den neurologischen Kliniken der Universitäts-Kliniken Düsseldorf, Münster und Essen durchgeführt, für die südafrikanischen Patienten im Department of Psychiatry, University of Cape Town und im Department of Psychiatry, Stellenbosch University. Eine potentielle neuropsychiatrische Beeinträchtigung wurde in deutschen Personen mit der HIV-Demenz Skala (HDS) (Power et al., 1995) festgestellt. Südafrikanische HAND-Kandidaten wurden mit der internationalen HIV-Demenz Skala (IHDS) (Sacktor et al., 2005) bzw. dem *global deficit score* (GDS) (Carey et al., 2004) identifiziert (Tab. 2.1).

Tab. 2.1: Neuropsychologische Tests und Testkategorien.

Kategorie	Neuropsychologischer Test
Aufmerksamkeit	Mental Alternation Test (MAT), Mental Control Test (MCT), WAIS III Digit Symbol Subtest
Verbales und Visuelles Lernen und Gedächtnis	Verbal: Hopkins Verbal Learning Test Revised (Shapiro <i>et al.</i> , 1999) HVLT Visuell: Brief Visuospatial Memory Test Revised
Psychomotorische Geschwindigkeit	Grooved Pegboard test (Klove, 1963)
Exekutive Funktionen	Stroop-Color-Word-Test (Golden, 1976) Wisconsin Card Sorting Test Trail-Making-Test-Form B
Informationsverarbeitungs- geschwindigkeit	WAIS III Digit Symbol Subtest Trail Making Test – Part A

Modifiziert nach (Arendt & Nolting, 2012).

Virologische und immunologische Routineanalyse

Virale Ribonukleinsäure (RNA) von südafrikanischen HIV-Patienten wurden im Tygerberg Hospital mit dem m2000sp Abbott Sample Preparation System (Abbott Laboratories, IL, USA) extrahiert und mit dem Abbott m2000 Real-Time HIV-1 Amplification Reagent Kit detektiert. In deutschen Patienten wurde die HIV RNA mit dem Abbott RT/m2000 Assay (Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Germany) analysiert. Die CD4⁺-Zellzahl wurde mit einem FACSCalibur Durchflusszytometer (Becton Dickinson) bestimmt.

2.2.2 Molekularbiologische Methoden

2.2.2.1 Isolierung von Nukleinsäuren

Die Isolierung von Nukleinsäuren erfolgte nach dem Prinzip der Anionenaustauscher-Chromatographie. Nach erfolgter Isolierung der Nukleinsäuren wurde die DNA- bzw. RNA-Konzentration mit dem Nanodrop nach Angaben des Herstellers spektrometrisch bestimmt.

Isolierung von DNA aus PBMCs

Zur Analyse von genetischen Polymorphismen wurde DNA aus Blut isoliert. Die Reinigung von Desoxyribonukleinsäure (DNA) aus PBMCs von südafrikanischen Patienten wurde mit dem QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden) durchgeführt. Es wurden ca. $0,5 - 2 \times 10^6$ PBMCs eingesetzt und nach Herstellerangaben gearbeitet, die Elution der DNA erfolgte in 75 μ l Puffer AE. Die DNA deutscher Patienten wurde nach dem Protokoll „Isolierung von viraler RNA“ mit dem QIAamp Viral RNA Mini Kit extrahiert. Die Isolierung erfolgte aus 280 μ l Zellen, es wurden 1120 μ l Puffer AVL mit 11,2 μ g Carrier-RNA und 1120 μ l Ethanol verwendet, ansonsten wurde nach Angaben des Herstellers verfahren. Die DNA wurde in 40 μ l Puffer AVE eluiert.

Isolierung von RNA aus PBMCs und Plasma

Die Isolierung von RNA aus PBMCs für die Quantifizierung der Genexpression erfolgte mit dem RNeasy Plus Mini Kit (Qiagen). Es wurden ca. $0,5 - 2 \times 10^6$ PBMCs eingesetzt, die Suspension wurde mit QIAshredder-Säulen homogenisiert. Alle weiteren Schritte wurden wie vom Hersteller angegeben durchgeführt, die RNA wurde mit 50 μ l RNase-freiem Wasser eluiert. Für die Resistenzbestimmung von HIV wurde RNA aus EDTA-Plasma mit dem QIAamp MinElute Virus Spin Kit (Qiagen) isoliert. Um Kontamination der isolierten RNA mit HIV-Plasmiden vorzubeugen wurde die Sicherheitswerkbank tropfnass mit 5 % Natriumhypochlorit ausgesprüht, fünf min inkubiert und anschließend mit Terralin ausgesprüht abgewischt. Statt 200 μ l Plasma wurden 500 μ l Plasma und dementsprechend 500 μ l Puffer AL mit 70 μ g/ml Carrier-RNA und 625 μ l Ethanol verwendet. Die Trockenzentrifugation der Membran wurde, ebenso wie alle weiteren Schritte, nach Angaben des Herstellers, durchgeführt. Die RNA wurde mit 50 μ l Puffer AVE eluiert. RNA wurde im Rahmen von Experimenten auf Eis, ansonsten bei -80°C gelagert.

Reinigung von PCR-Produkten und Isolierung von DNA aus Agarose-Gelen

Die Reinigung von PCR-Produkten wurde mit dem GenElute PCR Purification Kit (Sigma-Aldrich) durchgeführt und wurde für die Reinigung von DNA aller Polymorphismen außer den CCR5-, DAT- und DRD₄-Polymorphismen verwendet. Es wurde nach Angaben des Herstellers gearbeitet, auf die Zugabe von Isopropanol wurde verzichtet. Die Isolierung von DNA aus Agarose-Gelen wurde mit dem GenElute Gel Extraction Kit (Sigma-Aldrich)

durchgeführt und bei der Standardherstellung für die *real time* PCR verwendet. Dabei wurde die DNA aus dem Gel mit einem Skalpell unter einer UV-Handlampe ausgeschnitten und im *gel solubilization buffer* bei 55°C gelöst. Der weitere Ablauf erfolgte nach Angaben des Herstellers.

2.2.2.2 PCR

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zur spezifischen Amplifikation von DNA wurde zum einen für die Analyse genetischer Polymorphismen von HIV-Patienten und zum anderen für die Resistenzbestimmung von HIV durchgeführt. Zur Optimierung der Methode wurde eine Gradienten-PCR mit Hybridisierungs-Temperaturen zwischen 52°C und 68°C durchgeführt. Zudem wurde die Elongationszeit an die Länge der erwarteten Produkte angepasst und bei schwachen Produkten die Zyklenzahl erhöht. Die PCR wurde grundsätzlich mit dem *2x Taq* Mastermix durchgeführt (NEB, Ausnahme: DRD₄, siehe unten). Es wurden 0,4 – 0,6 µM Primer verwendet. Als *template* diente für die Analyse der Polymorphismen DNA, die aus PBMCs isoliert wurde, bei der Resistenzbestimmung wurde das One-Step RT-PCR-Produkt eingesetzt. Es wurden zwischen 17 und 76 ng/µl verwendet. Im Folgenden sind für jeden Polymorphismus die Quelle, die genaue Zusammensetzung der PCR, das PCR-Programm und die Primersequenzen angegeben, ebenso wie die Referenzsequenz (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>). Wenn nicht anders vermerkt, wurden die Primer aus der angegebenen Quelle verwendet. Zusätzlich ist das PCR-Protokoll für die Resistenzbestimmung dargestellt. Die PCR-Produkte wurden anschließend entweder direkt im Agarose-Gel analysiert (DAT1 3'-UTR VNTR, DRD4 VNTR, CCR5Δ32-Polymorphismus) oder gereinigt, anhand eines Restriktionsverdau geschnitten und in einem Agarose-Gel aufgetrennt (alle anderen Polymorphismen).

2.2.2.1.1 PCRs für die Analyse von Polymorphismen von Genen der dopaminergen Transmission

BDNF Val66Met Polymorphismus:

Das *bdnf*-Gen liegt auf Chromosom 11 (11p13), für das Design der Primer wurde die Referenzsequenz rs6265 verwendet (Proschel *et al.*, 1992). Die PCR wurde folgendermaßen durchgeführt:

Zusammensetzung PCR:

1x	NEB <i>Taq</i> -Mastermix
0,5 µM	BDNF Schott fwd
0,5 µM	BDNF Schott rev
1 µl	DNA <i>template</i>
Ad 50 µl	ddH ₂ O

PCR-Programm:

95°C	5 min	1x
95°C	15 sek	
63,8°C	30 sek	30x
68°C	30 sek	
68°C	10 min	1x

BDNF Schott fwd: 5'-GCATCCCGGTGAAAGAAAGCCCTAAC-3'

BDNF Schott rev: 5'-GCCCTCAGCCTTCTTTTGTGTAAC-3'

COMT Val108/158Met-Polymorphismus:

Für das Design der Primer wurde die Referenzsequenz rs4680 verwendet (Lachman *et al.*, 1996). Das *comt*-Gen liegt auf Chromosom 22 (22q11.2).

Zusammensetzung PCR:

1x	NEB <i>Taq</i> -Mastermix
0,6 µM	COMT 1802 fwd
0,6 µM	COMT 2142 rev
1 µl	DNA <i>template</i>
Ad 50 µl	ddH ₂ O

PCR-Programm:

95°C	5 min	1x
95°C	15 sek	
65,2°C	30 sek	45x
68°C	30 sek	
68°C	10 min	1x

COMT 1802 fwd: 5'-GGGGGCCTACTGTGGCTAC-3'

COMT 2142 rev: 5'-GCCATCTTTACACCCATACAAGC-3'

DAT1 3'-UTR VNTR:

Das *dat1*-Gen liegt auf Chromosom 5 (5p15.3), der Polymorphismus liegt im 3'-UTR des Gens (rs28363170, (Vandenbergh *et al.*, 1992)). VNTRs werden durch Amplifikation und die anschließende Analyse auf einem Agarose-Gel analysiert. Die Primer wurden selbst designt bzw. nach Vandenbergh modifiziert.

Zusammensetzung PCR:

1x	NEB <i>Taq</i> -Mastermix
0,5 µM	DAT Vandenbergh fwd
0,5 µM	DAT Vandenbergh rev
1 µl	DNA <i>template</i>
Ad 30 µl	ddH ₂ O

PCR-Programm:

95°C	5 min	1x
95°C	30 sek	
59,2°C	30 sek	40x
68°C	30 sek	
68°C	10 min	1x

Primer DAT Vandenbergh fwd: 5'-TGTAGGGAACGGCCTGAGAG-3'

Primer DAT Vandenbergh rev: 5'-CTTCCTGGAGGTCACGGCTCAAAGG -3'

Die DNA-Fragmente des DAT VNTR bestehen aus einer 40 bp-Sequenz, die zwischen drei und 16-mal wiederholt wird. Das PCR-Produkt wurde ca. sechs bis acht Stunden bei 90 Volt in einem 2 % Agarose-Gel (siehe 2.2.2.7) aufgetrennt. Die Fragmentlängen der häufigsten Varianten sind hier dargestellt:

520 bp	11-repeat Allel	320 bp	6-repeat Allel
480 bp	10-repeat Allel	280 bp	5-repeat Allel
440 bp	9-repeat Allel	240 bp	4-repeat Allel
400 bp	8-repeat Allel	200 bp	3-repeat Allel
360 bp	7-repeat Allel		

DRD₂ TaqI α -Polymorphismus:

Das *drd₂*-Gen liegt auf Chromosom 11 (11q23), für das Primerdesgin wurde die Referenzsequenz rs1800497 verwendet (Grandy *et al.*, 1989).

<i>Zusammensetzung PCR:</i>		<i>PCR-Programm:</i>		
1x	NEB <i>Taq</i> -Mastermix	95°C	5 min	1x
0,6 μ M	DRD ₂ Schott fwd	95°C	30 sek	
0,6 μ M	DRD ₂ Schott rev	54°C	30 sek	30x
1 μ l	DNA <i>template</i>	68°C	30 sek	
Ad 50 μ l	ddH ₂ O	68°C	10 min	1x

Primer DRD₂ Schott fwd: 5'-CCGTCGACGGCTGGCCAAGTTGTCTA -3'

Primer DRD₂ Schott rev: 5'-CCGTCGACCCTTCCTGAGTGTCATCA -3'

DRD₃ Ser9Gly-Polymorphismus:

Das *drd₃*-Gen liegt auf Chromosom 3 (3q13.3), für das Primerdesgin wurde die Referenzsequenz rs6280 verwendet (Crocq *et al.*, 1992).

Zusammensetzung PCR:

1x	NEB <i>Taq</i> -Mastermix
0,5 µM	DRD ₃ Retz fwd
0,5 µM	DRD ₃ Retz rev
1 µl	DNA <i>template</i>
Ad 50 µl	ddH ₂ O

PCR-Programm:

95°C	5 min	1x
95°C	15 sek	
63,8°C	30 sek	30x
68°C	30 sek	
68°C	10 min	1x

DRD₃ Retz fwd: 5'-GCTCTATCTCCA ACTCTCACA-3'

DRD₃ Retz rev: 5'-AAGTCTACTCACCTCCAGGTA-3'

DRD₄ VNTR:

Das *drd₄*-Gen liegt auf Chromosom 11 (11p15.5), die Referenzsequenz ist NG_021241. Der Polymorphismus wurde erstmals von Ebstein und Mitarbeitern beschrieben (Ebstein *et al.*, 1996). Da der Polymorphismus mit dem *Taq*-Mastermix (NEB) nicht bestimmt werden konnte, wurde dieser optimiert und mit einem anderen Protokoll durchgeführt:

Zusammensetzung PCR:

1x	Goldstar-Puffer
0,4 µM	DRD ₄ Ebstein fwd
0,4 µM	DRD ₄ Ebstein rev
0,8 mM	MgCl ₂
0,1 mM each	dNTPs
12,5 %	DMSO
5 U	<i>Taq</i> -Polymerase
1 µl	DNA <i>template</i>
Ad 25 µl	ddH ₂ O

PCR-Programm:

72°C	3 min	1x
95°C	45 sek	
57,2°C	45 sek	30x
68°C	45 sek	
72°C	3 min	1x

Primer DRD₄ Ebstein fwd: 5'-GCGACTACGTGGTCTACTCG-3'

Primer DRD₄ Ebstein rev: 5'-AGGACCCTCATGGCCTTG-3'

10x Goldstar-Puffer
 200 mM (NH₄)₂SO₄
 750 mM Tris-HCl (pH 9)
 0,1 % Tween20
 (Lagerung bei -20°C)

Der DRD₄-Polymorphismus beinhaltet ein 48 bp-Fragment, das zwischen 2 und 11-mal wiederholt wird. Das PCR-Produkt wurde ca. sechs bis acht Stunden in einem 3,5 % Agarose-Gel (siehe 2.2.2.7) aufgetrennt. Die erwarteten Genvarianten sind im Folgenden aufgeführt:

810 bp	11-repeat Allel	570 bp	6-repeat Allel
762 bp	10-repeat Allel	522 bp	5-repeat Allel
714 bp	9-repeat Allel	474 bp	4-repeat Allel
666 bp	8-repeat Allel	426 bp	3-repeat Allel
618 bp	7-repeat Allel	378 bp	2-repeat Allel

2.2.2.1.2 PCRs für die Analyse der Polymorphismen bei Chemokinen und Chemokin-Rezeptoren

CCR5Δ32-Polymorphismus:

Das *ccr5*-Gen liegt auf Chromosom 21 (21p3), die Referenzsequenz ist rs333. Es wurden die Primer von Barroga und Mitarbeitern verwendet (Barroga *et al.*, 2000).

<i>Zusammensetzung PCR:</i>		<i>PCR-Programm:</i>		
1x	NEB <i>Taq</i> -Mastermix	95°C	5 min	1x
0,4 μM	CCR5 Barroga fwd	95°C	1 min	
0,4 μM	CCR5 Barroga rev	54°C	1 min	30x
1 μl	DNA <i>template</i>	72°C	2 min	
Ad 25 μl	ddH ₂ O	68°C	10 min	1x

CCR5 Barroga fwd: 5'-TTCATTACACCTGCAGCTCTCATTTTC-3'

CCR5 Barroga rev: 5'-TCACAGCCCTGTGCCTCTTCTTCTCAT-3'

Das PCR-Produkt wurde ca. drei Stunden in einem 3 % Agarose-Gel (siehe 2.2.2.7) aufgetrennt. Das Wildtyp (WT)-Allel hat eine Länge von 182 bp. Ist die Deletion vorhanden, ist das zu erwartende Fragment 150 bp lang.

MCP-1-2518-Polymorphismus:

Das *mcp-1*-Gen liegt auf Chromosom 17 (17q11.2), die Referenzsequenz ist rs1024611. Es wurden die Primer von Rovin und Mitarbeitern verwendet (Rovin *et al.*, 1999).

<i>Zusammensetzung PCR:</i>		<i>PCR-Programm:</i>		
1x	NEB <i>Taq</i> -Mastermix	95°C	5 min	1x
0,3 μM	MCP-1 Rovin fwd	95°C	1 min	
0,3 μM	MCP-1 Rovin rev	68°C	1 min 45 sek	35x
1 μl	DNA <i>template</i>	68°C	10 min	1x
Ad 50 μl	ddH ₂ O			

MCP-1 Rovin fwd: 5'-CCGAGATGTTCCCAGCACAG-3'

MCP-1 Rovin rev: 5'-CTGCTTTGCTTGTGCCTCTT-3'

RANTES Int1.1 T→C-Polymorphismus:

rantes liegt auf Chromosom 17 (17q11.2), die Referenzsequenz ist rs2280789. Es wurden die Primer von Laplana und Mitarbeitern verwendet (Laplana & Fibla, 2012).

<i>Zusammensetzung PCR:</i>		<i>PCR-Programm:</i>		
1x	NEB <i>Taq</i> -Mastermix	95°C	5 min	1x
0,4 µM	Laplana Int1.1 fwd	95°C	50 sek	
0,4 µM	Laplana Int1.1 rev	63°C	50 sek	40x
1 µl	DNA <i>template</i>	72°C	50 sek	
Ad 50 µl	ddH ₂ O	72°C	10 min	1x

RANTES Laplana Int1.1 fwd: 5'-CCTGGTCTTGACCACCACA-3'

RANTES Laplana Int1.1 rev: 5'-GCTGACAGGCATGAGTCAAGA-3'

RANTES -403 G→A-Polymorphismus:

rantes liegt auf Chromosom 17 (17q11.2), die Referenzsequenz ist rs2107538. Es wurden die Primer von Laplana und Mitarbeitern verwendet (Laplana & Fibla, 2012).

<i>Zusammensetzung PCR:</i>		<i>PCR-Programm:</i>		
1x	NEB <i>Taq</i> -Mastermix	95°C	5 min	1x
0,4 µM	Laplana -403 fwd	95°C	30 sek	
0,4 µM	Laplana -403 rev	50,2°C	30 sek	40x
1 µl	DNA <i>template</i>	72°C	45 sek	
Ad 50 µl	ddH ₂ O	72°C	10 min	1x

RANTES Laplana -403 fwd: 5'-GCCTCAATTTTACAGTGTG-3'

RANTES Laplana -403 rev: 5'-TGCTTATTCTTACAGATGTT-3'

2.2.2.1.3 PCR zur Resistenzbestimmung von HIV

Da die Menge des Produkts der One-Step RT-PCR nicht ausreichend war, um es zu sequenzieren und um die Sensitivität zu erhöhen, wurde die DNA mit einer *nested*-PCR

amplifiziert. Das PCR-Produkt hat eine Länge von 1186 bp (in der Sequenz des Subtyp C-Klons MJ4).

Zusammensetzung PCR:

1x	NEB <i>Taq</i> -Mastermix
0,25 µM	HIV-PR nest 50prot2
0,25 µM	HIV-RT nest NE13
2 µl	RT-PCR <i>template</i>
Ad 50 µl	ddH ₂ O

PCR-Programm:

95°C	5 min	1x
95°C	20 sek	
60°C	20 sek	30x
68°C	1min	
68°C	10 min	1x

HIV-PR nest 50prot2: 5'-TCAGAGCAGACCAGAGCCAACAGCCCCA-3'

HIV-RT nest NE13: 5'- CCTACTAACTTCTGTATGTCATTGACAGTCCAGCT-3'

2.2.2.3 Reverse Transkription

Die reverse Transkription wurde sowohl für die Genexpressionsstudien als auch für die Resistenzbestimmung von HIV verwendet.

Zur Analyse der Genexpression von DAT, DRD₃ und DRD₅ wurden ca. 500 ng RNA mit dem iScript cDNA Synthesis Kit (BioRad) in komplementäre DNA (cDNA) revers transkribiert. Im Reaktionspuffer waren *random hexamer* Primer und Oligo(dT)-Primer enthalten. Es wurde auf Eis gearbeitet. Das RT-PCR-Produkt wurde anschließend mit einer *real-time* PCR analysiert (siehe 2.2.2.3).

Zusammensetzung RT-PCR:

1x	iScript reaction mix
1 µl	iScript reverse transcriptase
x µl	RNA
Ad 20 µl	Nuclease-free water

RT-PCR-Programm:

25°C	5 min	1x
42°C	30 min	1x
85°C	5 min	1x

Für die Resistenzbestimmung wurden zwischen 144 ng und 520 ng RNA mit dem One-Step RT-PCR Kit (Qiagen) in einer Reaktion nach unten stehendem Protokoll in cDNA und DNA umgeschrieben. Um Resistenzen von HIV auf die am häufigsten verwendeten antiviralen Medikamente abzudecken, wurde die Protease und ein Teil der Reversen Transkriptase amplifiziert. Die Länge des RT-PCR-Produkts liegt bei 1330 bp (in der Sequenz des Subtyp C-Klons MJ4). Es wurde auf Eis gearbeitet. Die Primer wurden in Nuklease-freiem Wasser

aufgenommen und verdünnt. Die Primer wurden von (van Zyl *et al.*, 2008) bzw. von (Plantier *et al.*, 2005) adaptiert.

<i>Zusammensetzung RT-PCR:</i>		<i>RT-PCR-Programm:</i>		
1x	One Step RT-PCR-Puffer	30 min	50°C	1x
0,4 mM each	dNTPs	15 min	95°C	1x
0,6 µM	HIV-PR outer 50prot1	30 sek	94°C	
0,6 µM	HIV-RT outer MJ4	30 sek	55°C	30x
1 µl*	One Step RT PCR Enzyme Mix	1 min	72°C	
1,5 µl	RNA	10 min	72°C	1x
Ad 25 µl	RNAse-free water			

* keine Angabe der Units

HIV-PR outer 50prot1: 5'-TAATTTTTTAGGGAAGATCTGGCCTTCC-3'

HIVRT outer MJ4: 5'-CTGTTAGTGCTTTGGTTCCTCT-3'

2.2.2.4 Real time PCR

Zur semiquantitativen Analyse der Genexpression wurde ein DNA-Fragment bekannter Konzentration als Standard in die quantitative *real time* PCR (qPCR) eingesetzt. Dazu wurde eine PCR mit den Primern durchgeführt, die später auch in der qPCR verwendet wurden. Die DNA wurde anschließend aus dem PCR-Produkt oder dem Gel gereinigt und die Konzentration mit dem Nanodrop spektrometrisch bestimmt. Nun konnte die DNA-Menge bei bekannter Länge des Fragments in Kopien umgerechnet werden. Die Molekülzahl wurde mit einer online Software berechnet (<http://cels.uri.edu/gsc/resources/cndna.html>) oder wie folgt durchgeführt:

Es gilt: 1 bp dsDNA = 650 g/mol

1 mol = $6,022 \times 10^{23}$ Teilchen (Avogadro-Konstante)

Das Molekulargewicht eines Basenpaars ist in g/mol angegeben. Um g in ng umzurechnen, wird der Umrechnungsfaktor 10^9 benötigt.

Beispiel:

DNA-Menge in isoliertem PCR-Produkt: 11 ng, Länge des Fragments: 77 bp

$$\text{Molekülzahl} = \frac{11 \text{ [ng]} \times 6 \times 10^{23} \text{ [Moleküle/mol]}}{77 \text{ [bp]} \times 650 \text{ [g/mol} \times \text{bp]} \times 10^9 \text{ [ng/g]}} = 1,32 \times 10^{11} \text{ [Moleküle]}$$

Für den Standard wurde eine Verdünnungsreihe ausgehend von 10^8 bis 10^0 Kopien hergestellt und in Triplikaten mit den zu analysierenden Proben auf die Platte aufgetragen. Die qPCR wurde mit dem DyNAmoColorFlash SYBR Green qPCR Kit (Finnzymes) im iCycler iQ (BioRad) durchgeführt. Die Zusammensetzung der qPCRs ist im Folgenden dargestellt.

Genexpression des Dopamin-Transporters (DAT)

Für das Primerdesign wurden die Primer von Mill modifiziert (Mill *et al.*, 2002) bzw. erfolgte mit der Referenzsequenz NM_001044.4.

<i>Zusammensetzung qPCR:</i>		<i>qPCR-Programm:</i>		
1x	DyNAmo Color Flash MM	7 min	95°C	1x
0,01 µM	Fluorescein	10 sek	95°C	
0,5 µM	DAT Mill fwd	5 sek	67°C	45x
0,5 µM	DAT Mill rev	1 min	95°C	1x
1 µl	DNA	1 min	52°C	1x
ad 20µl	DEPC-H ₂ O	Schmelzkurve		

Mill DAT fwd: 5'-TCCTGGAACAGCCCCAACT-3'

Mill DAT rev: 5'-TGTGGTCCCAAAGTGTCGTT-3'

Der Ausschluss unspezifischer PCR-Produkte erfolgte anhand einer Schmelzkurve. Dabei wurde das *real time* PCR-Produkt 10 sek bei 52°C inkubiert und die Temperatur pro Zyklus um 0,5°C erhöht (86 Zyklen). Die Genexpression wurde als relative Expression im Vergleich zur Genexpression des Haushaltgens β-Aktin errechnet (Kopien GOI (*gene of interest*)/Kopien β-Aktin) (Software: iCycler iQ optical system software v3.1).

Genexpression des Dopamin-Rezeptors₃*Zusammensetzung qPCR:*

1x	DyNAmo Color Flash MM
0,01 µM	Fluorescein
1x	DRD ₃ QuantiTect Primer Assay
1 µl	DNA
ad 20µl	DEPC-H ₂ O

qPCR-Programm:

7 min	95°C	1x
10 sek	95°C	
7 sek	70°C	45x
7 sek	60°C	
1 min	95°C	1x
1 min	52°C	1x
Schmelzkurve		

Genexpression des Dopamin-Rezeptors₅*Zusammensetzung qPCR:*

1x	DyNAmo Color Flash MM
0,01 µM	Fluorescein
1x	DRD ₅ QuantiTect Primer Assay
1 µl	DNA
ad 20µl	DEPC-H ₂ O

qPCR-Programm:

7 min	95°C	1x
10 sek	95°C	
20 sek	60°C	45x
1 min	95°C	1x
1 min	52°C	1x
Schmelzkurve		

Genexpression von β-Aktin*Zusammensetzung qPCR:*

1x	DyNAmo Color Flash MM
0,01 µM	Fluorescein
1x	ActB QuantiTect Primer Assay
1 µl	DNA
ad 20µl	DEPC-H ₂ O

qPCR-Programm:

7 min	95°C	1x
10 sek	95°C	
20 sek	60°C	45x
1 min	95°C	1x
1 min	52°C	1x
Schmelzkurve		

2.2.2.5 Sequenzierung und Resistenzbestimmung

Für die Bestimmung der Resistenzen von HIV wurde DNA, die aus dem PCR-Produkt isoliert wurde, sequenziert. Die Sequenzierung erfolgte nach der Kettenabbruchmethode nach Sanger (Sanger *et al.*, 1977). Um die vollständige Sequenz der Protease und einen Teil der Reversen Transkriptase (p51) abzudecken (1,6 kb), wurden sechs Sequenzierungs-Reaktionen pro Patient angesetzt. Die Primer sind optimal für die Amplifikation der HIV Subtypen A, B, C und D und wurden teilweise von (van Zyl *et al.*, 2008) bzw. von (Plantier *et al.*, 2005) adaptiert. Die Sequenzierungs-Primer wurde der Publikation von (Lindstrom & Albert, 2003) entnommen. Y und R bezeichnen *wobble*-Positionen (Y: Pyrimidin, C und T; R: Purin, A und G).

Zusammensetzung Sequenzierung:

1 µl	BigDye Cycle Sequencing Kit v1.1
2 µM	Primer
10 ng	DNA
ad 5 µl	ddH ₂ O

Sequenzierungs-Programm:

5 min	95°C	1x
5 sek	96°C	
10 sek	55°C	25x
4 min	60°C	

Sequenzierungs-Primer:

pol1D	5'-TCCCTCAAATCACTCTTTGGC-3'
Pol3	5'-GGGGGATGCATATTTTCAG-3'
JA217	5'-CTTTTATTTTTTCTTCTGTCAATGG-3'
HIV-AK10	5'-TYCCCACTAAYTTCTGTATRTC-3'
HIV-AK11	5'-GTACCAGTAAAATTAARCCAG-3'
HIV-PR outer 30prot1	5'-GCAAATACTGGAGTATTGTATGGATTTTCAGG-3'

Das Produkt wurde in der Institutseigenen Virusdiagnostik mit dem Kit Montage Seq96 gereinigt und im 3130xl *genetic sequencer* (Applied Biosystems) mit der Software *sequencing analysis* v5.4 analysiert.

Resistenz- und Subtypbestimmung

Für die Bestimmung der Resistenz und des Subtyps wurde zunächst aus den sechs *fasta*-Dateien ein Alignment mit Lasergene SeqMan NGen 3.0 hergestellt und so eine vollständige Sequenz pro Patient generiert.

Zur Bestimmung der möglichen Resistenzen von HIV wurde die vollständige Sequenz nun mit der *HIV drug resistance database* der Stanford University analysiert (<http://sierra2.stanford.edu/sierra/servlet/JSierra>).

Für die Bestimmung des Subtyps wurde dieselbe *fasta*-Datei mit dem *REGA HIV Subtyping Tool* bestimmt (<http://www.bioafrica.net/rega-genotype/html/subtypinghiv.html>).

2.2.2.6 Restriktionsverdau

Die Spaltung von DNA (ca. 100 – 600 ng) zur Analyse genetischer Polymorphismen erfolgte durch eine Inkubation mit einem Restriktionsenzym und dem zugehörigen Puffer nach Angaben des Herstellers (Fermentas bzw. NEB). Die anhand einer PCR amplifizierte DNA wurde gereinigt (siehe 2.2.2.1), mit einem Verdau enzymatisch geschnitten und in einem Agarose-Gel analysiert (siehe 2.2.2.7). Im Folgenden sind die Protokolle der einzelnen

Polymorphismen mit der Zusammensetzung des Restriktionsverdau, der Konzentration des Agarose-Gels und den zu erwartenden Fragmentlängen der Varianten der gespaltenen DNA aufgeführt.

BDNF Val66Met-Polymorphismus:

Zusammensetzung Verdau:

1x	Tango Puffer yellow
2,5 U	Eco72I
20 µl	DNA
ad 25 µl	ddH ₂ O

Erwartete Varianten:

Val/Val	399 bp, 277 bp
Val/Met	676 bp, 399 bp, 277 bp
Met/Met	676 bp

Die Inkubation des Verdau erfolgte über Nacht bei 37°C, anschließend wurde der gesamte Ansatz drei Stunden im 1 % Agarose-Gel bei 90 Volt analysiert.

COMT Val108/158Met-Polymorphismus:

Zusammensetzung Verdau:

1x	NEB Puffer 4
0,1 mg/ml	BSA
5 U	NlaIII
20 µl	DNA
ad 25 µl	ddH ₂ O

Erwartete Varianten:

Val/Val	117 bp, 70 bp, 54 bp
Val/Met	117 bp, 96 bp, 70 bp, 54 bp, 18 bp
Met/Met	96 bp, 70 bp, 54 bp, 18 bp

Die Inkubation des Verdau erfolgte über Nacht bei 37°C, anschließend wurde der gesamte Ansatz ca. vier Stunden im 4,5 % Agarose-Gel bei 90 Volt aufgetrennt.

DRD₂ TaqIα-Polymorphismus:

Zusammensetzung Verdau:

1x	NEB Puffer 4
0,1 mg/ml	BSA
5 U	TaqαI
20 µl	DNA
ad 25 µl	ddH ₂ O

Erwartete Varianten:

A1/A1	310 bp
A1/A2	310 bp, 180 bp, 130 bp
A2/A2	180 bp, 130 bp

Das A1-Allel wird auch als T-Allel, das A2-Allel als C-Allel bezeichnet. Die Inkubation des Verdaus erfolgte über Nacht bei 65°C, anschließend wurde der gesamte Ansatz ca. fünf Stunden im 2,5 % Agarose-Gel bei 90 Volt aufgetrennt.

DRD₃ Ser9Gly-Polymorphismus:

Zusammensetzung Verdau:

1x	Puffer rot
1,25 U	MlsI
20 µl	DNA
ad 25 µl	ddH ₂ O

Erwartete Varianten:

Gly/Gly	304 bp, 111 bp, 47 bp
Gly/Ser	304 bp, 206 bp, 111 bp, 98 bp, 47 bp
Ser/Ser	206 bp, 111 bp, 98 bp, 47 bp

Die Inkubation des Verdaus erfolgte über Nacht bei 37°C, anschließend wurde der gesamte Ansatz ca. vier Stunden im 3 % Agarose-Gel bei 90 Volt aufgetrennt.

MCP-1-2518A→G-Polymorphismus:

Zusammensetzung Verdau:

1x	Puffer grün
2,5 U	PvuII
20 µl	DNA
ad 25 µl	ddH ₂ O

Erwartete Varianten: MCP-1

A/A	929 bp
A/G	929, 707 bp, 222 bp
G/G	707 bp, 222 bp

Die Inkubation des Verdaus erfolgte über Nacht bei 37°C, anschließend wurde der gesamte Ansatz drei Stunden im 1 % Agarose-Gel bei 90 Volt aufgetrennt.

RANTES Int1.1T→C-Polymorphismus:

Zusammensetzung Verdau:

1x	Puffer blau
1,25 U	MboI
20 µl	DNA
ad 25 µl	ddH ₂ O

Erwartete Varianten:

T/T	343 bp
T/C	343 bp, 213 bp, 130 bp
C/C	213 bp, 130 bp

Die Inkubation des Verdaus erfolgte über Nacht bei 37°C, anschließend wurde der gesamte Ansatz drei Stunden im 1,5 % Agarose-Gel bei 90 Volt aufgetrennt.

RANTES-403G→A-Polymorphismus:

Zusammensetzung Verdau:

1x	Puffer blau
0,5 U	MaeIII
20 µl	DNA
ad 25 µl	ddH ₂ O

Erwartete Varianten:

G/G	112 bp
G/A	135 bp, 112 bp
A/A	135 bp

Die Inkubation des Verdaus erfolgte über Nacht bei 55°C, anschließend wurde der gesamte Ansatz drei Stunden im 3,5 % Agarose-Gel bei 90 Volt aufgetrennt.

2.2.2.7 Agarose-Gelelektrophorese

Die Auftrennung von PCR-Produkten und verdauten DNA-Fragmenten erfolgte in einem Agarose-Gel. Die DNA wurde mit 6x-Ladepuffer versetzt und je nach Länge der aufzutrennenden DNA auf ein 1 % bis 4,5 % TAE-Agarose-Gel aufgetragen. Die Auftrennung der DNA erfolgte ca. eineinhalb Stunden (bis zu acht Stunden bei einigen Polymorphismen) bei 90 Volt, die DNA wurde mit Ethidiumbromid (60 ng/ml) bzw. Gelred (1:30.000) und dem Intas UV System detektiert.

6x Ladepuffer:

0,25 % (w/v) Bromphenolblau
 0,25 % (w/v) Xylencyanol
 52 % (v/v) Glycerin
 50 mM Tris, pH 7,6

TAE-Puffer 50x:

2,0 M Tris pH 8,0
 0,1 M EDTA
 1,0 M CH₂COOH

2.2.3 Zellbiologische Methoden

2.2.3.1 Plasmagewinnung

Die Plasmagewinnung erfolgte durch 10-minütige Zentrifugation von 8 ml Vollblut mit EDTA als Antikoagulans bei 670 x g. Das Plasma wurde in Einfrierröhrchen überführt und bei – 80°C gelagert. Das Plasma wurde für die Resistenzbestimmung von HIV und für die Quantifizierung löslicher Marker der Immunaktivierung verwendet.

2.2.3.2 Isolierung von PBMCs aus Vollblut

PBMCs wurden in Südafrika im Insitute of Medical Virology, Stellenbosch University isoliert. Vollblut mit EDTA als Antikoagulans (ca. 16 ml) wurde im Verhältnis 1:1 mit serumfreiem RPMI verdünnt und anschließend mit 10 ml Histopaque-1077 (Ficoll) unterschichtet. Nach einer 30-minütigen Zentrifugation (380 x g, Anlauf 120 sek, ohne Bremse) wurde die oberste Schicht verworfen und die PBMCs (die Schicht oberhalb der Ficollschicht) in ein Falconröhrchen überführt. Nun folgten zwei Waschschrte, einmal mit serumfreiem RPMI (Zentrifugation: 170 x g, 12 min, Bremse 5) und einmal mit RPMI mit 10 % fötalem Rinderserum (FBS; Zentrifugation: 170 x g, 10 min, Bremse 9). Anschließend wurden die PBMCs eingefroren.

RPMI 1640:

0,1 mg/ml Penicillin
 0,1 mg/ml Streptomycin
 0,5 mg/ml L(+)-Glutamin
 (10 % (v/v) FBS)
 (Lagerung bei 4°C)

2.2.3.3 Einfrieren und Auftauen von Zellen

Prinzipiell erfolgt das Einfrieren von Zellen langsam, das Auftauen schnell. Zum Einfrieren von Zellen wurde das Zellpellet auf Eis mit 1 ml eisgekühltem Einfriermedium versetzt, über Nacht in einer Einfrierbox mit Isopropanol bei - 80°C und anschließend in Stickstoff gelagert. Vollblut wurde im Verhältnis 1:1 mit Einfriermedium eingefroren. Um diese Verdünnung zu vermeiden, kann Vollblut auch direkt mit 10 % DMSO eingefroren werden.

Einfriermedium:

50 % (v/v) FBS
 40 % (v/v) RPMI
 10 % (v/v) DMSO
 (Frisch zubereitet)

Für die Bestimmung der genetischen Polymorphismen wurden PBMCs zunächst aufgetaut, und anschließend in 5 ml eisgekühltes Zellkulturmedium überführt (serumfreies RPMI, siehe 2.2.3.2). Nach einer Zentrifugation (240 x g, 3 min) wurde der Überstand abgesaugt, das Pellet resuspendiert und einmal mit 5 ml eiskaltem PBS gewaschen. Nun wurde die Vitalität der Zellen mit Trypanblau bestimmt.

PBS:

137 mM NaCl
2,7 mM KCl
4,3 mM Na₂HPO₄
1,4 mM KH₂PO₄
1,5 mM CaCl₂
1,0 mM MgCl₂
(Lagerung bei 4°C)

2.2.4 Proteinbiochemische Methoden**2.2.4.1 Quantitative Immunoassays**

Die Konzentration von löslichen Markern der Immunaktivierung und die Koinfektion mit Parasiten wurden mit quantitativen Immunoassays bestimmt. Alle Immunoassays wurden nach Angaben des Herstellers durchgeführt und basierten auf dem Prinzip des Sandwich-ELISAs. Alle Reagenzien wurden vor Versuchsbeginn mindestens eine Stunde bei RT gelagert. Die Verdünnungen der Plasmen bzw. der Liquores mit dem Verdünnungs-Reagenz (*Calibrator Diluent*) sind unten tabellarisch dargestellt. Nach zwei- bis dreistündiger Inkubation der Patientenproben mit den in den wells beschichteten monoklonalen Fang-Antikörpern wurden die wells gewaschen und mit einem HRP-(*horseradish peroxidase*)-konjugiertem Detektions-Antikörper inkubiert. Nach erneutem Waschen wurde eine TMB (Tetramethylbenzidin)- Substrat-Lösung zugegeben, was zu einer blauen Farbentwicklung führte. Die Reaktion wurde mit Schwefelsäure abgestoppt, wodurch es zu einem Farbumschlag nach gelb kommt. Alle ELISAs wurden am Gerät V_{max} Kinetic Microplate Reader mit der Software SoftMax Pro 3.0 bei einer Wellenlänge von 450 nm eingelesen, wobei zusätzlich eine Referenzwellenlänge von 650 nm detektiert und subtrahiert wurde. Die Auswertung der ELISAs erfolgte mit Graph Pad Prism v4.0c mit einer nicht-linearen Standardkurve.

Für den RANTES-ELISA wurde das Plasma erneut zentrifugiert (10 min, 10.000 x g, 4°C), um Thrombozyten-armes Plasma zu generieren. MCP-1 im Plasma und Liquor von deutschen HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen wurde von Dr. Sieghardt Sopper gemessen und mit seiner Erlaubnis in dieser Arbeit dargestellt.

Die ELISAs für die Analyse der Koinfektion mit den extrazellulären Parasiten *Echinococcus multilocularis* (Fuchsbandwurm), *E. granulosus* (Hundebandwurm) und *Schistosoma mansoni* (Pärchenegel) wurden im Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Universität Würzburg (Prof. Klaus Brehm) durchgeführt

ELISA	Material/Kohorte	Verdünnung
sCD14	Plasma DE	1:800
	Plasma SA	1:1000
suPAR	Plasma DE	unverdünnt
	Liquor DE	unverdünnt
	Plasma SA	unverdünnt
MCP-1	Plasma SA	1:1
RANTES	Thrombozyten-armes Plasma SA	1:100

2.2.4.2 Durchflusszytometrische Analyse

Für die Bestimmung der T-Zell-Aktivierung von CD8⁺-Zellen von HIV-Patienten wurde eine durchflusszytometrische Analyse durchgeführt. Diese bestand aus einer Vierfarben-Immundefärbung, wobei die Antikörper direkt mit dem Detektionsfarbstoff markiert sind und extrazellulär binden (Antikörper siehe 2.1). Die Färbung wurde nach dem Protokoll „Lyse ohne waschen“ nach Herstellerangaben (Becton Dickinson) vorgegangen.

Es wurden zwei Färbungen pro Patient durchgeführt, eine für die Analyse der Immunaktivierung und eine Isotypkontrolle, um die durch den Antikörper entstehende Hintergrundfärbung festzustellen. Dazu wurden 20 µl Antikörper-Mastermix (siehe unten) in das FACS-Röhrchen vorgelegt, mit 50 µl Vollblut durch Pipettieren gemischt und 30 min im Dunkeln inkubiert. Nun wurden 2 ml FACS-Lysepuffer zugegeben und für die Lyse der Erythrozyten erneut 30 min inkubiert. Nach Zentrifugation (240 x g, 3 min) und Absaugen des Überstandes wurden 2 ml Histofix (4 % Paraformaldehyd) zugegeben und erneut 20 min inkubiert.

<i>Immunaktivierung:</i>	<i>Isotyp:</i>
3 µl α-CD3 PerCP	3 µl α-CD3 PerCP
1 µl α-CD8 FITC	1 µl α-CD8 FITC
10 µl α-CD38 PE	10 µl α-IgG1 κ PE
1 µl α-HLA-DR APC	4 µl α-IgG2 κ APC
ad 20 µl Färbemedium	ad 20 µl Färbemedium
50 µl Vollblut	50 µl Vollblut

Die Analyse der Zellen erfolgte mit einem FACSCalibur Durchflusszytometer (Becton Dickinson) und der Software Cellquest Pro v4.0.4. Es wurden nur die Zellen berücksichtigt, die in der Vorwärtsstreulicht (FSC)/Seitwärtsstreulicht (SSC)-Analyse als vital identifiziert

wurden. Bei der Analyse der Fluoreszenzintensitäten wurde das Ergebnis der Isotyp-Kontrolle von dem der Immunaktivierungsfärbung subtrahiert.

Färbemedium:

137 mM NaCl
2,7 mM KCl
4,3 mM Na₂HPO₄
1,4 mM KH₂PO₄
1,5 mM CaCl₂
1,0 mM MgCl₂
0,1 % (w/v) BSA
(Lagerung bei 4°C)

Wenn nicht anders vermerkt, wurden alle Puffer bei Raumtemperatur (RT) gelagert und die Experimente bei RT durchgeführt.

2.2.5 Statistische Analyse

Für statistische Analysen wurden die Werte zunächst auf Normalverteilung geprüft. Dazu wurde der D'Agostino Pearson Test durchgeführt. Nun wurden die Mittelwerte auf signifikante Unterschiede überprüft. Um den Mittelwert zweier Gruppen zu vergleichen, wurde bei Normalverteilung der Werte der *t* Test angewendet. Liegt keine Normalverteilung vor, wurde der Mann-Whitney-*U*-Test durchgeführt. Wurden mehr als zwei Gruppen verglichen, wurden die Werte bei Normalverteilung mit einer Varianzanalyse (ANOVA, *analysis of variance*) analysiert; waren die Werte nicht normalverteilt, wurden diese mit dem Kruskal-Wallis-Test analysiert. Der Einfluss von verschiedenen Genotypen der Polymorphismen auf das Infektionsrisiko mit HIV wurde mit einer unkonditionalen direkten logistischen Regressionsanalyse bestimmt. Dabei wurde für das Geschlecht, die Ethnie der Patienten und das Alter der Patienten das Quotenverhältnis (*odds ratio*) und das 95 % Vertrauensintervall berechnet. Unterschiedlich häufiges Auftreten von Allelen in zwei Gruppen wurde mit dem Exakten Fisher Test bestimmt. Alle statistischen Tests wurden mit SPSS (Software Package for Social Science) v20 bzw. Prism v4.0c/v6.0 für Mac OS X durchgeführt. Alle p-Werte waren zweiseitig, ein p-Wert von $p \leq 0,05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet.

3 ERGEBNISSE

3.1 Klinische Charakterisierung der HIV-Patienten

Deutsche HIV-Patienten waren mit durchschnittlich $46,1 \pm 10,1$ Jahren etwas älter als südafrikanische HIV-Patienten mit $36,7 \pm 9,5$ Jahren (Tab. 3.1). Die Patienten hatten ähnliche $CD4^+$ -Zellzahlen, wobei Deutsche tendenziell mehr $CD4^+$ -Zellen aufwiesen. Diese hatten eine $CD4^+$ -Zellzahl von durchschnittlich $465,2 \pm 293,3$ Zellen/ μ l, südafrikanische Patienten hatten $393,9 \pm 242,7$ Zellen/ μ l Blut (Tab. 3.1). Südafrikanische HIV-Patienten, welche eine antiretrovirale Therapie erhielten, wiesen im Vergleich zu deutschen Patienten mit antiretroviraler Behandlung 15 % weniger $CD4^+$ -Zellen auf (Tab. 3.1). Südafrikanische Patienten hatten mit 36854 ± 115139 HIV RNA-Kopien im Vergleich zu deutschen HIV-Patienten eine mehr als doppelt so hohe Viruslast (16783 ± 51188 Kopien/ml) (Tab. 3.1). Südafrikanische HIV-Patienten mit HAART wiesen viermal mehr HIV RNA im Plasma auf als deutsche Patienten unter antiretroviraler Therapie. Die Viruslast im Liquor deutscher therapierter Patienten war 75-fach niedriger als in Therapie-naiven Patienten (Tab. 3.1), was für eine gute Penetration der antiretroviralen Medikamente spricht. Deutsche HIV-Patienten haben durchschnittlich einen HDS-Score von $12,33 \pm 4,03$ und südafrikanische einen IHDS-Score von $10,18 \pm 1,58$, deutsche HIV-Patienten schnitten bei den neuropsychiatrischen Tests also etwas besser ab als südafrikanische Patienten (Tab. 3.1). Südafrikanische Therapie-naive HIV-Patienten zeigten mit $0,24 \pm 0,35$ einen etwas schlechteren GDS-Score im Vergleich zu Patienten mit HAART ($0,19 \pm 0,46$).

Tab. 3.1: Klinische Charakterisierung der HIV-Patienten.

	Deutsche HIV-Patienten			Südafrikanische HIV-Patienten		
	Alle Patienten	ohne HAART	mit HAART	Alle Patienten	ohne HAART	Mit HAART
Patienten	83	27	56	66	18	48
Alter [Jahre]	46,1 ± 10,1 (23,2 – 70,9)	42,8 ± 11,5 (23,2 – 68,0)	47,7 ± 9,1 (29,0–70,9)	36,7 ± 9,5 (23 – 75)	35,8 ± 12,0 (23 – 75)	37,0 ± 8,5 (24 – 54)
Dauer HIV-Infektion [Jahre]	7,0 ± 5,4 (0,02 – 20,2)	3,6 ± 3,6 (0,02 – 11,9)	8,7 ± 5,4 (0,22 – 20,2)	3,9 ± 2,3 (0,83 – 8)	3,1 ± 1,7 (0,83 – 4,8)	3,9 ± 2,3 (0,83 – 8)
CD4⁺-Zellen [Zellen/µl]	465,2 ± 293,3 (9 – 1400)	470,7 ± 299,4 (17 – 1400)	462,5 ± 293,0 (9 – 1100)	393,9 ± 242,7 (35 – 1436)	393,9 ± 170,2 (86 – 741)	393,9 ± 266,7 (35 – 1436)
Plasma Viruslast [Kopien/ml]	16783 ± 51188 (1 – 313562)	35631 ± 65627 (87 – 313562)	8032 ± 40686 (1 – 295833)	36854 ± 115139 (1 – 800000)	47512 ± 55568 (40 – 190000)	32245 ± 133379 (1 – 800000)
Log Viruslast Plasma	4,22 + 4,71 (0 – 5,50)	4,55 + 4,82 (1,94 – 5,50)	3,90 + 4,61 (0 – 5,47)	4,57 + 5,06 (0 – 5,90)	4,68 + 4,73 (1,60 – 5,28)	4,51 + 5,13 (0 – 5,90)
Viruslast Liquor [Kopien/ml]	8612 ± 55557 (1 – 500000)	25759 ± 96321 (1 – 500000)	345 ± 1410 (1 – 8076)	n.v.	n.v.	n.v.
Log Viruslast Liquor	3,94 ± 4,74 (0 – 5,70)	4,41 ± 4,98 (0 – 5,70)	2,54 ± 3,15 (0 – 3,91)			
HDS/IHDS-Score	12,33 ± 4,03 (3,50 – 16,0)	11,52 ± 4,11 (5,0 – 16,0)	12,71 ± 3,98 (3,50 – 16,0)	10,18 ± 1,58 (7,0 12,0)	n.v.	10,18 ± 1,58 (7,0 12,0)
GDS-Score	n.v.	n.v.	n.v.	0,21 ± 0,40 (0 - 1,63)	0,24 ± 0,35 (0 – 1,08)	0,19 ± 0,46 (0 – 1,64)

Die Werte stellen die Mittelwerte ± Standardabweichung dar. Die Werte in Klammern zeigen den Wertebereich. HDS: HIV-Demenz Skala; IHDS: Internationale HIV-Demenz Skala; GDS: *global deficit score*, n.v.: nicht vorhanden.

3.2 Rolle von Dopamin in der HIV-Infektion

3.2.1 Allelhäufigkeiten von genetischen Polymorphismen, die die dopaminerge Neurotransmission beeinflussen

Genotypisierung von HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen

Wie in Kapitel 1.4.1 erwähnt, zeigen frühere Ergebnisse aus unserer Arbeitsgruppe eine erhöhte Dopamin-Konzentration im Liquor nicht-therapierter HIV-Patienten im asymptomatischen Stadium im Vergleich zu nicht-infizierten Personen (Scheller *et al.*, 2010). Die erhöhte extrazelluläre Dopamin-Verfügbarkeit während der HIV-Infektion könnte mit der genetischen Konstitution von HIV-Patienten zusammenhängen. Deshalb wurden genetische Polymorphismen, die die Neurotransmission von Dopamin beeinflussen, in HIV-Patienten und nicht-infizierten Probanden analysiert und verglichen. Diese Polymorphismen sind BDNF Val66Met, DAT 3'-UTR VNTR, COMT Val108/158Met, DRD₂ TaqI α und DRD₃ Ser9Gly und DRD₄ VNTR. Die Fragmentlängen der amplifizierten Allele sind in Abb. 3.1 dargestellt.

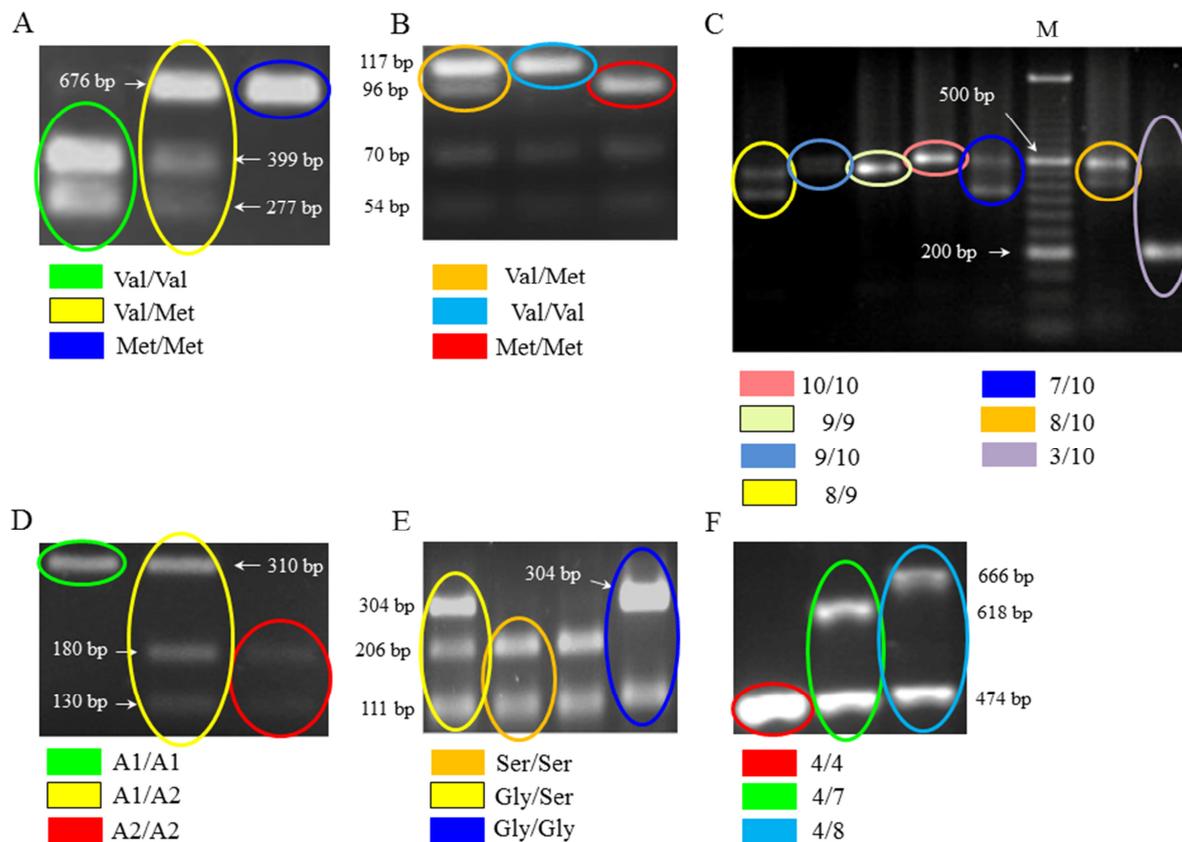


Abb. 3.1: Fragmentlängen der amplifizierten Allele von Polymorphismen, die die dopaminerge Neurotransmission beeinflussen. Es sind die Fragmentlängen der BDNF- (A), COMT- (B), DAT VNTR- (C), DRD₂- (D), DRD₃- (E) und DRD₄ (F)-Polymorphismen dargestellt. A: Der Val/Val-Genotyp des BDNF-

Polymorphismus besteht aus den Fragmenten der Längen 399 bp und 277 bp (grün markiert), die 676 bp-Bande entspricht dem Met/Met-Genotyp (blau markiert). **B:** Der COMT-Polymorphismus besteht entweder aus dem Val/Val, dem Val/Met- oder dem Met/Met-Genotyp. Der Val/Val-Genotyp zeigt die Banden 117 bp, 70 bp, 54 bp (hellblau markiert), das Met/Met-Allel besteht aus Fragmenten mit 96 bp, 70 bp, 54 bp und 18 bp (rot markiert). **C:** Die 480 bp-Bande des DAT VNTR entspricht dem 10/10-repeat Allel (rot markiert), die 440 bp-Bande entspricht dem 9/9-repeat Allel (hellgrün markiert), ein 400 bp-DNA-Fragment entspricht dem 8-repeat Allel (zusammen mit dem 9-repeat-Allel gelb markiert), eine 360 bp-Bande entspricht dem 7-repeat-Allel (zusammen mit dem 10-repeat-Allel blau markiert), das 200 bp-Fragment entspricht dem 3-repeat-Allel (zusammen mit dem 10-repeat-Allel helllila markiert). **D:** Das 310 bp-Fragment des DRD₂-Polymorphismus entspricht dem A1/A1-Genotyp (grün markiert), das A2/A2-Allel besteht aus einem 180 bp- und einem 130 bp-Fragment (rot markiert). **E:** Das Ser/Ser-Allel des DRD₃-Polymorphismus beinhaltet Fragmente der Längen 206 bp, 111 bp, 98 bp und 47 bp (orange markiert), der Gly/Gly-Genotyp besteht aus 304 bp, 111 bp und 47 bp (blau markiert). **F:** Die 474 bp-Bande des DRD₄-Polymorphismus entspricht dem 4/4-repeat Allel (rot markiert), die 618 bp-Bande dem 7-repeat-Allel (mit dem 4-repeat Allel grün markiert), die 666 bp-Bande dem 8-repeat-Allel (mit dem 4-repeat-Allel hellblau markiert). Es ist jeweils ein repräsentatives Ergebnis der Auftrennung der Fragmente in einem Agarose-Gel gezeigt. Die DNA wurde mit Gelred gefärbt. M = O'Range Ruler 50 bp DNA ladder (50 bp – 1 kb).

HIV-Patienten sind häufiger homozygot für das 10-repeat Allel des DAT1 3'-UTR VNTR als nicht-infizierte Personen

Wie im vorangegangenen Abschnitt beschrieben wurde, treten die verschiedenen Allele der BDNF-, COMT-, DRD₂-, DRD₃- und DRD₄-Polymorphismen in nicht-infizierten Personen und HIV-Patienten mit einer ähnlichen Häufigkeit auf. Im Gegensatz dazu unterscheidet sich die Allelhäufigkeit des Dopamin-Transporter-Polymorphismus (DAT1 3'-UTR VNTR) in nicht-infizierten Personen signifikant von der Allelhäufigkeit in HIV-Patienten. Das 9/10-repeat Allel tritt in 43,9 % der südafrikanischen und deutschen nicht-infizierten Individuen und in 26,2 % der HIV-Patienten der beiden Kohorten auf (Abb. 3.2 A). 57,1 % der HIV-Patienten beider Kohorten zusammen sind homozygot für das DAT 10-repeat Allel, während lediglich 26,8 % der nicht-infizierten Personen beider Kohorten den Genotyp 10/10 aufweisen (Abb. 3.2 A). HIV-Patienten tragen den 10/10-Genotyp somit hochsignifikant häufiger als nicht-infizierte Individuen.

Die signifikant unterschiedliche Allelhäufigkeit in nicht-infizierten Personen und HIV-Patienten ist nicht nur in der gesamten Studienpopulation erkennbar, sondern auch, wenn beide Kohorten getrennt analysiert werden. Mit 68,1 % sind deutsche HIV-Patienten im Gegensatz zu deutschen nicht-infizierten Personen (40,9 %) signifikant häufiger Träger des 10/10-Genotyps des DAT VNTR (Abb. 3.2 B, Exakter Fisher-Test). In der südafrikanischen Kohorte sind HIV-Patienten ebenso signifikant häufiger homozygot für das 10-repeat Allel als nicht-infizierte Personen, es weisen 10,5 % der nicht-infizierten Personen und 42,6 % der HIV-Patienten den 10/10-Genotyp auf (Abb. 3.2 C, Exakter Fisher Test).

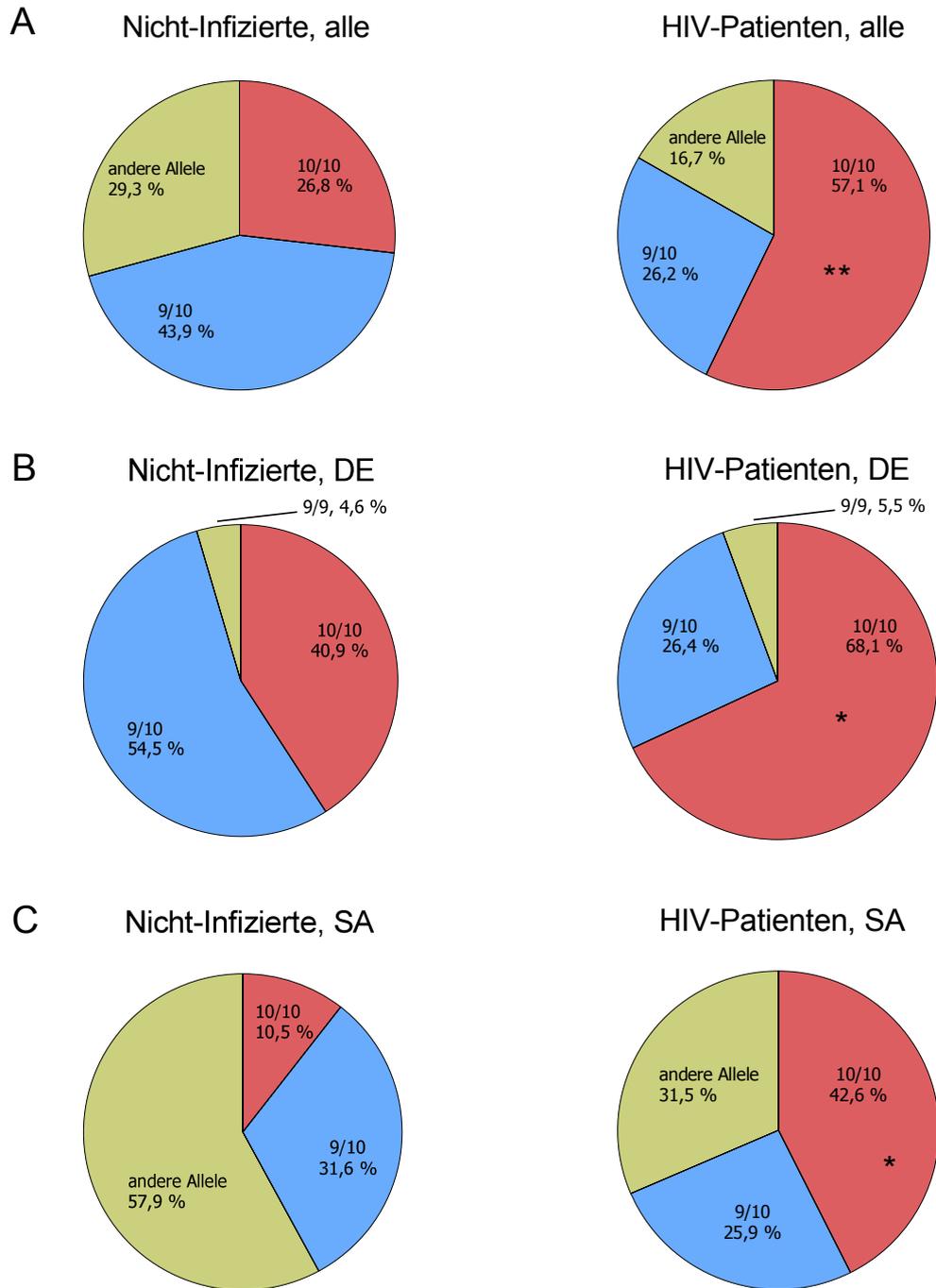


Abb. 3.2: Genotyp-Häufigkeiten des DAT VNTR in nicht-Infizierten und HIV-Patienten. A: Allelhäufigkeiten des DAT-Polymorphismus in allen nicht-infizierten Personen ($n = 41$) und allen HIV-Patienten ($n = 126$). $**p = 0,001$, $OR = 3,93$; $95\% \text{ CI} = 1,72 - 8,96$, direkte logistische Regression. **B:** Allelhäufigkeiten des DAT-Polymorphismus in deutschen nicht-infizierten Personen ($n = 22$) und HIV-Patienten ($n = 72$), $*p = 0,0266$, Exakter Fisher Test. $OR = 3,077$, $95\% \text{ CI} = 1,150 - 8,232$. **C:** Allelhäufigkeiten des DAT Polymorphismus in südafrikanischen nicht-infizierten Personen ($n = 19$) und HIV-Patienten ($n = 54$), $*p = 0,0210$, Exakter Fisher-Test. $OR = 5,935$, $95\% \text{ CI} = 1,240 - 28,42$. Diese Daten wurden bereits publiziert (Horn *et al.*, 2013).

Der 10/10-Genotyp des DAT VNTR ist ein Risiko-Allel für die HIV-Infektion

Lineare Regressionsanalysen zeigen, dass HIV-Patienten beider Kohorten zusammen knapp viermal häufiger homozygot für das 10-repeat-Allel sind als nicht-Infizierte (Abb. 3.3). Das Quotenverhältnis (*odds ratio*, OR) bedeutet, dass nicht-infizierte Träger dieses Allels ein vierfach höheres Risiko haben, sich mit HIV zu infizieren als Personen mit einem anderen Genotyp. Dies ist in Abb. 3.3 veranschaulicht. Das Quotenverhältnis und das Konfidenzintervall des 10/10-Genotyps liegen über 1, es handelt sich deshalb um einen Risiko-Genotyp. Der OR in der deutschen Kohorte ist für den 10/10-Genotyp 3,08 (Abb. 3.3), in Südafrikanern ist der OR mit 6,31 deutlich höher. Der *odds ratio* des 9/10-repeat-Allels in der deutschen Kohorte liegt unter 1 (OR = 0,41) Abb. 3.3), ebenso wie der OR von beiden Populationen zusammen (OR = 0,45) Abb. 3.3). Dieses Allel könnte damit eine schützende Funktion darstellen und folglich das Risiko für eine HIV-Infektion senken.

Als Risiko-Genotyp werden in diesem Kapitel Genotypen bezeichnet, die die Konzentration von Dopamin potentiell erhöhen bzw. wenn diese Genotypen in der Literatur als Risiko-Genotypen bezeichnet werden.

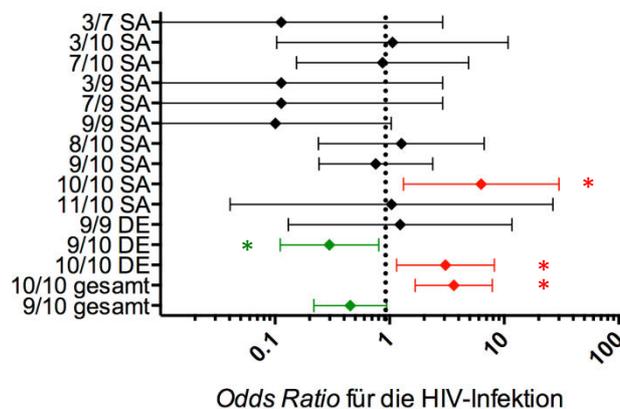


Abb. 3.3: Infektionsrisiko für HIV in verschiedenen Genotypen des DAT VNTR. Der OR ist als Steinchen mit dem 95 % Konfidenzintervall dargestellt. Ist das Risiko erhöht, dass sich Träger eines bestimmten Genotyps mit HIV infizieren, sind der OR und das Konfidenzintervall größer als 1; bei Verringerung des Infektionsrisikos mit HIV, sind der OR und das Konfidenzintervall kleiner als 1. Genotypen, die mit einem erhöhten Infektionsrisiko einher gehen, sind rot dargestellt, Genotypen, die mit einem reduzierten Infektionsrisiko verbunden sind, sind grün dargestellt. Zusätzlich sind die OR der Risiko-Genotypen von beiden Studiengruppen zusammen dargestellt. 10/10 gesamt: OR = 3,93, 95 % CI = 1,72 – 8,96, * $p = 0,001$; 10/10 DE: OR = 3,08, 95 % CI = 1,150 – 8,23, * $p = 0,0266$; 10/10 SA: OR = 6,31, 95 % CI = 1,32 – 30,06, * $p = 0,0121$. 9/10 gesamt: OR = 0,45, 95 % CI = 0,22 – 0,94, $p = 0,498$; 9/10 DE: OR = 0,41, CI = 0,20 – 0,84, * $p = 0,0198$. Diese Daten wurden bereits publiziert (Horn *et al.*, 2013).

Südafrikaner haben eine größere Allel-Diversität des DAT 3'-UTR VNTR als Deutsche

Neben den 9/10- und 10/10-Genotypen tritt in deutschen Personen ein weiterer Genotyp auf, der 9/9-Genotyp (Abb. 3.4). In südafrikanischen Personen treten diverse andere Genotypen auf, nämlich der 3/7-, 3/9-, 3/10-, 7/9-, 9/9-, 7/10-, 8/10- und der 10/11-repeat Genotyp, wobei die Genotypen 7/10 und 8/10 mit 25 % bzw. 32 % am häufigsten sind (Abb. 3.4).

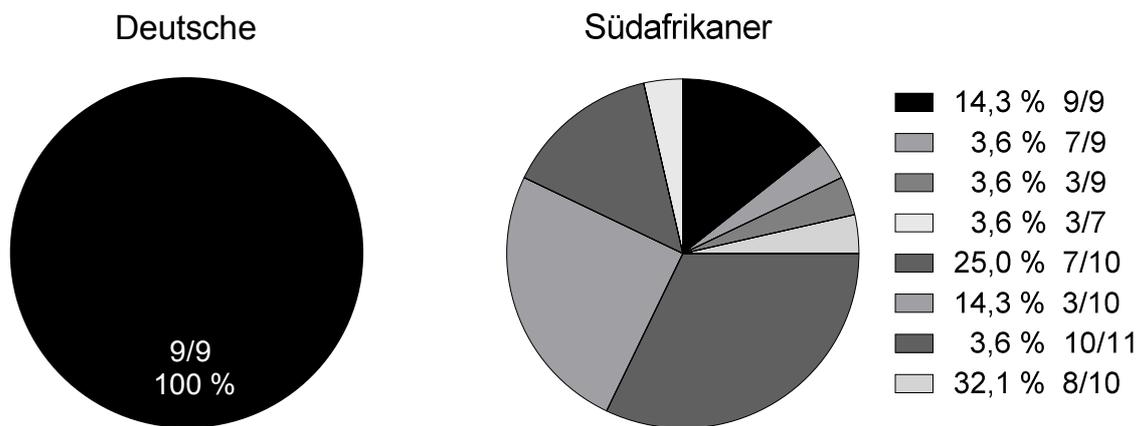


Abb. 3.4: Allelhäufigkeiten aller Genotypen des DAT VNTR außer den 10/10- und 9/10-Genotypen in deutschen und südafrikanischen Personen. Allelhäufigkeiten des DAT-Polymorphismus in allen Deutschen (n = 94) und allen Südafrikanern (n = 73).

Die Allelhäufigkeiten der BDNF Val66Met-, COMT Val108/158Met-, DRD₂ TaqIa-, DRD₃ Ser9Gly- und DRD₄-Polymorphismen unterscheiden sich in HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen nicht

Die Genotypen verschiedener genetischer Polymorphismen treten in unterschiedlichen ethnischen Gruppen häufig in anderen Verhältnissen auf. Eine unterschiedliche Allelverteilung ist auch in den beiden analysierten Kohorten dieser Studie zu erkennen. Im BDNF-Polymorphismus können drei Genotypen auftreten: Val/Val, Val/Met oder Met/Met (Tab. 3.2). Die Allelverteilung unterscheidet sich zwischen Deutschen und Südafrikanern signifikant voneinander. Es sind 64 % der deutschen nicht-infizierten Individuen homozygot für das Val-Allel des BDNF Val66Met-Polymorphismus, während alle südafrikanischen Probanden den Genotyp Val/Val aufweisen (Tab. 3.2). In HIV-Patienten ergibt sich ein ähnliches Bild, deutsche und südafrikanische HIV-Infizierte weisen unterschiedlich häufig

das Val/Val-Allel des BDNF-Polymorphismus auf (Deutsche 59 %, Südafrikaner 94 %, Tab. 3.2). Im COMT Val108/158Met-Polymorphismus können ebenso wie beim BDNF-Polymorphismus die Allele Val/Val, Val/Met oder Met/Met auftreten. Mit 53 % sind südafrikanische nicht-infizierte Personen signifikant häufiger homozygot für das Val-Allel des COMT-Polymorphismus als deutsche nicht-infizierte Personen (18 %; Tab. 3.2). Auch sind südafrikanische HIV-Patienten mit 41 % häufiger homozygot für das Val-Allel des COMT-Polymorphismus, wobei nur 21 % der Deutschen dieses Allel zeigen (Tab. 3.2). Der DRD₂ TaqI α -Polymorphismus beinhaltet das A1/A1, A1/A2 oder A2/A2-Allel. Die Genotyp-Häufigkeit des DRD₂-Polymorphismus ist in den nicht-infizierten Personen beider Kohorten ähnlich (Tab. 3.2). Der Genotyp A2/A2 tritt in 65 % der HIV-infizierten deutschen Individuen auf und nur in 28 % der südafrikanischen HIV-Patienten (Tab. 3.2). Beim DRD₃-Polymorphismus sind die möglichen Aminosäuren an Stelle 9 des Proteins Serin oder Glyzin (Ser/Ser, Ser/Gly oder Gly/Gly). Es sind 63 % der südafrikanischen nicht-Infizierten homozygot für das Ser-Allel im Gegensatz zu 4 % der deutschen nicht-Infizierten. Auch HIV-Patienten der beiden Kohorten weisen eine signifikant unterschiedliche Allelverteilung auf: 67 % der Südafrikaner und nur 12 % der Deutschen weisen den Ser/Ser-Genotyp auf (Tab. 3.2). Der DRD₄-Polymorphismus ist wie der DAT-Polymorphismus ein VNTR und besteht aus einer unterschiedlichen Anzahl an Wiederholungen einer 48 bp-langen Sequenz. Am häufigsten kommt das 4-repeat Allel vor, entweder homozygot oder in Verbindung mit dem 7-repeat-Allel (Tab. 3.2). In deutschen Personen treten zusätzlich die Genotypen 7/7, 2/7, 3/7, 5/7, 6/7, 7/8, 2/9, 2/3, 2/4, 3/4, 4/5 und 4/6 auf. In Südafrikanern kommen neben dem 4/4 und 4/7-Allel zusätzlich die Allele 2/7, 7/8, 2/4, 3/4, 4/5, 4/6, 4/8, 2/2, 2/6 und 5/5 vor (Tab. 3.2). Die Allelverteilung des DRD₄-Polymorphismus ist in den nicht-infizierten Personen beider Kohorten vergleichbar (Tab. 3.2). Mit 38 % bzw. 37 % tritt das 4/4-Allel in deutschen bzw. südafrikanischen nicht-infizierten Personen am häufigsten auf. Auch in HIV-Patienten beider Kohorten kommt dieser Genotyp (4/4) mit 43 % bzw. 48 % in Deutschen bzw. Südafrikanern ähnlich häufig vor.

Die Allelhäufigkeiten zwischen Kontrollen und HIV-Patienten unterscheiden sich in den BDNF-, COMT-, DRD₂-, DRD₃- und DRD₄-Polymorphismen nicht.

Tab. 3.2: Allelhäufigkeiten der BDNF Val66Met-, COMT Val108/158Met-, DRD₂ TaqIa-, DRD₃ Ser9Gly-Polymorphismen und des DRD₄ VNTR.

Polymorphismus	Allel	Nicht- infiziert DE	HIV DE	Nicht-infiziert SA	HIV SA
BDNF Val66Met	Val/Val	64 % (14)	59 % (42)	100 % (19) [#]	94 % (51) ⁺⁺⁺
	Val/Met	27 % (6)	32 % (23)	-	6 % (3)
	Met/Met	9 % (2)	9 % (6)	-	-
COMT Val108/158Met	Val/Val	18 % (4)	21 % (15)	53 % (10) [#]	41 % (22) ⁺
	Val/Met	50 % (11)	60 % (43)	42 % (8)	46 % (25)
	Met/Met	32 % (7)	19 % (14)	5 % (1)	13 % (7)
DRD₂ TaqIA	A1/A1	-	2 % (1)	16 % (3)	9 % (5)
	A1/A2	32 % (7)	33 % (24)	42 % (8)	63 % (34) ⁺⁺⁺
	A2/A2	68 % (15)	65 % (47)	42 % (8)	28 % (15) ⁺⁺⁺
DRD₃ Ser9Gly	Ser/Ser	4 % (1)	12 % (8)	63 % (12) [#]	67 % (36) ⁺⁺⁺
	Ser/Gly	55 % (12)	55 % (38)	32 % (6)	33 % (18)
	Gly/Gly	41 % (9)	33 % (23)	5 % (1) [#]	
DRD₄ VNTR	4*4	38 % (8)	43 % (31)	37 % (7)	48 % (26)
	4*7	24 % (5)	24 % (17)	27 % (5)	26 % (14)
	7*7	4,5 % (1)	4 % (3)		
	2*7		4 % (3)		2 % (1)
	3*7		4 % (3)		
	5*7		1 % (1)		
	6*7		1 % (1)		
	7*8		1 % (1)		2 % (1)
	2*9	4,5 % (1)			
	2*3	4,5 % (1)			
	2*4	20 % (4)	10 (7)	5 % (1)	4 % (2)
	3*4	-	3 % (2)	5 % (1)	
	4*5	4,5 % (1)	3 % (2)	5 % (1)	4 % (2)
	4*6		1 % (1)	11 % (2)	5 % (3)
	4*8			5 % (1)	5 % (3)
	2*6			5 % (1)	
	2*2				2 % (1)
	5*5				2 % (1)

Angegeben sind die Allelhäufigkeiten in Prozent sowie die Anzahl der Personen mit diesem Merkmal in Klammern. *p < 0,05, signifikanter Unterschied von nicht infizierten Personen, Exakter Fisher Test, [#]p < 0,05, signifikanter Unterschied von deutschen Kontrollen, ⁺p < 0,05 (⁺⁺⁺p ≤ 0,001), signifikanter Unterschied von deutschen HIV-Patienten.

3.2.2 Einfluss des DAT VNTR auf die Dopamin-Konzentration im Liquor und die DAT-Expression auf PBMCs in HIV-Patienten

Deutsche Personen mit dem DAT 10/10-Genotyp haben mehr Dopamin im Liquor, südafrikanische Personen mit dem DAT 10/10-repeat Allel haben eine geringere mRNA DAT-Expression auf PBMCs

Um den Einfluss des DAT VNTR auf die Dopamin-Konzentration im Liquor zu testen, wurden die Dopamin-Konzentrationen in Personen mit verschiedenen Genotypen des DAT-Polymorphismus analysiert. Deutsche HIV-Patienten und nicht-infizierte Personen, die für das 10-repeat Allel des DAT 3'-UTR VNTR homozygot sind, weisen im Vergleich zu 9/10-Allel-Trägern eine signifikant höhere Dopamin-Verfügbarkeit auf (Abb. 3.5 A). Dieser Polymorphismus ist in der analysierten Kohorte folglich funktionell, der Genotyp beeinflusst die Dopamin-Konzentration also direkt. Allerdings ist dies nicht mehr signifikant, wenn die Dopamin-Konzentration der 10/10-repeat Allel-Träger mit den beiden anderen auftretenden Genotypen verglichen (9/10 und 9/9) verglichen werden (Abb. 3.5 B).

Da von Südafrikanern kein Liquor vorhanden war, wurde stattdessen die Expression von DAT auf PBMCs analysiert. Diese gibt Aufschluss über die extrazelluläre Dopamin-Konzentration, da die spezifische Bindung an DAT in Lymphozyten ähnlich wie die im Striatum war, jedoch mit weniger Bindungsstellen in Lymphozyten (Amenta *et al.*, 2001). Die mRNA-Expression von nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen wurde mit *real-time* PCR bestimmt. Um den Einfluss des DAT-Polymorphismus auf die mRNA-DAT-Expression zu analysieren, wurde die Expression von DAT auf PBMCs in Personen mit verschiedenen Genotypen des DAT VNTR verglichen. Die DAT-Expressionen unterscheiden sich in Individuen mit dem 10/10- und dem 9/10-Genotyp nicht voneinander (Abb. 3.5 C). Dagegen weisen Personen mit dem 10/10-Genotyp eine signifikant geringere DAT-mRNA-Expression auf PBMCs auf als solche mit allen anderen Allelen (9/9, 7/9, 3/9, 3/7, 3/10, 7/10, 8/10, 9/10, 10/11, Abb. 3.5 D).

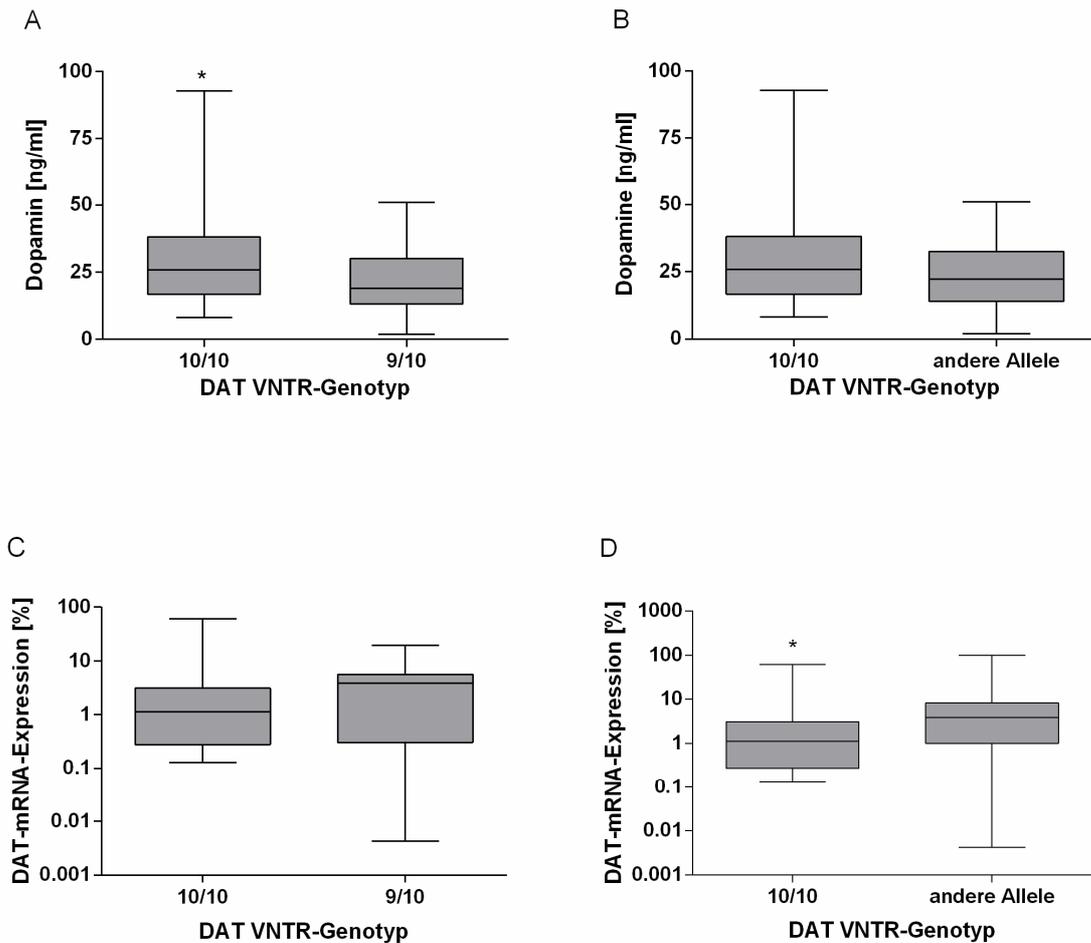


Abb. 3.5: Dopamin-Konzentrationen im Liquor und mRNA-Expression des Dopamin-Transporters auf PBMCs in nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen mit unterschiedlichen DAT VNTR-Genotypen. **A:** Dopamin-Konzentrationen in deutschen Personen mit dem 10/10-Genotyp ($n = 55$) und dem 9/10-Genotyp ($n = 28$). $*p = 0,03$, signifikant unterschiedlich von 9/10-Trägern (Mann Whitney U Test für nicht-normalverteilte Werte). **B:** Dopamin-Konzentrationen in deutschen Personen mit dem 10/10-Genotyp ($n = 55$) und den anderen Genotypen ($n = 32$, 9/10 und 9/9). **C:** Dopamin-Transporter Expression in südafrikanischen Personen mit dem Genotyp 10/10 ($n = 17$) und dem Genotyp 9/10 ($n = 14$). **D:** Dopamin-Transporter Expression in südafrikanischen Personen mit dem 10/10-repeat Allel ($n = 17$) und den anderen Genotypen (3/7, 3/9, 3/10, 7/9, 9/9, 7/10, 8/10, 9/10 und 10/11; $n = 37$). $*p = 0,05$, signifikant unterschiedlich im Gegensatz zu allen anderen Allelen, Mann Whitney U Test für nicht-normalverteilte Werte. Die Boxplots zeigen den Median, die beiden mittleren Quartile (25 – 75 %) und den gesamten Wertebereich mit dem minimalen und maximalen Wert. Teile dieser Abbildung wurden bereits publiziert (Horn *et al.*, 2013).

Die DAT Expression südafrikanischer HIV-Patienten ist im Vergleich zu der von nicht-Infizierten etwas geringer, der Unterschied ist aber statistisch nicht signifikant (Abb. 3.6).

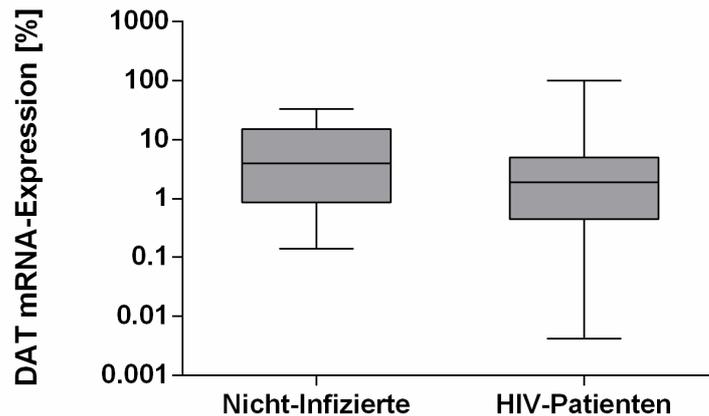


Abb. 3.6: mRNA-Expression des Dopamin-Transporters auf PBMCs von südafrikanischen nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen. DAT mRNA-Expression in nicht-infizierten Personen (n = 17) und HIV-Patienten (n = 37). Die Boxplots zeigen den Median, die beiden mittleren Quartile (25 – 75 %) und den gesamten Wertebereich mit dem minimalen und maximalen Wert. Diese Daten wurden bereits publiziert (Horn *et al.*, 2013).

Der DAT-Genotyp beeinflusst die CD4⁺-Zellzahl, die Viruslast und die Häufigkeit von HAND nicht

Um abschätzen zu können, ob der Genotyp des DAT VNTR direkte Folgen auf die HIV-Infektion hat, wurde die Rolle der verschiedenen Genotypen in der Krankheitsprogression analysiert. HIV-Patienten mit dem DAT 10/10-Genotyp haben mit durchschnittlich 443,2 CD4⁺ Zellen/ μ l Blut genauso viele wie Patienten mit dem 9/10-repeat Allel (443,0 CD4⁺ Zellen/ μ l Blut) (Tab. 3.3). Alle HIV-Patienten mit einem anderen DAT-Genotyp als 10/10 weisen 449,6 CD4⁺ Zellen/ μ l auf. Patienten mit dem 10/10-Genotyp haben mit 24747 HIV RNA Kopien/ml Plasma eine ähnliche Viruslast wie Patienten mit allen anderen Genotypen (27397 Kopien/ml) und eine doppelt so hohe Viruslast wie HIV-Patienten mit dem 9/10-Genotyp (12285 RNA Kopien/ml) (Tab. 3.3). Zudem weisen Patienten mit verschiedenen DAT-Allelen vergleichbare HDS-, IHDS- und GDS-Scores auf (Tab. 3.3).

Tab. 3.3: Assoziation verschiedener DAT VNTR-Genotypen mit der CD4⁺-Zellzahl, der Viruslast und der Häufigkeit von HAND in allen deutschen und südafrikanischen HIV-Patienten.

DAT-Genotypen	10/10	9/10	Alle außer 10/10 (3/10, 7/10, 8/10, 9/10, 11/10, 3/7, 3/9, 7/9, 9/9)
CD4⁺-Zellzahl [Zellen/μl]	443,2 \pm 297,9	443,0 \pm 298,0	449,6 \pm 255,2
HIV RNA [Kopien/ml Blut]	24747 \pm 60045	12285 \pm 28229	27397 \pm 119995
HDS-Score	12,43 \pm 4,06	12,69 \pm 3,75	10,0 \pm 4,33
IHDS-Score	9,10 \pm 1,88	10,50 \pm 2,12	9,0 \pm 2,12
GDS-Score	0,21 \pm 0,34	0,16 \pm 0,42	0,25 \pm 0,46

Es sind die Mittelwerte \pm die Standardabweichung angegeben. Die Unterschiede sind statistisch nicht signifikant (Mann Whitney *U* Test für nicht-normalverteilte Werte). CD4⁺-Zellzahl: n = 27 – 66; HIV RNA: n = 26 – 62; HDS-Score n (10/10 und 9/10) = 16 – 45, n (alle Allele außer 10/10) = 3; IHDS-Score: n = 2 – 5; GDS-Score: n = 8 – 15.

3.2.3. Einfluss der BDNF Val66Met-, COMT Val108/158Met-, DRD₂ TaqI α -, DRD₃ Ser9Gly- und DRD₄-Polymorphismen auf die Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor und die DAT-Expression auf PBMCs

Deutsche Personen mit dem Met-Allel des COMT Val108/158Met-Polymorphismus haben mehr Dopamin im Liquor, die DAT-Expression auf PBMCs südafrikanischer Personen unterscheidet sich in verschiedenen Genotypen des COMT-Polymorphismus nicht

Neben dem DAT reguliert ein anderes Element der dopaminergen Synapse die Dopamin-Verfügbarkeit, die Catechol-O-Methyltransferase (COMT). Um zu analysieren, welchen Einfluss der COMT-Polymorphismus auf die Dopamin-Konzentration im Liquor hat, wurden die Dopamin-Konzentrationen in Personen mit verschiedenen Genotypen des COMT Val108/158Met-Polymorphismus analysiert. Deutsche nicht-infizierte und HIV-infizierte Personen, die mindestens ein Met-Allel des COMT-Polymorphismus tragen, haben eine ähnliche Dopamin-Konzentration im Liquor wie die Personen, die das Val/Val-Allel aufweisen (Abb. 3.7 A). Im Gegensatz dazu haben HIV-Patienten mit dem Risiko-Allel des COMT-Polymorphismus signifikant mehr Dopamin im Liquor als Val/Val-Träger (Abb. 3.7 B). Das Met-Allel des COMT-Polymorphismus führt zu einer drei- bis vierfach reduzierten Aktivität des Enzyms (Lachman *et al.*, 1996), wodurch die extrazelluläre Dopamin-Konzentration erhöht wird.

Ebenso wurde die mRNA-Expression von DAT auf PBMCs in südafrikanischen Personen, die verschiedene Genotypen des COMT-Polymorphismus aufweisen, analysiert. Südafrikanische Met-Allel-Träger des COMT-Polymorphismus zeigen eine vergleichbare mRNA DAT-

Expression auf PBMCs wie Personen mit dem Val/Val-Genotyp (Abb. 3.7 C). Südafrikanische HIV-Patienten mit dem COMT-Risiko-Allel exprimieren ebenso ähnlich viel DAT auf Zellen des peripheren Blutes wie Patienten mit dem Val/Val-Allel (Abb. 3.7 D).

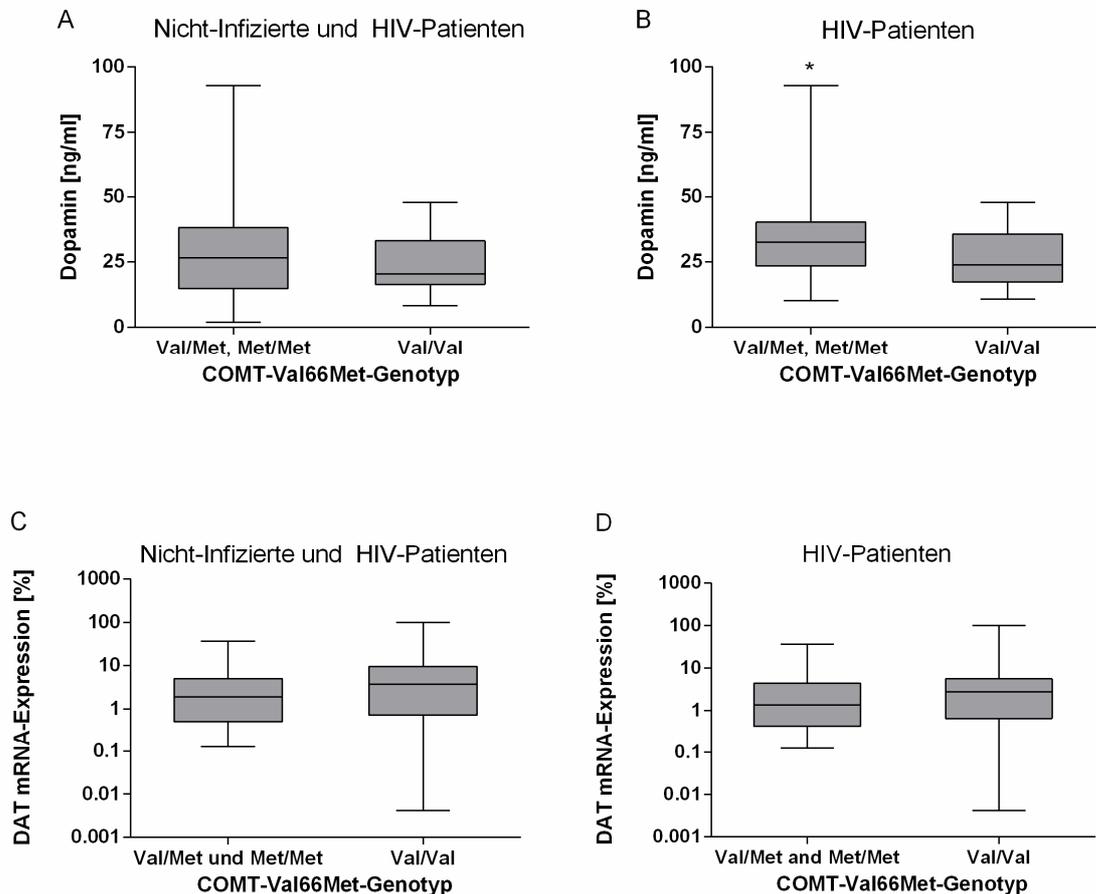


Abb. 3.7: Dopamin-Konzentrationen im Liquor und mRNA-Expression des Dopamin-Transporters auf PBMCs von nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen mit unterschiedlichen Genotypen des COMT Val108/158Met-Polymorphismus. A: Dopamin-Konzentrationen in deutschen Personen mit den Genotypen Val/Val (n = 22) und den anderen Genotypen (Val/Met und Met/Met, n = 62). **B:** Dopamin-Konzentrationen in deutschen HIV-Patienten mit dem Val/Val-Genotyp (n = 16) und den anderen Genotypen (n = 47), *p = 0,0425, signifikant unterschiedlich von Val/Val, Mann Whitney U Test für nicht-normalverteilte Werte. **C:** Dopamin-Transporter Expression in südafrikanischen Personen mit den Genotypen Val/Val (n = 27) und Val/Met und Met/Met (n = 26). **D:** Dopamin-Transporter Expression in südafrikanischen HIV-Patienten mit dem Val/Val-Genotyp (n = 19) und den Genotypen Val/Met und Met/Met (n = 17). Die Boxplots zeigen den Median, die beiden mittleren Quartile (25 – 75 %) und den gesamten Wertebereich mit dem minimalen und maximalen Wert.

Die CD4⁺-Zellzahl, die Viruslast und die Häufigkeit von HAND sind in deutschen HIV-Patienten mit mindestens einem Met-Allel (Risiko-Allel) und dem Val/Val-Allel vergleichbar. HIV-Patienten mit den Genotypen Met/Met und Met/Val haben durchschnittlich 417,4 CD4⁺-Zellen/µl Blut, Patienten mit dem Val/Val-Genotyp 477,9 CD4⁺-Zellen/µl (Tab. 3.4). Die

Viruslast ist in Patienten mit dem Risiko-Allel mit 29835 RNA Kopien/ml Plasma höher als in HIV-Patienten, die homozygot für Val sind (19994 HIV RNA Kopien/ml) (Tab. 3.4). Die HDS-Scores sind in deutschen Personen mit verschiedenen Allelen sehr gut vergleichbar (12,5 und 11,6) (Tab. 3.4). Risiko-Allel-Träger weisen mit 9,06 einen etwas geringeren IHDS-Score als Val/Val-Träger auf (Tab. 3.4). Der GDS-Score ist in südafrikanischen nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen mit mindestens einem Met-Allel mit 0,19 etwas geringer als in Val/Val-Trägern mit einem Score von 0,24 (Tab. 3.4).

Tab. 3.4: Assoziation verschiedener Genotypen des COMT-Polymorphismus in deutschen und südafrikanischen HIV-Patienten mit der CD4⁺-Zellzahl, der Viruslast und der Häufigkeit von HAND.

COMT Genotyp	Met/Met und Met/Val	Val/Val
CD4 ⁺ -Zellzahl [Zellen/ μ l]	417,4 + 264,7	477,9 + 308,8
HIV RNA [Kopien/ml Blut]	29835 + 103538	19994 + 43095
HDS-Score	12,5 \pm 3,9	11,6 \pm 4,5
IHDS-Score	9,06 \pm 1,64	12,0 \pm 0
GDS-Score	0,19 \pm 0,30	0,24 \pm 0,51

Es sind die Mittelwerte \pm die Standardabweichung angegeben. Potentielle HAND-Patienten wurden in Deutschland mit der HDS und in Südafrika mit der IHDS bzw. der GDS identifiziert. Die Unterschiede sind statistisch nicht signifikant (Mann Whitney *U* Test für nicht-normalverteilte Werte bzw. Exakter Fisher Test). CD4⁺-Zellzahl: n = 38 – 84; HIV RNA: n = 34 – 78; HDS-Score: n = 14 – 51; IHDS-Score: n = 1 – 8; GDS-Score: n = 18 – 20.

Die Dopamin-Verfügbarkeit und die DAT-Expression unterscheiden sich in Deutschen bzw. Südafrikanern mit unterschiedlichen Allelen der BDNF Val66Met-, DRD₂ TaqI α -, DRD₃ Ser9Gly- und DRD₄-Polymorphismen nicht

In Kapitel 3.2.2 wurde gezeigt, dass der DAT VNTR mit synaptischem Dopamin in deutschen nicht-Infizierten und HIV-Patienten assoziiert ist. Die Dopamin-Verfügbarkeit wurde nun auch in Personen mit verschiedenen Genotypen des BDNF-, DRD₂-, DRD₃- und DRD₄-Polymorphismus analysiert. Dazu wurden die Dopamin-Konzentrationen in Personen mit dem jeweiligen Risiko-Genotyp mit den Dopamin-Konzentrationen in Individuen mit dem Wildtyp (WT)-Genotyp verglichen. Die extrazelluläre Dopamin-Konzentration ist in den BDNF-, DRD₂- und DRD₃-Polymorphismus in nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen, welche verschiedene Allele aufweisen, vergleichbar (Abb. 3.8 A). 7/7-Allel-Träger des DRD₄-Polymorphismus weisen höhere Dopamin-Konzentrationen auf als Personen mit anderen Allelen des DRD₄-Polymorphismus (Abb. 3.8 A). Ebenso konnte in HIV-Patienten mit verschiedenen Genotypen dieser Polymorphismen eine vergleichbare Dopamin-Verfügbarkeit nachgewiesen werden (Abb. 3.8 B).

Die Dopamin-Konzentration kann auch von der Expression des DAT moduliert werden. Es wurde die DAT-Expression in südafrikanischen Personen mit dem jeweiligen Risiko-Genotyp mit der DAT-Expression in Individuen mit dem WT-Genotyp verglichen. Die Expression des DAT auf PBMCs ist in den BDNF-, DRD₂-, DRD₃- und DRD₄-Polymorphismen in Individuen mit verschiedenen Genotypen sehr ähnlich (Abb. 3.8 C). Ebenso konnte in HIV-Patienten mit verschiedenen Genotypen dieser Polymorphismen eine vergleichbare DAT-Expression auf PBMCs nachgewiesen werden (Abb. 3.8 D).

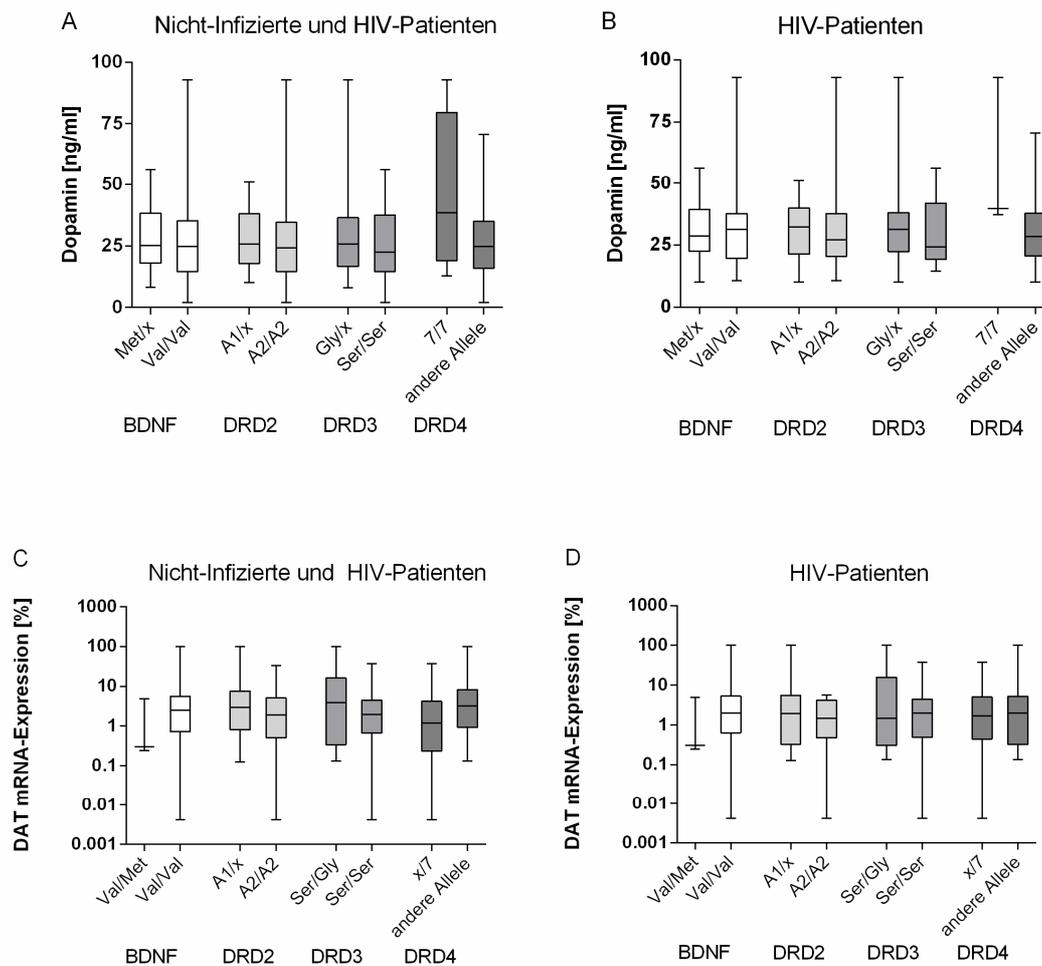


Abb. 3.8: Dopamin-Konzentrationen im Liquor und mRNA-Expression des Dopamin-Transporters auf PBMCs von Personen mit unterschiedlichen Genotypen der BDNF-, DRD₂-, DRD₃- und DRD₄-Polymorphismen. **A:** Dopamin-Konzentrationen in deutschen nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen mit dem Risiko-Allel Met (Met/Met und Met/Val, n = 36) und dem Val/Val-Genotyp (n = 54) des BDNF-Polymorphismus (weiß dargestellt). Dopamin-Konzentrationen in Personen mit dem Risiko-Allel A1 (A1/A1 und A1/A2, n = 31) und dem A2/A2-Genotyp (n = 58) des DRD₂-Polymorphismus (hellgrau dargestellt). Dopamin-Konzentrationen in Personen mit dem Risiko-Allel Gly (Gly/Gly und Gly/Ser, n = 80) und dem Ser/Ser-Genotyp (n = 11) des DRD₃-Polymorphismus (mittelgrau dargestellt). Dopamin-Konzentrationen in Personen mit dem Risiko-Genotyp 7/7 (n = 4) und allen anderen Genotypen (4/4, 4/7, 2/7, 3/7, 5/7, 6/7, 8/7, 2/3, 2/4, 2/9, 3/4, 5/4, 6/4, n = 84, dunkelgrau dargestellt) des DRD₄-Polymorphismus. **B:** Dopamin-Konzentrationen in deutschen HIV-Patienten mit dem Risiko-Allel Met (Met/Met und Met/Val, n = 28) und dem Val/Val-Genotyp (n = 40) des BDNF-Polymorphismus (weiß dargestellt). Dopamin-Konzentrationen in HIV-Patienten mit dem Risiko-Allel A1/A1 und A1/A2 (n = 24) und dem A2/A2-Allel (n = 34) des DRD₂-Polymorphismus (hellgrau dargestellt). Dopamin-Konzentrationen in HIV-Patienten mit dem Risiko-Allel Gly (Gly/Gly und Gly/Ser, n = 60) und dem

Ser/Ser-Allel (n = 9) des DRD₃-Polymorphismus (mittelgrau dargestellt). Dopamin-Konzentrationen in HIV-Patienten mit dem Risiko-Genotyp 7/7 (n = 3) und allen anderen Allelen (4/4, 4/7, 2/7, 3/7, 5/7, 6/7, 8/7, 2/4, 3/4, 5/4, 6/4, n = 64, dunkelgrau dargestellt) des DRD₄-Polymorphismus. Aufgrund der kleinen Stichprobenanzahl wurde auf einen Signifikanztest verzichtet. **C:** mRNA DAT-Expression in südafrikanischen nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen mit dem Risiko-Allel Met (Met/Met und Met/Val, n = 4) und dem Val/Val-Genotyp (n = 51) des BDNF-Polymorphismus (weiß dargestellt). mRNA DAT-Expression in Individuen mit dem Risiko-Allel A1/A1 und A1/A2 (n = 36) und dem A2/A2-Allel (n = 18) des DRD₂-Polymorphismus (hellgrau dargestellt). mRNA DAT-Expression in Personen mit dem Risiko-Allel Ser/Gly (n = 17) und dem Ser/Ser-Allel (n = 36) des DRD₃-Polymorphismus (mittelgrau dargestellt). DAT-Expression in Südafrikanern mit dem Risiko-Allel 7/x (n = 14) und allen anderen Genotypen des DRD₄-Polymorphismus (2/2, 2/4, 3/4, 4/4, 5/4, 6/4, 8/4, 2/7, 5/5, n = 40, dunkelgrau dargestellt) **D:** mRNA DAT-Expression in HIV-Patienten mit dem Risiko-Allel Met (Met/Met und Met/Val, n = 3) und dem Val/Val-Genotyp (n = 34) des BDNF-Polymorphismus (weiß dargestellt). mRNA DAT-Expression in HIV-Patienten mit dem Risiko-Allel A1/A1 und A1/A2 (n = 27) und dem A2/A2-Allel (n = 10) des DRD₂-Polymorphismus (hellgrau dargestellt). mRNA DAT-Expression in HIV-Patienten mit dem Risiko-Allel Ser/Gly (n = 11) und dem Ser/Ser-Allel (n = 26) des DRD₃-Polymorphismus (mittelgrau dargestellt). DAT-Expression in südafrikanischen HIV-Patienten mit dem Risiko-Allel 7/x (n = 10) und allen anderen Genotypen des DRD₄-Polymorphismus (2/2, 2/4, 4/4, 4/5, 4/6, 4/8, 5/5, n = 27, dunkelgrau dargestellt). Die Boxplots zeigen den Median, die beiden mittleren Quartile (25 – 75 %) und den gesamten Wertebereich mit dem minimalen und maximalen Wert.

3.2.4. Einfluss der HIV-Infektion auf die periphere Expression von Dopamin-Rezeptoren

Südafrikanische HIV-Patienten haben eine geringere DRD₅-Expression auf PBMCs als nicht-infizierte Personen, die DRD₃-Expression unterscheidet sich nicht

Um die Rolle von Dopamin im Immunsystem zu untersuchen, wurden Proteine analysiert, die an der Regulation der Interaktion von Dopamin und des Immunsystems beteiligt sind. Alle Dopamin-Rezeptoren werden in T-Lymphozyten exprimiert und sind an der Regulation von T-Zellen beteiligt (Zhao *et al.*, 2013). Die Rezeptoren können möglicherweise von der Dopamin-Konzentration im Plasma oder Liquor beeinflusst werden, die Funktion ist jedoch unbekannt. Deshalb wurde die Expression zweier wichtiger Rezeptoren, die auf Lymphozyten exprimiert werden, auf PBMCs von südafrikanischen Personen analysiert.

Die DRD₃-Expression ist in südafrikanischen HIV-Patienten etwas höher als in nicht-Infizierten Personen (Abb. 3.9 A). Dagegen weisen südafrikanische HIV-Patienten eine signifikant geringere DRD₅-Expression auf PBMCs auf als nicht-infizierte Personen (Abb. 3.9 B).

HAND-Patienten zeigen zusätzlich tendenziell eine geringere DRD₃-Expression und eine signifikant geringere DRD₅-Expression als HIV-Patienten (Abb. 3.10 A und B).

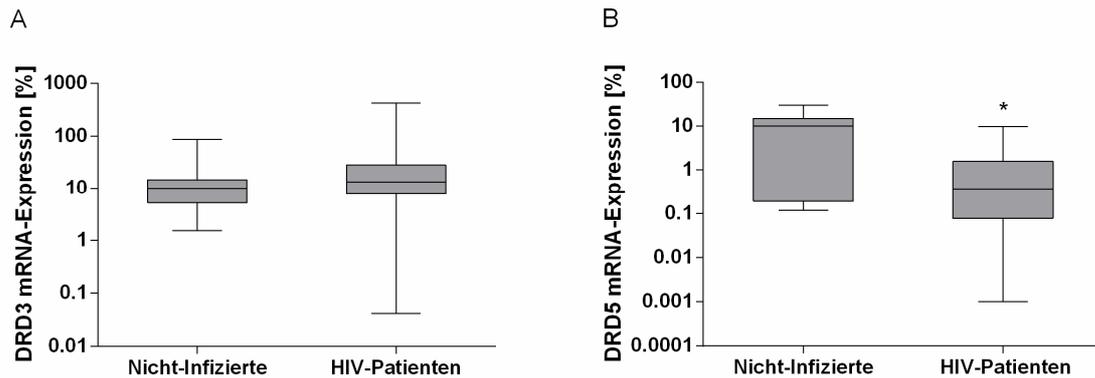


Abb. 3.9: mRNA-Expression von DRD₃ und DRD₅ von südafrikanischen nicht-Infizierten und HIV-Patienten. **A:** DRD₃-Expression in nicht-infizierten Personen (n = 18) und HIV-Patienten (n = 42). **B:** DRD₅-Expression in nicht-infizierten Personen (n = 7) und HIV-Patienten (n = 25). *p = 0,0449, signifikant unterschiedlich im Vergleich zu nicht-infizierten Personen, Mann Whitney U Test für nicht-normal verteilte Werte.

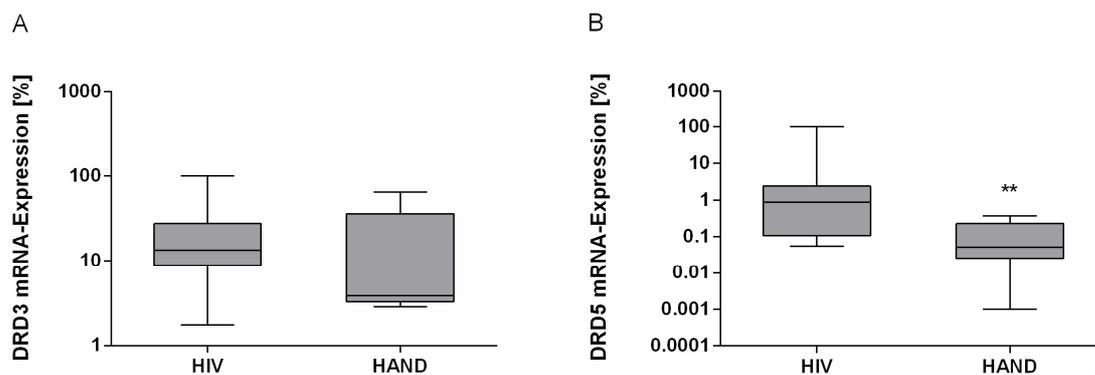


Abb. 3.10: mRNA-Expression von DRD₃ und DRD₅ auf PBMCs von südafrikanischen HIV-Patienten mit und ohne neuropsychiatrische Störung. **A:** DRD₃-Expression in HIV-Patienten ohne HAND (n = 37) und HIV-Patienten mit HAND (n = 5). **B:** DRD₅-Expression in HIV-Patienten ohne HAND (n = 21) und HIV-Patienten mit HAND (n = 5), **p = 0,0093, signifikant unterschiedlich im Vergleich zu HIV-Patienten ohne HAND, Mann Whitney U Test für nicht-normal verteilte Werte.

Um den Zusammenhang der DRD₃-Expression mit der DRD₅-Expression zu analysieren, wurden die relativen Expressionen miteinander korreliert. HIV-Patienten mit einer höheren peripheren DRD₃-Expression zeigen tendenziell ebenso eine höhere DRD₅-Expression (Abb. 3.11 A). Da neben den beiden Rezeptoren auch die mRNA-Expression des DAT analysiert wurde, wurde auch der Zusammenhang der DAT-Expression mit der DRD₃-Expression analysiert. Die Expression von DRD₃ ist in HIV-Patienten signifikant mit der Expression von DAT assoziiert, Patienten mit einer höheren DRD₃-Expression zeigen also auch eine erhöhte DAT-Expression (Abb. 3.11 B).

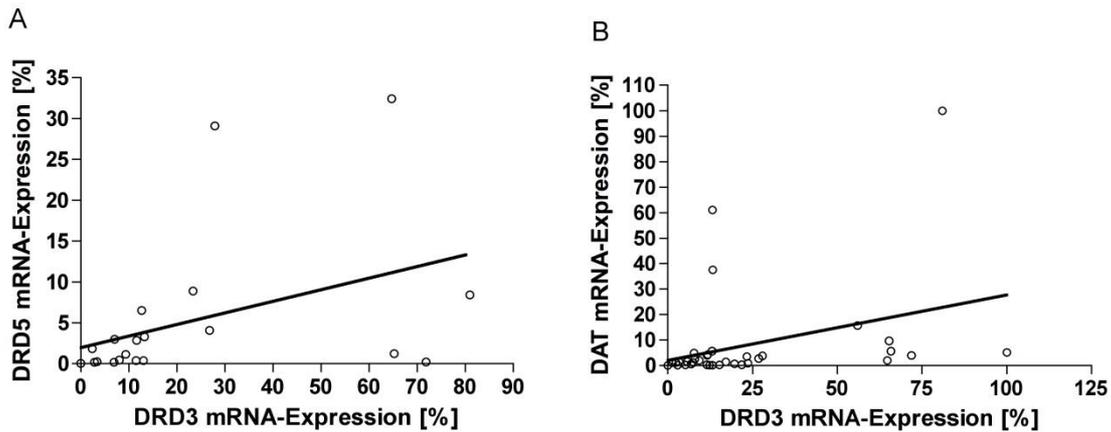


Abb. 3.11: Korrelation der mRNA-Expressionen des DRD₃ mit dem DRD₅ und dem DAT auf PBMCs von südafrikanischen HIV-Patienten. **A:** DRD₃- und DRD₅-Expression auf PBMCs von HIV-Patienten (n = 20), lineare Regression nach Spearman, $r^2 = 0,1600$, $p = 0,0806$. **B:** DRD₃- und DAT-Expression auf PBMCs von HIV-Patienten (n = 35), lineare Regression nach Spearman, $r^2 = 0,0001219$, $p = 0,0453$.

Der DRD₃ Ser9Gly-Polymorphismus ist in nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen funktionell

Das Risiko-Allel Glyzin (Gly/Gly und Gly/Ser) des DRD₃-Polymorphismus hat in den analysierten Kohorten weder Einfluss auf die Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor noch Einfluss auf die DAT-Expression auf PBMCs (Abb. 3.8). Es könnte jedoch ein Zusammenhang zwischen diesem Genotyp und der Expression des Rezeptors auf PBMCs bestehen. Tatsächlich weisen südafrikanische Personen mit dem Risiko-Allel des DRD₃-Polymorphismus (Gly/Gly und Ser/Gly) eine signifikant geringere DRD₃ mRNA-Expression auf PBMCs im Gegensatz zu Personen mit dem Ser/Ser-Genotyp (Abb. 3.12). Dieser Polymorphismus ist demzufolge funktionell.

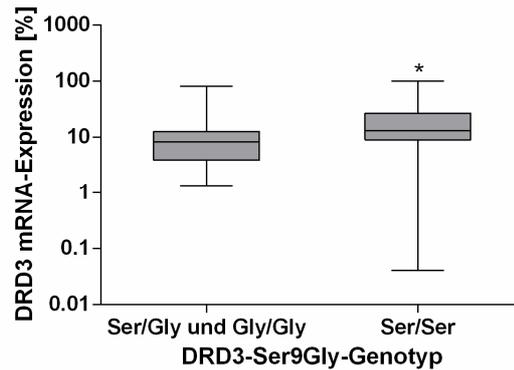


Abb. 3.12: mRNA-Expression des DRD₃ auf PBMCs von südafrikanischen nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen mit unterschiedlichen Genotypen des DRD₃-Polymorphismus. DRD₃ Expression in Personen dem Ser/Gly bzw. Gly/Gly-Allel (n = 16) und dem Ser/Ser-Allel (n = 42). *p = 0,0232, signifikant unterschiedlich im Vergleich zu Ser/Ser-Trägern, Mann Whitney U Test für nicht-normal verteilte Werte. Die Boxplots zeigen den Median, die beiden mittleren Quartile (25 – 75 %) und den gesamten Wertebereich mit dem minimalen und maximalen Wert.

3.3 Zusammenhang zwischen Dopamin und der Immunaktivierung

Keine Assoziation zwischen der Dopamin-Verfügbarkeit und den Immunmarkern MCP-1, sCD14 und suPAR

Da Dopamin-Rezeptoren auf Zellen des Immunsystems exprimiert werden, ist auch ein Zusammenhang zwischen der Dopamin-Verfügbarkeit und Markern der Immunaktivierung möglich. Das Thema Immunaktivierung wird in Kapitel 3.4 detailliert behandelt.

Die Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor in deutschen nicht-Infizierten und HIV-Patienten ist jedoch weder mit der Konzentration von suPAR im Liquor noch mit den Konzentrationen von MCP-1, sCD14 und suPAR im Plasma assoziiert (Abb. 3.13 A - E). Nicht-infizierte Personen sowie nicht-infizierte und HIV-infizierte Personen zusammen zeigen ebenso keinen Zusammenhang zwischen der Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor und den Immunmarkern MCP-1, suPAR und sCD14 im Plasma bzw. im Liquor (Tab. 3.5).

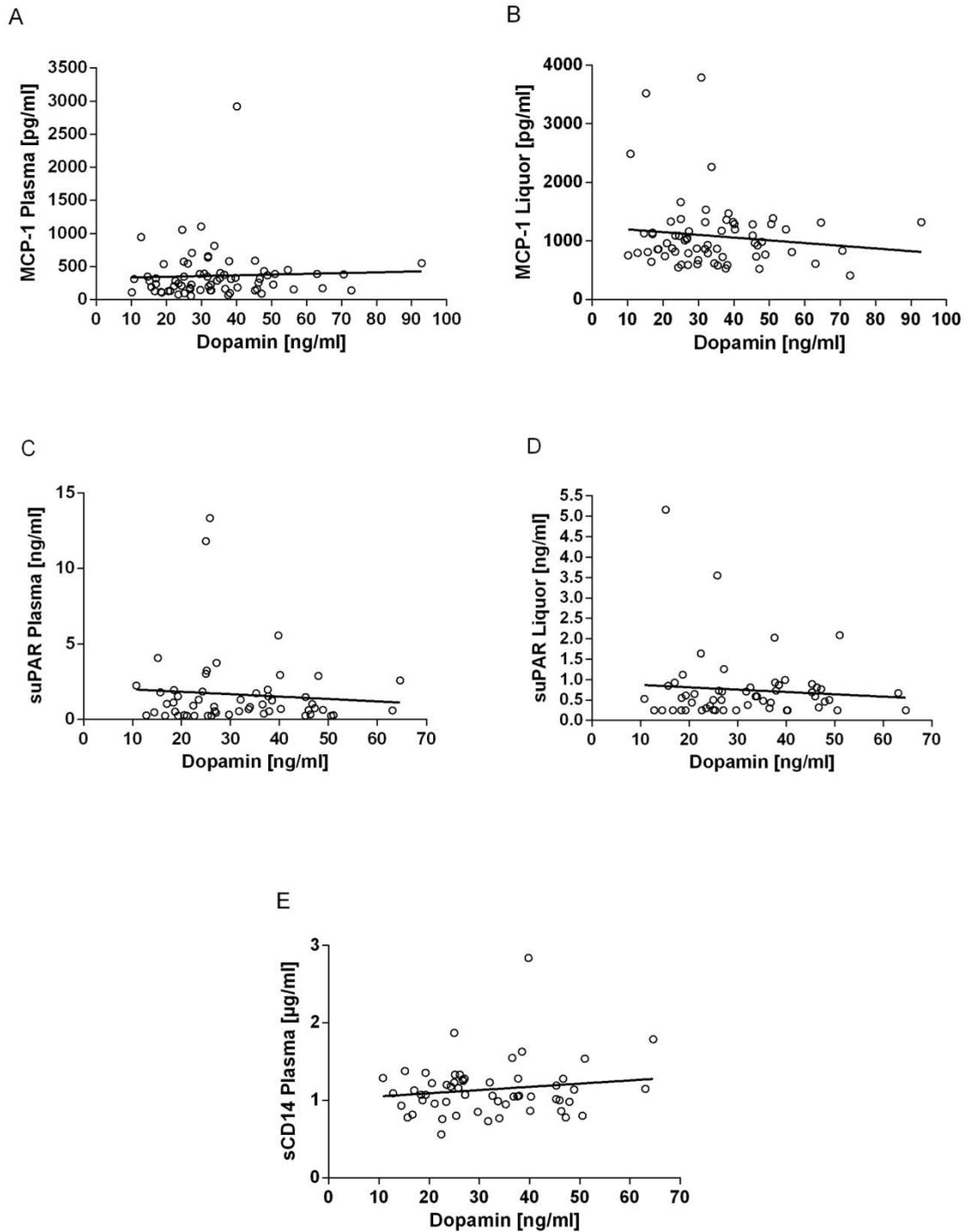


Abb. 3.13: Assoziation der Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor und den Immunmarkern MCP-1, sCD14 und suPAR im Plasma bzw. Liquor deutscher HIV-Patienten. **A:** Korrelation der Dopamin-Verfügbarkeit mit MCP-1 im Plasma ($r^2 = 0,002077$) und **B** mit MCP-1 im Liquor ($r^2 = 0,01573$). **C:** Korrelation der Dopamin-Verfügbarkeit mit suPAR im Plasma ($r^2 = 0,007046$) und **D** mit suPAR im Liquor ($r^2 = 0,007678$). **E:** Korrelation der Dopamin-Verfügbarkeit mit sCD14 im Plasma ($r^2 = 0,02250$). $n = 55 - 70$. Es sind die Korrelationskoeffizienten (r^2) angegeben. Lineare Regression nach Spearman; die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant.

Tab. 3.5: Korrelation der Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor und den Immunmarkern MCP-1, sCD14 und suPAR im Plasma bzw. Liquor deutscher nicht-infizierter Personen und HIV-Patienten.

Korrelation von Dopamin mit	Nicht-Infizierte	Nicht-Infizierte + HIV-Patienten
MCP-1 Plasma	$r^2 = 0,18890$	$r^2 = 0,00277$
MCP-1 Liquor	$r^2 = 3,632 \times 10^{-6}$	$r^2 = 0,00229$
suPAR Plasma	$r^2 = 0,00070$	$r^2 = 0,00017$
suPAR Liquor	$r^2 = 0,01677$	$r^2 = 0,00133$
sCD14 Plasma	$r^2 = 0,01243$	$r^2 = 0,00764$

Lineare Regression nach Spearman. Es sind die Korrelationskoeffizienten (r^2) angegeben. Nicht-Infizierte: n = 5 – 14, Nicht-Infizierte und HIV-Patienten: n = 69 – 76.

Nicht-infizierte und HIV-infizierte Personen mit dem DAT 10/10-Genotyp haben höhere MCP-1-Konzentrationen im Plasma

Obwohl kein Zusammenhang zwischen der Dopamin-Verfügbarkeit und Immunmarkern in HIV-Patienten und nicht-Infizierten besteht, wurde eine mögliche Assoziation des DAT 10/10-Genotyps mit Markern der Immunaktivierung analysiert. Nicht-infizierte und HIV-infizierte deutsche und südafrikanische Personen mit dem DAT 10/10-Genotyp weisen eine signifikant höhere MCP-1-Konzentration im Plasma auf als Personen mit anderen Genotypen (Abb. 3.14). Dagegen haben nicht-infizierte und HIV-infizierte Personen mit unterschiedlichen DAT-Genotypen etwas niedrigere sCD14- und vergleichbare suPAR-Konzentrationen im Plasma (Abb. 3.14).

Nicht-Infizierte mit dem DAT 10/10-Genotyp haben mit 147,4 pg/ml eine ca. dreimal höhere MCP-1-Konzentration als Personen mit anderen Genotypen (50,0 pg/ml) (Tab. 3.6). HIV-Patienten mit dem DAT-Risiko-Genotyp weisen mit 207 pg/ml eine vergleichbare MCP-1-Konzentration auf wie Patienten mit anderen DAT-Genotypen (222,5 pg/ml) (Tab. 3.6). Ebenso haben nicht-infizierte Personen mit dem DAT 10/10-Genotyp mit 1,3 µg/ml genauso viel sCD14 wie nicht-infizierte mit anderen DAT-Genotypen mit 1,31 µg/ml (Tab. 3.6). Dagegen weisen HIV-Patienten mit dem Risiko-Genotyp eine signifikant geringere sCD14-Konzentration im Plasma auf als Patienten mit anderen Genotypen (1,46 bzw. 1,63 µg/ml) (Tab. 3.6). Auch die suPAR-Konzentration ist in Personen mit dem DAT-10/10-Genotyp und solchen mit anderen Genotypen vergleichbar. Nicht-Infizierte 10/10-Träger haben eine durchschnittliche suPAR-Konzentration von 1,05 ng/ml Plasma und solche mit anderen Genotypen 1,30 ng/ml (Tab. 3.6). HIV-Patienten mit verschiedenen Genotypen zeigen ebenso keine großen Unterschiede in der suPAR-Konzentration (1,99 ng/ml in 10/10-Trägern und 2,12 ng/ml in Patienten mit anderen Genotypen) (Tab. 3.6).

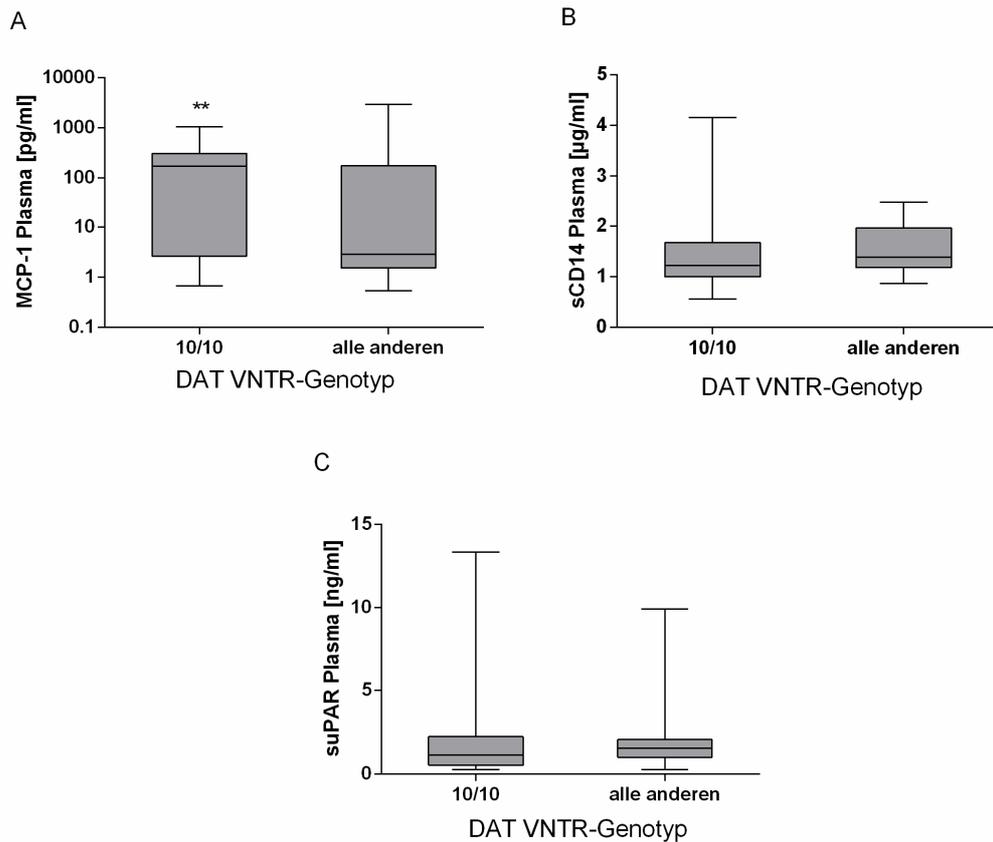


Abb. 3.14: MCP-1-, sCD14- und suPAR-Konzentrationen im Plasma von nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen mit verschiedenen DAT VNTR-Genotypen. **A:** MCP-1-Konzentration in Personen mit dem DAT-10/10-Genotyp ($n = 65$) und anderen Genotypen ($n = 60$). **B:** sCD14-Konzentration in Personen mit dem DAT-10/10-Genotyp ($n = 63$) und anderen Genotypen ($n = 56$). **C:** suPAR-Konzentration in Personen mit dem DAT-10/10-Genotyp ($n = 64$) und anderen Genotypen ($n = 57$). $**p = 0,0076$, signifikant unterschiedlich im Vergleich zu Personen mit anderen DAT-Genotypen, Mann Whitney U Test für nicht-normal verteilte Werte. Die Boxplots zeigen den Median, die beiden mittleren Quartile (25 – 75 %) und den gesamten Wertebereich mit dem minimalen und maximalen Wert. Andere DAT-Genotypen: 3/7-, 3/9-, 3/10-, 7/9-, 9/9-, 7/10-, 8/10- und der 10/11.

Tab. 3.6: Assoziation verschiedener Genotypen des DAT VNTR mit den Immunmarkern MCP-1, suPAR und sCD14 im Plasma von nicht-infizierten und HIV-infizierten deutschen und südafrikanischen Personen.

	10/10-Genotyp	Andere Genotypen
MCP-1 Plasma [pg/ml]		
Nicht-Infizierte	147,4 ± 62,2	50,0 ± 39,4
HIV-Patienten	207,0 ± 29,2	222,5 ± 69,5
sCD14 Plasma [µg/ml]		
Nicht-Infizierte	1,34 ± 0,10	1,31 ± 0,08
HIV-Patienten	1,46 ± 0,10*	1,63 ± 0,07
suPAR Plasma [ng/ml]		
Nicht-Infizierte	1,05 ± 0,22	1,30 ± 0,17
HIV-Patienten	1,99 ± 0,33	2,12 ± 0,29

Es sind die Mittelwerte ± SEM angegeben. * $p = 0,0175$ Mann Whitney *U* Test für nicht-normalverteilte Werte. MCP-1: n (nicht-Infizierte) = 5 – 13, n (HIV-Patienten) = 47 – 60. sCD14: n (nicht-Infizierte) = 8 – 18, n (HIV-Patienten) = 38 – 55. suPAR: n (nicht-Infizierte) = 9 – 18, n (HIV-Patienten) = 39 – 55.

3.4 Rolle der Immunaktivierung während der HIV-Infektion

3.3.1 Immunaktivierung in deutschen HIV-Patienten

Deutsche HIV-Patienten zeigen im Vergleich zu nicht-infizierten Personen keine erhöhten MCP-1-, sCD14- und suPAR-Konzentrationen

Nicht-infizierte Personen haben eine MCP-1-Plasma-Konzentration von 273,9 pg/ml, wohingegen HIV-Patienten mit 361,9 pg/ml zwar eine höhere MCP-1-Konzentration haben, die sich jedoch nicht signifikant von der Konzentration nicht-infizierter Personen unterscheidet (Tab. 3.7). Die sCD14-Konzentration im Plasma hingegen ist in nicht-Infizierten und HIV-Patienten sehr ähnlich (1,19 bzw. 1,16 µg/ml) (Tab. 3.7). Deutsche HIV-Patienten haben mit 1,7 ng/ml eine etwas höhere suPAR-Konzentration im Plasma als nicht-infizierte Personen (1,12 ng/ml) (Tab. 3.7).

Zudem weisen HIV-Patienten im Vergleich zu nicht-infizierten Personen eine leicht erhöhte MCP-1-Konzentration im Liquor auf (1084 pg/ml bzw. 786 pg/ml). Die suPAR-Konzentration im Liquor ist in nicht-infizierten Personen und HIV-Patienten mit 0,74 bzw. 0,73 ng/ml sehr ähnlich (Tab. 3.7).

Tab. 3.7: MCP-1-, sCD14- und suPAR-Konzentrationen im Plasma bzw. Liquor von deutschen nicht-infizierten Personen und HIV-Patienten.

	Nicht-Infiziert DE	HIV-Patienten
MCP-1 Plasma [pg/ml]	273,9 ± 65,6	361,9 ± 45,4
sCD14 Plasma [µg/ml]	1,19 ± 0,05	1,16 ± 0,04
suPAR Plasma [ng/ml]	1,12 ± 0,20	1,70 ± 0,32
MCP-1 Liquor [pg/ml]	786,4 ± 87,5	1084 ± 70,9
suPAR Liquor [ng/ml]	0,74 ± 0,14	0,73 ± 0,1

Es sind die Mittelwerte ± SEM angegeben. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant (Mann Whitney *U* Test für nicht-normalverteilte Werte). Nicht-infizierte Personen: n = 5 – 15; HIV-Patienten: n = 61 – 71.

Deutsche HIV-Patienten mit und ohne antiretroviraler Therapie haben vergleichbare MCP-1-, sCD14- und suPAR-Konzentrationen

Obwohl sich die Konzentration der analysierten Immunmarker in HIV-Patienten und nicht-Infizierten nicht voneinander unterscheidet, wurde dennoch ein möglicher Einfluss von HAART analysiert. HAART hat in deutschen HIV-Patienten keinen Einfluss auf die MCP-1-Konzentration im Plasma, die bei HAART-naiven HIV-Patienten 305,9 pg/ml und bei Patienten mit HAART durchschnittlich 380,9 pg/ml MCP-1 beträgt (Tab. 3.8). Ebenso ist die Plasma-sCD14-Konzentration in beiden Patientengruppen sehr ähnlich, wobei HIV-Patienten ohne HAART 1,19 µg/ml und Patienten mit HAART 1,13 µg/ml sCD14 aufweisen. Der

Entzündungs-Marker suPAR ist im Plasma von Patienten, die eine antiretrovirale Therapie machen, etwas niedriger als im Plasma von Therapie-naiven HIV-Patienten; der Unterschied ist jedoch nicht statistisch signifikant (1,34 ng/ml bzw. 2,07 ng/ml, Tab. 3.8).

Die Konzentration des Monozyten-Markers MCP-1 ist im Liquor von HIV-Patienten mit HAART mit 1043 pg/ml etwas geringer als in HIV-Patienten ohne HAART (1197 pg/ml, Tab. 3.8), jedoch nicht statistisch signifikant. suPAR im Liquor ist in Patienten mit antiretroviralen Medikamenten ebenso wie bei MCP-1 etwas niedriger als in Therapie-naiven HIV-Patienten (0,57 bzw. 0,89 ng/ml, Tab. 3.8).

Tab. 3.8: MCP-1-, sCD14- und suPAR-Konzentrationen im Plasma bzw. Liquor von deutschen Therapie-naiven HIV-Patienten und Patienten mit antiretroviraler Therapie.

	HIV, ohne HAART	HIV, mit HAART
MCP-1 Plasma [pg/ml]	305,9 ± 47,9	380,9 ± 58,6
sCD14 Plasma [µg/ml]	1,19 ± 0,07	1,13 ± 0,05
suPAR Plasma [ng/ml]	2,07 ± 0,61	1,34 ± 0,19
MCP-1 Liquor [pg/ml]	1197 ± 168	1043,0 ± 74,5
suPAR Liquor [ng/ml]	0,89 ± 0,19	0,57 ± 0,07

Es sind die Mittelwerte ± SEM angegeben. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant (Mann Whitney *U* Test für nicht-normalverteilte Werte). HIV-Patienten ohne HAART: n = 18 – 31, HIV-Patienten mit HAART: n = 32 – 53.

Die Plasma-suPAR-Konzentration korreliert mit der CD4⁺-Zellzahl und der Viruslast

Die Konzentration der Immunmarker ist in deutschen HIV-Patienten und nicht-Infizierten zwar nicht signifikant verändert, dennoch wurde ein möglicher Zusammenhang der Immunmarker mit Markern für die Progression der HIV-Infektion analysiert. HIV-Patienten mit einer geringeren CD4⁺-Zellzahl haben eine signifikant höhere suPAR-Konzentration im Plasma (Abb. 3.15 A). Auch HAART-naive HIV-Patienten zeigen eine signifikante Assoziation von suPAR mit der CD4⁺-Zellzahl; Patienten, die antiretroviral therapiert werden, weisen mit steigender suPAR-Konzentration tendenziell ebenso geringere CD4⁺-Lymphozytenzahlen auf (Tab. 3.9). Zusätzlich ist suPAR in deutschen HIV-Patienten signifikant mit der Viruslast assoziiert (Abb. 3.15 B). In Patienten ohne HAART dagegen korreliert suPAR nicht mit der Viruslast, vermutlich aufgrund der kleinen Stichprobengröße (Tab. 3.9). Die signifikante Korrelation von Viruslast mit der Plasma-suPAR-Konzentration ist auch in HIV-Patienten unter HAART erkennbar (Tab. 3.9). suPAR ist somit ein guter Marker für den Krankheitsverlauf der HIV-Infektion. Auch Patienten mit neuropsychiatrischen Störungen haben signifikant höhere Plasma-suPAR-Konzentrationen als neuropsychiatrisch unauffällige HIV-Patienten (Abb. 3.15 C). suPAR im Plasma von HIV-

Patienten ist zudem mit suPAR im Liquor assoziiert (Abb. 3.15 D). In HIV-Patienten mit und ohne HAART sind die suPAR-Konzentrationen nicht mit dem HDS-Score assoziiert (Tab. 3.9). In HAART-naiven HIV-Patienten ist ebenso ein Trend erkennbar, dass mit steigender suPAR-Konzentration im Plasma auch die suPAR-Konzentration im Liquor erhöht ist (Tab. 3.9).

suPAR im Liquor korreliert überdies invers mit der CD4⁺-Zellzahl (Tab. 3.10), mit der Viruslast im Blut und tendenziell mit der Viruslast im Liquor ($r^2 = 0,06028$, $p = 0,0609$, Tab. 3.10). Dagegen korrelieren sCD14 und MCP-1 nicht mit dem Verlauf der HIV-Infektion siehe Tab. 3.10).

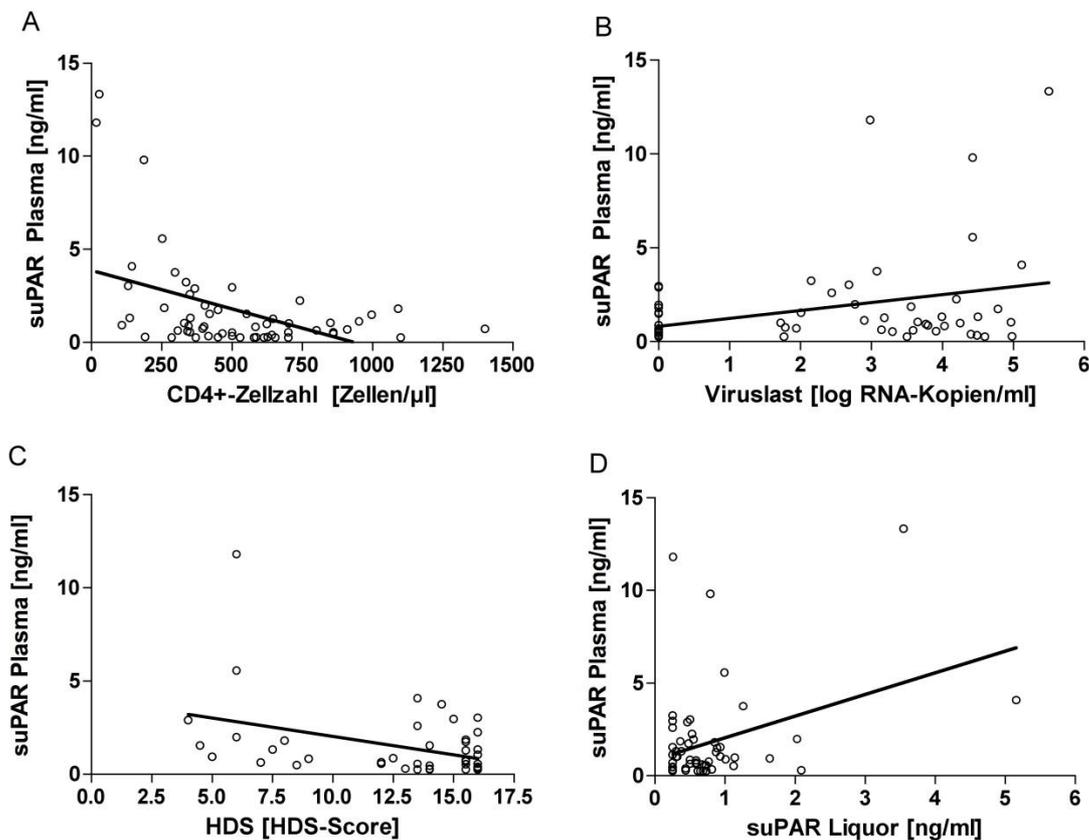


Abb. 3.15: Korrelation der suPAR-Konzentration mit der CD4⁺-Zellzahl, der Viruslast und dem HDS-Score in deutschen HIV-Patienten. **A:** Korrelation der suPAR-Konzentration mit der CD4⁺-Zellzahl, $p = 0,0003$, $r^2 = 0,2083$, $n = 58$. **B:** Korrelation der suPAR-Konzentration mit der Viruslast, $p = 0,0187$, $r^2 = 0,09646$, $n = 57$. **C:** Korrelation der suPAR-Konzentration mit dem HDS-Score, $p = 0,0061$, $r^2 = 0,1555$, $n = 47$. Lineare Regression nach Spearman. suPAR: *soluble urokinase plasminogen activator receptor*, HDS: HIV-Demenz Skala. **D:** Korrelation der suPAR-Konzentration im Plasma mit der suPAR-Konzentration im Liquor, $p = 0,0049$, $r^2 = 0,1331$, $n = 58$.

Tab. 3.9: Korrelation der suPAR-Konzentration im Plasma deutscher HIV-Patienten mit und ohne HAART mit der CD4⁺-Zellzahl, der Viruslast, dem HDS-Score und der suPAR-Konzentration im Liquor.

Korrelation suPAR mit	HIV, ohne HAART	HIV, mit HAART
CD4 ⁺ -Zellzahl	r² = 0,2798, p = 0,0032	r ² = 0,1233, p = 0,0571
Log Viruslast	r ² = 0,05317, ns	r² = 0,1966, p = 0,0104
HDS-Score	r ² = 0,1813, p = 0,0612	r ² = 0,09635, ns
suPAR Liquor	r ² = 0,1464, p = 0,0537	r ² = 0,003714, ns

Lineare Regression nach Spearman. Es sind die Korrelationskoeffizienten (r²) und die p-Werte angegeben. ns = nicht signifikant. HIV-Patienten ohne HAART: n = 20 – 29. HIV-Patienten mit HAART: n = 27 – 32.

Tab. 3.10: Korrelationen von sCD14, MCP-1 und suPAR mit der CD4⁺Zellzahl, der Viruslast und dem HDS-Score in deutschen HIV-Patienten.

	CD4 ⁺ -Zellzahl	logVL	HDS-Score	LogVL CSF
MCP-1 Plasma	r ² = 0,00653, ns	r ² = 0,00529, ns	r ² = 0,00082, ns	r ² = 0,00703, ns
sCD14 Plasma	r ² = 0,05122, p = 0,0848	r ² = 0,06126, p = 0,0610	r ² = 0,01789, ns	r ² = 0,03112, ns
suPAR Plasma	Siehe Abb. 3.15			r ² = 0,04873, p = 0,0959
MCP-1 Liquor	r ² = 0,00419, ns	r ² = 0,003247, ns	r ² = 0,004072, ns	r ² = 0,01514, ns
suPAR Liquor	r² = 0,0899, p = 0,0213	r² = 0,06667, p = 0,0504	r ² = 0,01044, ns	r ² = 0,06028, p = 0,0609

Lineare Regression nach Spearman. Es sind die Korrelationskoeffizienten (r²) und die p-Werte angegeben. n = 48 – 71.

MCP-1 im Liquor korreliert in deutschen HIV-Patienten mit suPAR im Liquor

In deutschen HIV-Patienten besteht kein Zusammenhang zwischen den Plasmakonzentrationen der Immunmarker MCP-1, sCD14 und suPAR, allerdings korreliert suPAR im Liquor mit MCP-1 im Liquor (Tab. 3.11).

Tab. 3.11: Korrelationen der verschiedenen Immunmarker untereinander in deutschen HIV-Patienten.

	MCP-1 Plasma	sCD14 Plasma	suPAR Plasma	MCP-1 Liquor	suPAR Liquor
MCP-1 Plasma	-	r ² = 0,00302, ns	r ² = 0,00944, ns	r ² = 0,02422, ns	r ² = 0,00622, ns
sCD14 Plasma		-	r ² = 0,01013, ns	r ² = 0,07584, p = 0,0640	r ² = 0,01201, ns
suPAR Plasma			-	r ² = 0,07808, p = 0,063,	siehe Abb. 3.14
MCP-1 Liquor				-	r² = 0,47280, p = 0,0001
suPAR Liquor					-

Lineare Regression nach Spearman. Es sind die Korrelationskoeffizienten (r²) und die p-Werte angegeben. n = 45 – 72.

3.3.2 Immunaktivierung in südafrikanischen HIV-Patienten

Die T-Zell-Aktivierung und die Konzentrationen von MCP-1, sCD14 und suPAR sind in südafrikanischen HIV-Patienten im Vergleich zu nicht-infizierten Personen erhöht

Südafrikanische HIV-Patienten haben im Vergleich zu nicht-infizierten Personen eine hochsignifikant stärkere Aktivierung von $CD8^+$ -Zellen (Abb. 3.16 A). Auch der Entzündungsmarker suPAR ist in HIV-Patienten im Gegensatz zu nicht-infizierten Individuen signifikant erhöht (Abb. 3.16 B). Dies gilt ebenso für die Marker der Monozyten-Aktivierung sCD14 und MCP-1 (Abb. 3.16 C und D). Im Gegensatz dazu unterscheidet sich der immunsuppressive Faktor RANTES in nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen nicht. Im Gegensatz dazu unterscheidet sich der immunsuppressive Faktor RANTES in nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen nicht (Abb. 3.16 E).

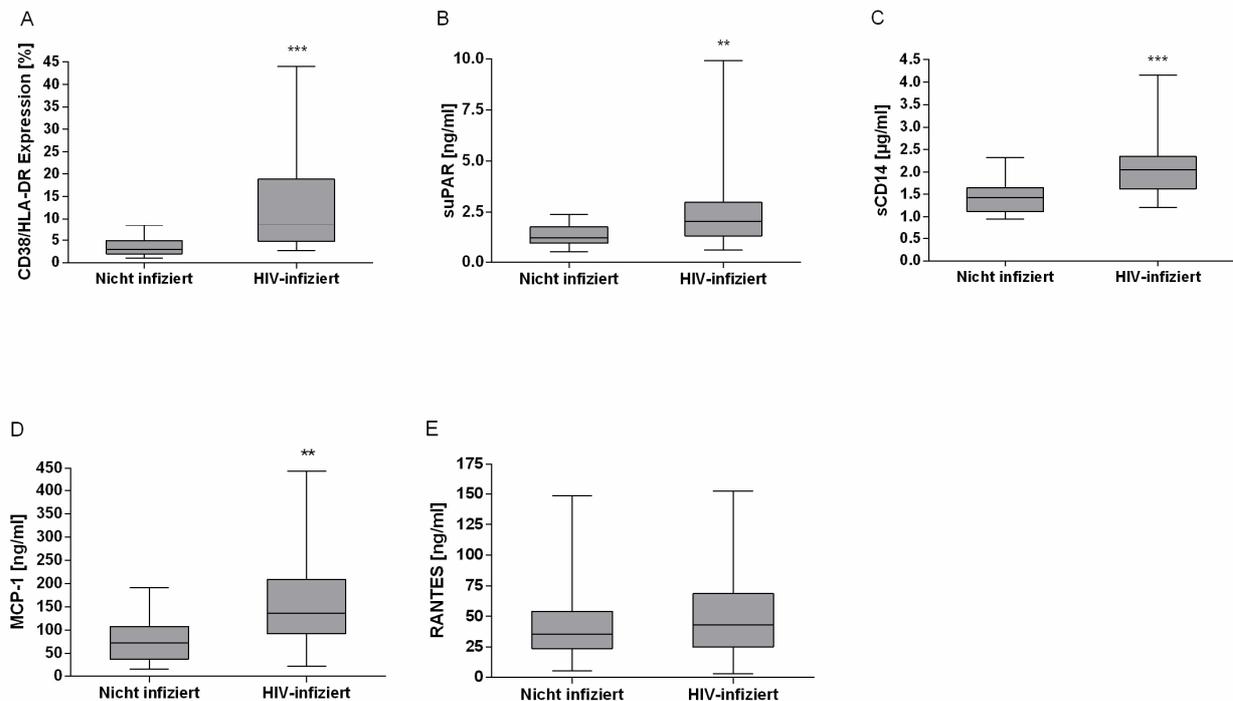


Abb. 3.16: T-Zell-Aktivierung und Plasmakonzentrationen von suPAR, sCD14, MCP-1 und RANTES in südafrikanischen nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen. **A:** CD38/HLA-DR-Expression auf $CD3^+CD8^+$ Zellen in nicht-infizierten (n = 18) und HIV-infizierten Personen (n = 42), ***p = 0,0001. **B:** suPAR-Konzentration in nicht-infizierten Personen (n = 13) und HIV-Patienten (n = 57), **p = 0,006. **C:** sCD14-Konzentration in nicht-infizierten (n = 13) und HIV-infizierten Individuen (n = 55), ***p = 0,0004. **D:** MCP-1-Konzentration in nicht-infizierten (n = 14) und HIV-infizierten Personen (n = 54), **p = 0,0014. **E:** RANTES-Konzentration in nicht-infizierten (n = 13) und HIV-infizierten Individuen (n = 47). Die p-Werte zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen. Alle Signifikanz-Tests wurden mit dem Mann Whitney U Test für nicht-normal verteilte Werte durchgeführt. Die Boxplots zeigen den Median, die beiden mittleren Quartile (25 – 75 %) und den gesamten Wertebereich mit dem minimalen und maximalen Wert.

Eine repräsentative Färbung mit α -CD38 und α -HLA-DR im Durchflusszytometer ist in Abb. 3.17 dargestellt. In dieser Arbeit wurden alle CD8⁺-T-Zellen als immunaktiviert gewertet, die gleichzeitig CD38 und HLA-DR zusammen mit CD3 und CD8 auf ihrer Oberfläche exprimieren.

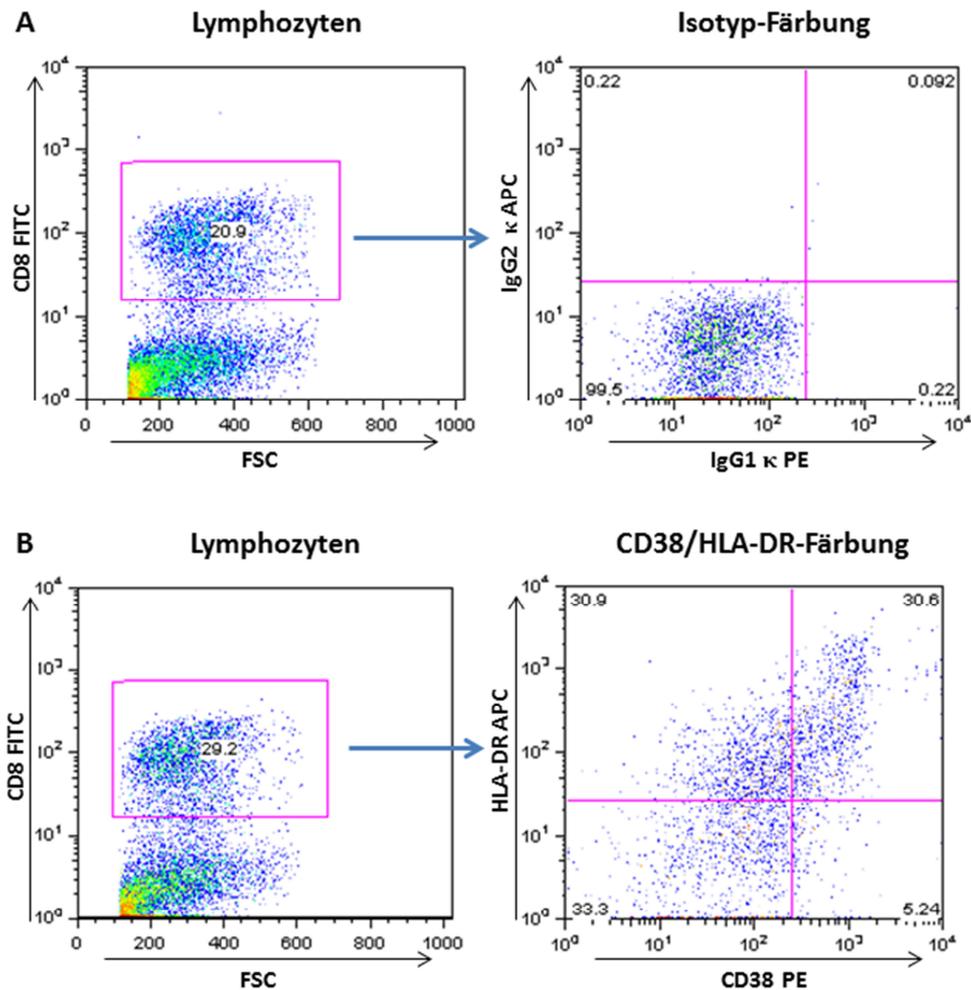


Abb. 3.17: Repräsentative Darstellung einer durchflusszytometrischen Messung der Oberflächen-Expression von CD38/HLA-DR von CD8⁺-Zellen aus peripherem Blut in einem südafrikanischen HIV-Patienten. **A:** Isotyp-Färbung (α -IgG1 κ PE, α -IgG2 κ APC, rechts) von CD8⁺-T-Lymphozyten (links). **B:** CD38/HLA-DR-Färbung (α -CD38 PE, α -HLA-DR APC) von CD8⁺-T-Lymphozyten (links). In dieser Arbeit wurden ausschließlich CD8⁺-T-Zellen als aktiviert betrachtet, die sowohl CD38 als auch HLA-DR auf ihrer Oberfläche exprimieren.

Die T-Zell-Aktivierung ist in südafrikanischen HIV-Patienten mit antiretroviraler Therapie geringer als in Patienten ohne antiretroviraler Therapie

Um den Einfluss von HAART auf die Immunaktivierung in der südafrikanischen Patientenkohorte zu analysieren, wurde die Immunaktivierung in Therapie-naiven HIV-Patienten und Patienten mit HAART verglichen. Die T-Zell-Aktivierung in südafrikanischen

HIV-Patienten unter HAART ist signifikant niedriger als in Therapie-naiven HIV-Patienten (Abb. 3.18).

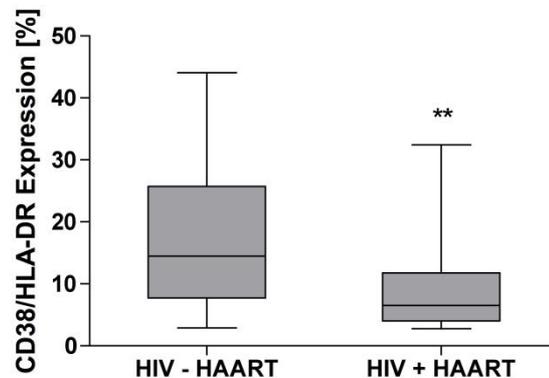


Abb. 3.18: T-Zell-Aktivierung in südafrikanischen HIV-Patienten mit und ohne HAART. CD38/HLA-DR-Expression auf CD3⁺CD8⁺ Zellen in HIV-Patienten ohne HAART (n = 18) und HIV-Patienten mit HAART (n = 23), **p = 0,0066, signifikant unterschiedlich von nicht-therapierten HIV-Patienten, Mann Whitney U Test für nicht-normal verteilte Werte. Die Boxplots zeigen den Median, die beiden mittleren Quartile (25 – 75 %) und den gesamten Wertebereich mit dem minimalen und maximalen Wert.

HIV-Patienten ohne HAART weisen eine MCP-1-Konzentration von 178,0 pg/ml auf, HIV-Patienten mit HAART eine etwas geringere Konzentration (142,7 pg/ml) (Tab. 3.12). Ebenso unterscheidet sich die RANTES-Konzentration im Plasma von HIV-Patienten mit und ohne HAART nicht wesentlich voneinander (44,16 ng/ml und 50,02 ng/ml) (Tab. 3.12). Auch die sCD14-Konzentration der beiden Gruppen ist sehr ähnlich (2,12 µg/ml bzw. 2,02 µg/ml) (Tab. 3.12). Dagegen liegt in Therapie-naiven HIV-Patienten eine geringere suPAR-Plasmakonzentration vor als in HIV-Patienten mit HAART (1,95 ng/ml bzw. 2,7 ng/ml) (Tab. 3.12).

Tab. 3.12: Plasmakonzentrationen von MCP-1, RANTES, sCD14 und suPAR in südafrikanischen Therapie-naiven HIV-Patienten und Patienten unter antiretroviraler Therapie.

	HIV, ohne HAART	HIV, mit HAART
MCP-1 [pg/ml]	178,0 ± 23,77	142,7 ± 15,16
RANTES [ng/ml]	44,16 ± 8,38	50,02 ± 5,60
sCD14 [µg/ml]	2,12 ± 0,22	2,02 ± 0,07
suPAR [ng/ml]	1,95 ± 0,20	2,70 ± 0,30

Es sind die Mittelwerte ± SEM angegeben. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant (Mann Whitney U Test für nicht-normalverteilte Werte). HIV-Patienten ohne HAART: n = 12 – 22, HIV-Patienten mit HAART: n = 28 – 43.

Die T-Zell-Aktivierung korreliert in südafrikanischen HIV-Patienten mit der CD4⁺-Zellzahl und der Viruslast

Um den Zusammenhang zwischen der Immunaktivierung und der Progression der HIV-Infektion zu erfassen, wurden die verschiedenen Marker mit der CD4⁺-Zellzahl und der Viruslast in Verbindung gebracht. Die T-Zell-Aktivierung in südafrikanischen HIV-Patienten korreliert signifikant mit der CD4⁺-Zellzahl, je weniger CD4⁺-Lymphozyten in einem Patienten vorhanden sind, desto höher ist die CD38/HLA-DR-Expression auf Lymphozyten (Abb. 3.19 A). Die signifikante negative Korrelation ist auch in HIV-Patienten, die antiretroviral therapiert werden, zu beobachten (Abb. 3.19 C). In Therapie-naiven HIV-Patienten dagegen ist dieser Trend zwar ebenfalls erkennbar, jedoch ist dieser Trend statistisch nicht signifikant (Abb. 3.19 B). Zusätzlich ist eine positive Korrelation der T-Zell-Aktivierung mit der Viruslast zu erkennen. Diese Korrelation ist sowohl in allen südafrikanischen HIV-Patienten, als auch in nicht-therapierten Patienten und Patienten mit HAART erkennbar (Abb. 3.19 D, E, F).

Zudem korreliert die T-Zell-Aktivierung weder in HIV-Patienten ohne HAART noch in Patienten mit HAART mit dem GDS-Score (ohne HAART: $r^2 = 0,07193$, ns, mit HAART: $r^2 = 0,05761$, ns; eine Korrelation von T-Zell-Aktivierung mit dem IHDS-Score ist nicht vorhanden).

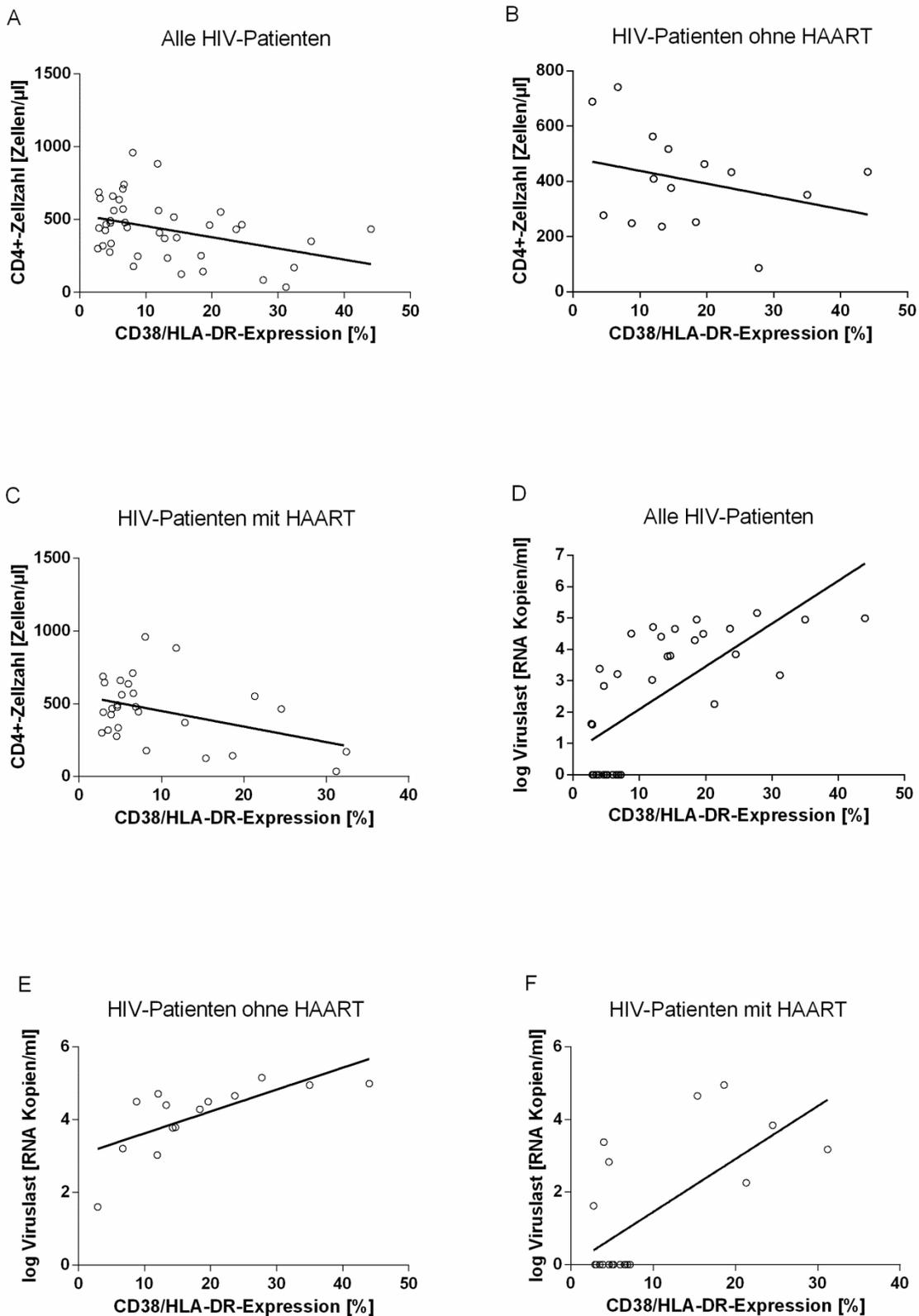


Abb. 3.19: Korrelation der T-Zell-Aktivierung mit der CD4⁺-Zellzahl und der Viruslast in südafrikanischen HIV-Patienten. Korrelation der T-Zell-Aktivierung mit der CD4⁺-Zellzahl in **A** allen HIV-Patienten, $r^2 = 0,1426$, $p = 0,0097$, $n = 46$, **B** Therapie-naiven HIV-Patienten, $r^2 = 0,09101$, $p = 0,2745$, $n = 15$ und **C** HIV-Patienten mit HAART, $r^2 = 0,1651$, $p = 0,0233$; $n = 31$. Korrelation der T-Zell-Aktivierung mit der Viruslast in **D** allen HIV-Patienten, $r^2 = 0,4878$, $p < 0,0001$, $n = 34$, **E** Therapie-naiven HIV-Patienten, $r^2 = 0,4934$, $p = 0,0051$; $n = 14$ und **F** HIV-Patienten mit HAART, $r^2 = 0,4453$, $p = 0,0013$; $n = 20$. In dieser

Arbeit wurden ausschließlich CD8⁺-T-Zellen als positiv gewertet, die sowohl CD38 als auch HLA-DR auf ihrer Oberfläche exprimieren. Lineare Regression nach Spearman mit dem Korrelationskoeffizienten (r^2), dem p-Wert und der Stichprobenanzahl.

In südafrikanischen HIV-Patienten besteht ein Zusammenhang zwischen verschiedenen Immunmarkern und Markern des Krankheitsverlaufs sowie zwischen verschiedenen Immunmarkern untereinander

Die T-Zell-Aktivierung ist zwar signifikant mit der CD4⁺-Zellzahl und der Viruslast assoziiert (Abb. 3.19), hängt jedoch in unserer Kohorte nicht mit den GDS-Scores zusammen (Tab. 3.13). In HIV-Patienten ohne und mit HAART ist ebenso kein Zusammenhang zwischen der T-Zell-Aktivierung und der neuropsychiatrischen Beeinträchtigung vorhanden (ohne HAART: $r^2 = 0,07193$, $p = 0,3539$; $n = 14$, mit HAART: $r^2 = 0,05761$, $p = 0,3081$; $n = 20$).

Die Plasma-Konzentration von MCP-1 ist dagegen in südafrikanischen HIV-Patienten mit der Viruslast assoziiert (Tab. 3.13). Zusätzlich korreliert der immunsuppressive Faktor RANTES mit der IHDS (Tab. 3.13).

Tab. 3.13: Korrelationen der T-Zell-Aktivierung und der Plasmakonzentrationen von MCP-1-, RANTES, sCD14 und suPAR mit der CD4⁺Zellzahl, der Viruslast, dem IHDS- bzw. GDS-Score in südafrikanischen HIV-Patienten.

	CD4 ⁺ -Zellzahl	logVL	IHDS	GDS
CD38/HLA-DR	siehe Abb. 3.19		n.v. ($n = 3$)	$r^2 = 0,02153$, ns
MCP-1	$r^2 = 0,04775$, ns	$r^2 = \mathbf{0,1699}$, $p = \mathbf{0,0067}$	$r^2 = 0,03995$ $p = 0,3982$	$r^2 = 0,02809$, ns
RANTES	$r^2 = 0,04222$, ns	$r^2 = 0,01905$, ns	$r^2 = \mathbf{0,1604}$, $p = \mathbf{0,0426}$	$r^2 = 0,00038$, ns
sCD14	$r^2 = 0,05686$, ns	$r^2 = 0,03591$, ns	$r^2 = 0,05517$, ns	$r^2 = 0,01034$, ns
suPAR	$r^2 = 0,03603$, ns	$r^2 = 0,02173$, ns	$r^2 = 0,000784$, ns	$r^2 = 0,02206$, ns

Lineare Regression nach Spearman. Es sind die Korrelationskoeffizienten (r^2) und die p-Werte angegeben. $n = 20 - 51$.

Die CD8⁺-T-Zell-Aktivierung ist in HIV-Patienten zudem mit der sCD14-Konzentration im Plasma verbunden (Tab. 3.14) und mit der Konzentration von MCP-1 im Plasma (Tab. 3.12). Schließlich korreliert RANTES im Plasma mit MCP-1 von südafrikanischen HIV-Patienten (Tab. 3.14) und ist mit der Konzentration von suPAR assoziiert (Tab. 3.14).

Tab. 3.14: Korrelationen der verschiedenen Immunmarker untereinander in deutschen HIV-Patienten.

	CD38/HLA-DR	MCP-1	RANTES	sCD14	suPAR
CD38/HLA-DR	-	$r^2 = 0,1257$, $p = 0,0465$	$r^2 = 0,1172$, $p = 0,0691$	$r^2 = 0,1423$ $p = 0,0278$	$r^2 = 0,00037$, ns
MCP-1		-	$r^2 = 0,1926$, $p = 0,0023$	$r^2 = 0,02598$, ns	$r^2 = 0,02202$, ns
RANTES			-	$r^2 = 0,06886$, $p = 0,0816$	$r^2 = 0,2188$ $p = 0,0010$,
sCD14				-	$r^2 = 0,02697$, ns
suPAR					-

Lineare Regression nach Spearman. Es sind die Korrelationskoeffizienten (r^2) und die p-Werte angegeben. n = 29 – 55.

3.3.3 Vergleich der Immunaktivierung in Deutschen und Südafrikanern

Deutsche und südafrikanische HIV-Patienten weisen vergleichbare CD4⁺-Zellzahlen auf (Tab. 3.1), dennoch unterschieden sich verschiedene Immunmarker in beiden Kohorten deutlich voneinander. Die MCP-1-Konzentration im Plasma ist in südafrikanischen HIV-Patienten hochsignifikant geringer als in deutschen HIV-Patienten (Abb. 3.20 A). Südafrikanische nicht-infizierte Personen weisen im Vergleich zu deutschen nicht-Infizierten ebenso signifikant weniger MCP-1 auf (Abb.3.20 A). Im Gegensatz dazu ist die sCD14-Konzentration im Plasma südafrikanischer HIV-Patienten signifikant höher als in deutschen HIV-Patienten, die sCD14-Konzentration in nicht-infizierten südafrikanischen Personen ist im Vergleich zu deutschen nicht-Infizierten ebenso erhöht (Abb. 3.20 B). Ebenso ist in südafrikanischen HIV-Patienten die suPAR-Konzentration im Plasma hochsignifikant höher als in deutschen Patienten (Abb. 3.20 C). Dieser Unterschied ist in nicht-infizierten Personen nicht zu erkennen, es sind ähnliche suPAR-Konzentrationen in nicht-infizierten deutschen und südafrikanischen Personen vorhanden (Abb. 3.20 C).

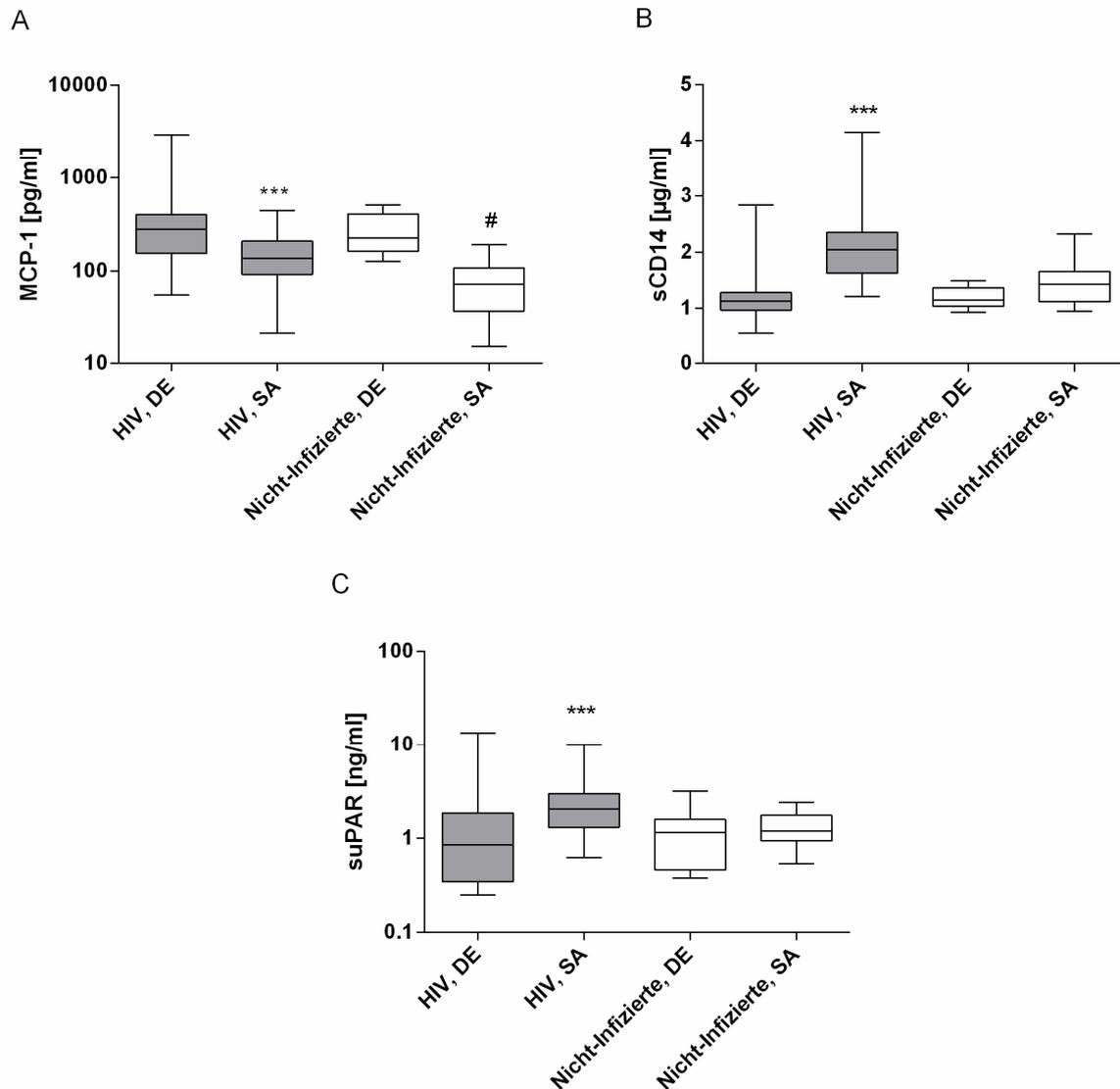


Abb. 3.20: MCP-1, sCD14 und suPAR-Plasmakonzentrationen in deutschen und südafrikanischen HIV-infizierten und nicht-infizierten Personen. **A:** MCP-1-Konzentration in deutschen ($n = 71$) und südafrikanischen HIV-Patienten ($n = 54$) und in deutschen ($n = 5$) und südafrikanischen nicht-Infizierten ($n = 14$). $***p < 0,0001$, signifikant unterschiedlich von deutschen HIV-Patienten, $\#p < 0,05$, signifikant unterschiedlich im Vergleich zu deutschen nicht-Infizierten, Kruskal-Wallis Test für nicht normal-verteilte Werte mit Dunn's multiple comparison test. **B:** sCD14-Konzentration in deutschen ($n = 61$) und südafrikanischen HIV-Patienten ($n = 55$) und in deutschen ($n = 13$) und südafrikanischen nicht-infizierten Personen ($n = 13$). $***p < 0,0001$, signifikant unterschiedlich von deutschen HIV-Patienten, Kruskal-Wallis Test für nicht normal-verteilte Werte mit Dunn's multiple comparison test. **C:** suPAR-Konzentration in deutschen ($n = 63$) und südafrikanischen HIV-Patienten ($n = 57$) und in deutschen ($n = 15$) und südafrikanischen nicht-infizierten Personen ($n = 13$), $***p < 0,0001$, signifikant unterschiedlich im Vergleich zu deutschen HIV-Patienten, Kruskal-Wallis Test für nicht normal-verteilte Werte mit Dunn's multiple comparison test. DE: Deutschland. SA: Südafrika. Die Boxplots zeigen den Median, die beiden mittleren Quartile (25 – 75 %) und den gesamten Wertebereich mit dem minimalen und maximalen Wert.

3.3.4 Immunaktivierung in *Echinococcus* und *Schistosoma*-koinfizierten südafrikanischen HIV-Patienten

Die erhöhte Immunaktivierung in Südafrikanern könnte u.a. durch eine (Ko-) Infektion mit Parasiten hervorgerufen werden. Deshalb wurde Plasma von südafrikanischen Personen auf die Erreger *Echinococcus multilocularis*, *E. granulosus* und *Schistosoma mansoni* untersucht. 21,4 % (3 von 14) der nicht-Infizierten sind mit dem Bandwurm *Echinococcus* infiziert, 14,3 % (2 von 14) haben eine *Schistosoma*-Infektion. Keiner der nicht-infizierten Individuen trägt gleichzeitig beide Parasiten. Von den HIV-Patienten haben ca. 41 % (18 von 44) Echinokokken und nur knapp 2 % (1 von 55) den Plattwurm *Schistosoma*. Zudem ist ebenso kein HIV-Patient Träger beider Parasiten zugleich.

Die T-Zell-Aktivierung unterscheidet sich in HIV-Patienten mit und ohne *Echinococcus*-Koinfektion nicht. Patienten ohne *Echinococcus*-Ko-Infektion haben durchschnittlich eine CD8⁺-T-Zell-Aktivierung von 14,8 %, wobei 10,8 % der CD8⁺-Zellen von HIV-Patienten mit *Echinococcus*-Ko-Infektion aktiviert sind (Tab. 3.15). Auch die Immunaktivierung hinsichtlich MCP-1 ist in beiden Patientengruppen vergleichbar, es sind 154,3 pg/ml bzw. 135,1 pg/ml MCP-1 im Plasma von HIV-Patienten ohne bzw. mit *Echinococcus*-Koinfektion vorhanden (Tab. 3.15). Die RANTES-Konzentration in HIV-Patienten ohne und mit *Echinococcus*-Koinfektion ebenso nicht signifikant unterschiedlich (44,6 ng/ml und 53,2 ng/ml, Tab. 3.15). Zusätzlich ist die Konzentration von sCD14 in beiden Patientengruppen sehr ähnlich, wobei HIV-Patienten ohne Parasiten-Koinfektion 2,14 µg/ml sCD14 im Plasma und *Echinococcus*-koinfizierte HIV-Patienten eine sCD14-Konzentration von 2,0 µg/ml aufweisen (Tab. 3.15). Die Konzentration von suPAR ist in *Echinococcus*-positiven HIV-Patienten etwas höher als in *Echinococcus*-negativen HIV-Patienten (2,2 ng/ml bzw. 2,9 ng/ml). Da nur ein HIV-Patient mit *Schistosoma* infiziert war, können keine Rückschlüsse auf die Immunaktivierung gezogen werden.

Tab. 3.15: T-Zell-Aktivierung und Plasmakonzentrationen von MCP-1, RANTES, sCD14 und suPAR in südafrikanischen HIV-Patienten mit und ohne *Echinococcus*-Koinfektion.

	HIV-infiziert, nicht <i>Echinococcus</i>-infiziert	HIV-infiziert und <i>Echinococcus</i>-infiziert
CD38⁺/HLA-DR⁺ [%]	14,75 ± 2,90	10,82 ± 2,47
MCP-1 [pg/ml]	154,3 ± 19,69	135,1 ± 16,78
RANTES [ng/ml]	44,64 ± 7,17	53,21 ± 6,17
sCD14 [µg/ml]	2,14 ± 0,14	2,01 ± 0,13
suPAR [ng/ml]	2,22 ± 0,29	2,90 ± 0,56

Es sind die Mittelwerte ± SEM angegeben. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant (Mann Whitney *U* Test für nicht-normalverteilte Werte, *t* Test für normal-verteilte Werte). Nicht-*Echinococcus*-infiziert: n = 17 – 26), *Echinococcus*-infiziert: n = 13 – 18.

3.3.5 Antiretrovirale Resistenzen in therapierten HIV-Patienten

Bei 14 von 37 (37,8 %) südafrikanischen HIV-Patienten unter antiretroviraler Therapie ist die Plasma-Viruslast nicht supprimiert. 64,3 % dieser Patienten mit detektierbarer Viruslast (9 von 14) haben eine Viruslast über 1000 RNA Kopien/ml (virologische Versager). Um den Grund für die hohe Viruslast trotz HAART herauszufinden, wurde eine Resistenzbestimmung des HI-Virus durchgeführt, um das Ansprechen auf antiretrovirale Medikamente abschätzen zu können. Es wurden Gene der Protease- (PR) und der reversen Transkriptase (RT) sequenziert. In 62 % (8 von 13) konnte HIV amplifiziert und sequenziert werden. 5 von 8 (62,5 %) dieser Patienten tragen ein HI-Virus mit einer Resistenz-assoziierten Mutation gegen nicht-nukleosidische reverse Transkriptase-Inhibitoren (NNRTI), wobei das Virus eines Patienten zusätzlich eine Resistenz-assoziierte Mutation gegen einen nukleosidischen reverse Transkriptase-Inhibitor (NRTI) aufweist (Tab. 3.16). Ein weiterer Patient hat eine geringfügige Resistenz gegen einen Proteaseinhibitor (PI), die aber die Wirksamkeit von Medikamenten nicht beeinflusst (Tab. 3.16). Zwei der Patienten tragen keine Resistenz-assoziierte Mutationen. Vier von fünf Patienten (80 %) mit einer Resistenz-assoziierten Mutation haben mindestens eine *high-level* Resistenz (Tab. 3.16).

Tab. 3.16: Resistenz-assoziierte Mutationen von HIV in virologischen Versagen (Viruslast > 1000 Kopien/ml).

Patient	PI-Resistenz	NRTI-Resistenz	NNRTI-Resistenz
Patient 1, Subtyp C	-	-	K103N (NFV, EFR, NVR)
Patient 2 Subtyp N/A	L10I (geringfügige Resistenz)	-	-
Patient 3 Subtyp C	L10I (geringfügige Resistenz)	-	K103N (EFR, NVR)
Patient 4 Subtype C	-	-	K103N (EFR, NVR)
Patient 5 Subtyp C	-	-	A98G (NVR)
Patient 6 Subtyp N/A	-	M184I (ABC, DDI, FTC, 3TC)	A98G, Y181C (EFR, ETR, NVR, RPV)

Die Buchstaben und Zahlen geben die Aminosäure vor und nach der Mutation mit der Position an. Die Abkürzungen in Klammern kennzeichnen die betroffenen Medikamente. Medikamente in rot kennzeichnen *high-level* Resistenzen, intermediate (mittel-schwere) Resistenzen sind blau dargestellt, low-level (geringfügige/unbedeutende) Resistenzen sind grün dargestellt. A: Alanin, C: Cystein, G: Glycin, I: Isoleucin; K: Lysin, L: Leucin, M: Methionin, N: Asparagin, Y: Tyrosin. ABC: Abacavir, ddI: Didanosin, EFR: Evafirenz, ETR: Etravirin, FTC: Emtricitabin, NFV: Nelfinavir, NVR: Nevirapin, RPV: Rilpivirin, 3TC: Lamivudin,

3.3.6 Genetische Polymorphismen bei Chemokinen und Chemokin-Rezeptoren

Genotypisierung von HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen

Um den möglichen Einfluss des genetischen Hintergrunds von Chemokin-Rezeptoren und -Liganden zu analysieren, wurden genetische Polymorphismen von nicht-infizierten und HIV-infizierten südafrikanischen Personen bestimmt. Die untersuchten genetischen Polymorphismen waren CCR5 Δ 32, MCP-1-2518A→G, RANTES Int1.1T→C und RANTES-403G→A. Die Fragmentlängen der amplifizierten Gene sind in Abb. 3.21 abgebildet.

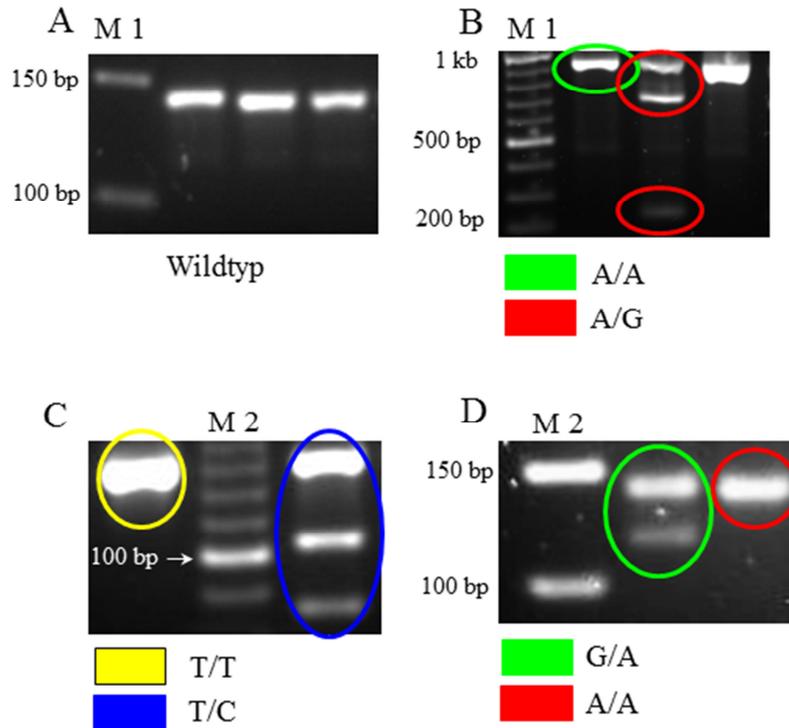


Abb. 3.21: Fragmentlängen der amplifizierten Allele der CCR5-, MCP-1-2518-, RANTES Int1.1- und RANTES-403G/A-Polymorphismen. Es sind die Fragmentlängen der CCR5- (A), MCP-1- (B), RANTES Int1.1- (C) und RANTES -403G/A-Polymorphismen (D) dargestellt. **A:** Der WT-Genotyp des CCR5-Polymorphismus hat 182 bp, beim Auftreten der 32 bp-Deletion entsteht würde eine 150 bp-Bande entstehen. **B:** Der A/A-Genotyp des MCP-1-2518A→G Polymorphismus besteht aus einem 929 bp-Fragment (grün markiert), das A/G-Allel besteht aus den Fragmenten der Längen 929 bp, 707 bp und 222 bp (rot markiert). **C:** Der T/T-Genotyp des RANTES Int1.1-Polymorphismus zeigt eine 343 bp-Bande (gelb markiert), das T/C-Allel beinhaltet Fragmente der Längen 343 bp, 213 bp und 130 bp (blau markiert) und das C/C-Allel beinhaltet ein 213 bp- und ein 130 bp-Fragment (nicht dargestellt). **D:** Der RANTES-403-Polymorphismus besteht entweder aus dem G/G-, dem G/A- oder dem A/A-Allel. Der G/G-Genotyp besteht aus einem 112 bp-Fragment, der G/A-Genotyp zeigt ein 135 bp- und ein 112 bp-Fragment (grün markiert), der Genotyp A/A besteht aus 135 bp (rot markiert). Es ist jeweils ein repräsentatives Ergebnis der Auftrennung der Fragmente in einem Agarose-Gel gezeigt. Die DNA wurde mit Gelred gefärbt. M 1 = DNA-Marker: GeneRuler DNA ladder Mix (100 bp – 10 kb). M 2 = O’Range Ruler 50 bp DNA ladder (50 bp – 1 kb).

Die Allelhäufigkeiten der CCR5 Δ 32-, MCP-1-2518-, RANTES Int1.1- und RANTES-403-Polymorphismen unterscheiden sich in südafrikanischen HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen nicht

Es wurden keine Unterschiede in der Allelhäufigkeit zwischen HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen festgestellt. Der bekannteste Polymorphismus im Zusammenhang mit der HIV-Infektion, eine 32 bp-Deletion im CCR5-Chemokinrezeptor, tritt in der analysierten Kohorte nicht auf. Im MCP-1-2518A→G-Polymorphismus treten in Südafrikanern zwei Genotypen auf, A/A und A/G. Der A/A-Genotyp des MCP-1-Polymorphismus tritt in 52 % der nicht-infizierten Personen auf und in 63 % der HIV-Patienten (Tab. 3.17). Auch sind ungefähr gleich viele nicht-infizierte Personen und HIV-Patienten homozygot für T im

RANTES Int1.1T→C-Polymorphismus, nämlich 63 % der nicht-infizierten Personen und 55,5 % der HIV-Patienten (Tab. 3.17). Im RANTES-403G→A-Polymorphismus können die Genotypen A/A, A/G und G/G auftreten. Mit 5 % sind südafrikanische nicht-Infizierte ähnlich häufig homozygot für das A/A-Allel wie HIV-infizierte Personen (4 %) (Tab. 3.17). Lineare Regressions-Analysen, die in Bezug auf Alter und Geschlecht angeglichen waren, detektierten keinen Unterschied der Allelhäufigkeiten zwischen nicht-Infizierten und HIV-Patienten.

Tab. 3.17: Allelhäufigkeiten der CCR5Δ32-, MCP-1-2518-, RANTES Int1.1- und RANTES-403-Polymorphismen in südafrikanischen nicht-infizierten Personen und HIV-Patienten.

Polymorphismus	Allel	Nicht-Infiziert % (n)	HIV-Infiziert % (n)
CCR5Δ32	182 bp	100 % (19)	100 % (54)
	150 bp	-	-
MCP-1-2518A→G (CCL2)	A/A	52 % (10)	63 % (34)
	A/G	48 % (9)	37 % (20)
	G/G	-	-
RANTES-Int1.1T→C (CCL5)	T/T	63 % (12)	55,5 % (30)
	T/C	32 % (6)	39 % (21)
	C/C	5 % (1)	5,5 % (3)
RANTES-403G→A (CCL5)	G/G	63 % (12)	46 % (25)
	A/G	32 % (6)	50 % (27)
	A/A	5 % (1)	4 % (2)

Angegeben sind die Allelhäufigkeiten in Prozent und in Klammern die Zahl der jeweiligen Allel-Träger. Es wurde kein signifikanter Unterschied detektiert, Exakter Fisher Test.

Der Polymorphismus RANTES-403G→A ist in Südafrikanern funktionell, kein Nachweis der Funktionalität des RANTES Int1.1- und MCP-1-2518A→G-Polymorphismus

Der CCR5Δ32-Polymorphismus führt zu einer Konformationsänderung des Korezeptors und schützt homozygote Träger vor der sexuellen Transmission von HIV (Liu *et al.*, 1996). In den analysierten Patienten und nicht-Infizierten kommt diese Deletion nicht vor (Tab. 3.17).

Die Genotypen G/G oder G/A an der Stelle -2518 des *mcp-1*-Gens führen nach IL-1β-Stimulation von PBMCs zu einer erhöhten Produktion von MCP-1 im Gegensatz zum Genotyp A/A (Rovin *et al.*, 1999). Die MCP-1-Konzentration ist in HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen mit dem Genotyp A/G im Gegensatz zu A/A sehr vergleichbar (Abb. 3.22). Dasselbe gilt für HIV-Patienten; die MCP-1-Konzentrationen sind in Patienten

mit verschiedenen Genotypen ähnlich, ein funktioneller Nachweis für den MCP-1-Polymorphismus konnte somit nicht erbracht werden (Abb. 3.22). Die CD4⁺-Zellzahl ist in HIV-Patienten mit dem A/A-Genotyp mit 430,4 Zellen/ μ l etwas höher als in HIV-Patienten mit anderen Genotypen (370,0 Zellen/ μ l), ebenso ist die Viruslast in A/A-Trägern mit 43122 HIV-Kopien/ml höher als in HIV-Patienten mit mindestens einem G-Allel (33691, Tab. 3.18). Patienten mit dem A/A-Genotyp zeigen in neuropsychiatrischen Tests zudem einen fast doppelt so hohen GDS-Score wie Patienten mit anderen MCP-1-Genotypen (0,25 bzw. 0,13, siehe unten, Tab. 3.18).

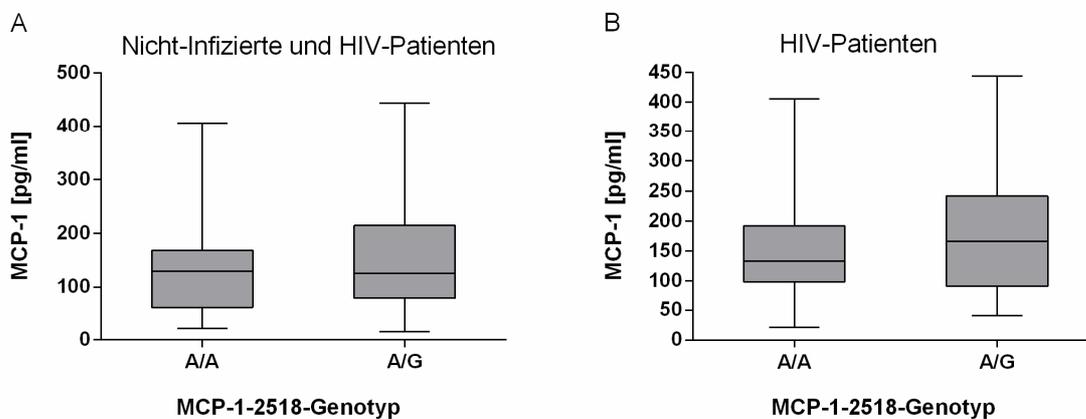


Abb. 3.22: Plasmakonzentration von MCP-1 in Südafrikanern mit verschiedenen Genotypen des MCP-1-2518A→G-Polymorphismus. A: MCP-1-Konzentration in nicht-infizierten und HIV-infizierten Südafrikanern mit den Genotypen A/A (n = 35) und A/G (n = 22). **B:** MCP-1-Konzentration in südafrikanischen HIV-Patienten mit den Genotypen A/A (n = 27) und A/G (n = 16). Die Boxplots zeigen den Median, die beiden mittleren Quartile (25 – 75 %) und den gesamten Wertebereich mit dem minimalen und maximalen Wert.

RANTES bindet an den Korezeptor CCR5. Das C-Allel des RANTES Int1.1T→C-Polymorphismus führt zu einer geringeren RANTES-Transkription und dadurch zu einer erhöhten Ausbreitung von HIV (An *et al.*, 2002). Homozygote Personen (Int1.1C/C) bzw. HIV-Patienten mit diesem Genotyp weisen weniger RANTES im Plasma auf als Personen mit anderen Genotypen (Abb. 3.23 A bzw. B), aufgrund der kleinen Stichprobengröße können jedoch keine Rückschlüsse auf die Funktionalität dieses Polymorphismus gezogen werden. Ebenso können mögliche Unterschiede bezüglich der CD4⁺-Zellzahlen, der Viruslast und der IHDS- und GDS-Scores nicht ausgewertet werden (Tab. 3.18). Als Risiko-Genotyp werden im Kapitel Immunaktivierung Genotypen bezeichnet, die die Konzentration von Zytokinen oder Chemokinen erhöhen bzw. wenn diese Genotypen in der Literatur als Risiko-Genotypen bezeichnet werden.

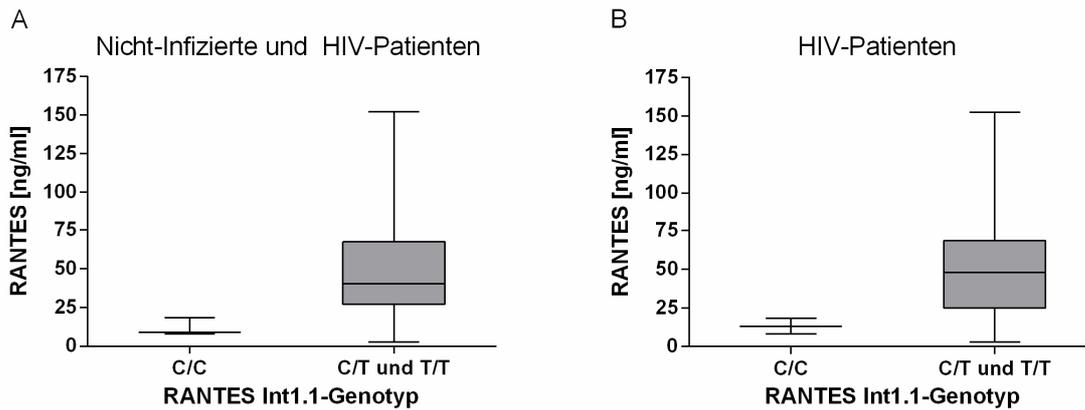


Abb. 3.23: Plasmakonzentration von RANTES in Südafrikanern mit verschiedenen Genotypen des RANTES Int1.1T→C-Polymorphismus. **A:** RANTES-Konzentration in nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen mit dem Risiko-Genotyp C/C (n = 3) und dem C/T und T/T-Genotyp (n = 47). **B:** RANTES-Konzentration in HIV-Patienten mit Risiko-Genotyp C/C (n = 2) und dem C/T und T/T-Genotyp (n = 35). Aufgrund der kleinen Stichprobenanzahl wurde auf einen Signifikanztest verzichtet. Die Boxplots zeigen den Median, die beiden mittleren Quartile (25 – 75 %) und den gesamten Wertebereich mit dem minimalen und maximalen Wert.

In vitro führt Adenin an Stelle -403 des RANTES-403G→A-Polymorphismus zu einer erhöhten Transkription von RANTES (Nickel *et al.*, 2000). In südafrikanischen Personen, die homozygot für A sind, ist die RANTES-Konzentration signifikant geringer als in Personen mit den anderen beiden Genotypen A/G und G/G (Abb. 3.24 A). HIV-Patienten mit dem Risiko-Genotyp A/A weisen ebenso signifikant weniger RANTES im Plasma auf als HIV-Patienten mit anderen Genotypen (Abb. 3.24 B). Personen mit verschiedenen Genotypen des RANTES-403-Polymorphismus haben eine sehr vergleichbare CD4⁺-Zellzahl (405,0 und 409,5 Zellen/ μ l) (Tab. 3.18). Die Viruslast der Patienten mit dem Risiko-Genotyp weisen jedoch 29067 HIV RNA Kopien/ml auf, während Patienten mit dem A/G und G/G-Genotyp eine höhere Viruslast zeigen (49102 Kopien/ml, Tab. 3.18). Dagegen schneiden HIV-Patienten mit dem A/A-Genotyp im Vergleich zu Patienten mit mindestens einem G-Allel schlechter in neuropsychologischen Tests ab (0,28 und 0,14), die Unterschiede sind statistisch jedoch nicht signifikant (Tab. 3.18).

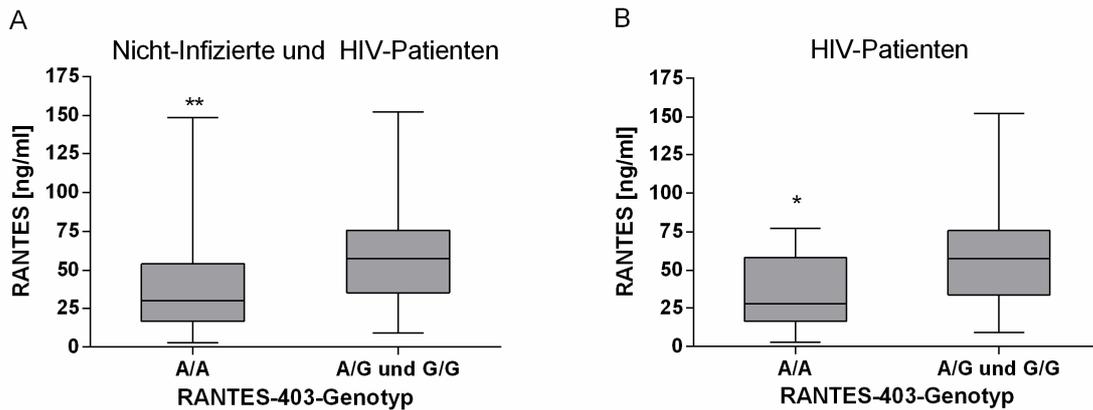


Abb. 3.24: Plasmakonzentration von RANTES in Südafrikanern mit verschiedenen Genotypen des RANTES-403G→A-Polymorphismus. **A:** RANTES-Konzentration in Personen mit dem Risiko-Genotyp A/A (n = 29) und dem A/G und G/G-Genotyp (n = 29), **p = 0,0063. **B:** RANTES-Konzentration in HIV-Patienten mit Risiko-Genotyp A/A (n = 20) und dem A/G und G/G-Genotyp (n = 17), *p = 0,0142, Mann Whitney U Test für nicht normal-verteilte Werte. Die Boxplots zeigen den Median, die beiden mittleren Quartile (25 – 75 %) und den gesamten Wertebereich mit dem minimalen und maximalen Wert.

Tab. 3.18: Assoziation des MCP-1-2518-, RANTES Int1.1- und RANTES-403-Polymorphismus mit der CD4⁺Zellzahl, der Viruslast und dem IHDS/GDS-Score in südafrikanischen HIV-Patienten.

		CD4 ⁺ -Zellzahl [Zellen/ μ l]	Viruslast [RNA- Kopien/ml Blut]	IHDS-Score/ GDS-Score
MCP-1- 2518A→G	A/A	430,4 ± 38,9	43122 ± 31929	10,0 ± 0,50 0,25 ± 0,1
	A/G und G/G	370,0 ± 73,3	33691 ± 12532	9,21 ± 0,78 0,13 ± 0,08
RANTES Int1.1T→C	C/C	362,7 ± 70,9	13508 ± 6564	n.v. 0,02 ± 0,02
	C/T und T/T	410,3 ± 38,8	40958 ± 21401	9,69 ± 0,60 0,23 ± 0,07
RANTES- 403G→A	A/A	405,0 ± 35,46 (n =	29067 ± 10739	8,0 ± 0,0 0,28 ± 0,11
	A/G und G/G	409,5 ± 61,46	49102 ± 37860	9,93 ± 0,63 0,14 ± 0,08

Es sind die Mittelwerte ± die SEM sowie die Zahl der Patienten mit dem Merkmal in Klammern. HAND-Patienten wurden mit der IHDS bzw. der GDS identifiziert. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant (Mann Whitney U Test für nicht-normalverteilte Werte bzw. Exakter Fisher Test). Beim RANTES Int1.1-Polymorphismus wurde der Risiko-Genotyp C/C nicht mit den Genotypen C/T und T/T verglichen, da nur zwei Patienten diesen Genotyp besitzen (stattdessen wurde der C/C-Genotyp dem C/T-Genotyp zusammengefasst). MCP-1-2518: n (A/A) = 25 – 31 bzw. IHDS-Score: n = 2, n (A/G und G/G) = 12 – 19 bzw. IHD-Score: n = 7. RANTES Int1.1: n (C/C) = 2 – 3, n (C/T und T/T) = 34 – 47 bzw. IHDS-Score: n = 8. RANTES-403: n (A/A) = 19 – 23 bzw. IHDS-Score: n = 1. n (A/G und G/G) = 18 – 27 bzw. IHDS-Score: n = 7. n.v.: nicht vorhanden.

4 DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurden die Auswirkungen von Dopamin und Faktoren, die die dopaminerge Neurotransmission beeinflussen, auf die HIV-Infektion und der damit verbundenen Immunaktivierung analysiert. Eine Dysfunktion des dopaminergen Systems während der SIV- bzw. HIV-Infektion wurde von unserer Gruppe und anderen gefunden (Czub *et al.*, 2004; Czub *et al.*, 2001; Lopez *et al.*, 1999; Scheller *et al.*, 2010), für eine Übersicht siehe Review (Purohit *et al.*, 2011). So weisen Therapie-naive HIV-Patienten während der asymptomatischen Infektion eine signifikant höhere Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor auf als nicht-Infizierte Personen (Scheller *et al.*, 2010).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde zum ersten Mal gezeigt, dass HIV-infizierte Patienten im Vergleich zu nicht-infizierten Personen signifikant häufiger homozygot für das 10-repeat-Allel des Dopamin-Transporter-Polymorphismus (DAT 3'-UTR VNTR) sind (Horn *et al.*, 2013). Diese HIV-Patienten tragen diesen Risiko-Genotyp knapp vierfach häufiger als nicht-infizierte Personen. Das bedeutet, dass gesunde Personen eine knapp viermal höhere Wahrscheinlichkeit haben, sich mit HIV zu infizieren, wenn sie den DAT 10/10-Genotyp aufweisen. Dieser Effekt ist sowohl in der deutschen als auch in der südafrikanischen Kohorte erkennbar und somit unabhängig von der ethnischen Gruppe. Deutsche HIV-Patienten sind dreimal häufiger Träger des Risiko-Allels als nicht-infizierte Personen, südafrikanische nicht-Infizierte haben sogar eine sechsmal höhere Wahrscheinlichkeit, sich mit dem Virus zu infizieren.

Diese Resultate sind unabhängig vom Geschlecht, verschiedenen Umweltbedingungen, Transmission und Subtyp des Virus. Die deutsche Kohorte besteht ausschließlich aus Männern, in der südafrikanischen Kohorte sind nur 36 % der Personen männlich, demnach sind auch die Wege der Transmission des Virus unterschiedlich. Deutsche Patienten haben sich durch Sexualkontakt mit anderen Männern infiziert, südafrikanische Patienten wurden über heterosexuelle Kontakte infiziert. Ferner sind andere HIV-1-Subtypen in den beiden Ländern endemisch. In Deutschland tritt hauptsächlich Subtyp B auf, in Südafrika vor allem Subtyp C (Jacobs *et al.*, 2009; Paraskevis *et al.*, 2009). Dies betont die Bedeutung dieser Ergebnisse, da diese nicht nur auf eine spezielle ethnische Gruppe, einen bestimmten HIV-Subtyp oder einen bestimmten Weg der Transmission des Virus beschränkt sind. Die Stichprobengröße war in diesem Teil der Arbeit mit insgesamt 126 HIV-Patienten und 41 nicht-infizierten Probanden eher gering, da nur von diesen Personen Material vorhanden war, um die genetischen Polymorphismen zu bestimmen. Mit einem linearen Regressionsmodell wurden diese Ergebnisse dennoch als statistisch hochsignifikant eingestuft; die

Reproduzierbarkeit dieser Ergebnisse sollte daher in einer größeren Kohorte überprüft werden.

Deutsche nicht-infizierte und HIV-infizierte Personen mit dem 10/10-Genotyp des DAT VNTR weisen zusätzlich eine signifikant höhere Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor auf (Horn *et al.*, 2013). Es wurde gezeigt, dass die Konzentration von Dopamin im Liquor vor allem die Dopamin-Verfügbarkeit im Striatum widerspiegelt (Wester *et al.*, 1990). Das Striatum ist Teil der Basalganglien, welche besonders anfällig für eine SIV- bzw. eine HIV-Enzephalitis sind (Czub *et al.*, 2004), siehe Kapitel 1.4.1. Unsere Resultate stimmen mit den Ergebnissen der einzig anderen Studie in diesem Zusammenhang überein: Patienten mit Hirntraumata, die homozygot für das 10-repeat-Allel waren, wiesen signifikant mehr Dopamin im Liquor auf als solche mit dem 9/10- oder dem 9/9-Genotyp (Wagner *et al.*, 2007). Weil kein Liquor von südafrikanischen Patienten vorhanden war, wurde in Südafrikanern statt der Dopamin-Verfügbarkeit die mRNA-DAT-Expression auf PBMCs analysiert. Aus der DAT-Expression auf PBMCs kann indirekt auf die DAT-Expression im Gehirn geschlossen werden, da gefunden wurde, dass die spezifische Bindung an DAT in Lymphozyten der Bindung im Striatum ähnelt, jedoch mit weniger Bindungsstellen in Lymphozyten (Amenta *et al.*, 2001).

Die mRNA Expression des DAT unterscheidet sich in nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen nicht voneinander, jedoch ist die DAT-Expression in südafrikanischen Personen, die homozygot für das 10-repeat-Allel sind, signifikant geringer als in anderen Genotypen (Horn *et al.*, 2013). In Patienten mit Psychosen wurde im Vergleich zu gesunden Personen ebenso eine reduzierte DAT mRNA-Expression in Lymphozyten nachgewiesen (Marazziti *et al.*, 2010); Patienten mit Psychosen weisen ähnlich wie HIV-Patienten eine erhöhte dopaminerge Neurotransmission auf. Zusätzlich wurde gezeigt, dass der Genotyp des DAT-Polymorphismus sowohl im Gehirn als auch in Lymphozyten die DAT-Expression beeinflusst (Mill *et al.*, 2002). Auch im Kleintiermodell für das Tourette-Syndrom wurde gezeigt, dass die Erhöhung von Dopamin mit einer Reduktion der mRNA- und Proteinexpression des DAT im Striatum einhergeht (Jijun *et al.*, 2010). Die Ergebnisse dieser Studien von Marazziti, Mill und Jijun lassen vermuten, dass die südafrikanischen HIV-infizierten und nicht-infizierten Personen mit dem Genotyp 10/10 nicht nur eine geringere mRNA DAT-Expression auf Lymphozyten, sondern eventuell auch eine erhöhte Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor aufweisen.

Der DAT-Polymorphismus wurde in mehreren Studien mit der Verfügbarkeit des Dopamin-Transporters in Verbindung gebracht, jedoch nicht mit eindeutigen Ergebnissen. Die striatale DAT-Verfügbarkeit ist z.B. in gesunden Personen mit dem 10/10-Genotyp des DAT VNTR

geringer als in Personen mit anderen Genotypen (Jacobsen *et al.*, 2000; van de Giessen *et al.*, 2009). Auch wurde in HIV-Demenz-Patienten eine verringerte DAT-Verfügbarkeit im Putamen und Striatum nachgewiesen (Wang *et al.*, 2004). In einer anderen Studie war dieser Genotyp mit einer erhöhten DAT-Verfügbarkeit im Putamen assoziiert (Heinz *et al.*, 2000).

Auch *in vitro*-Studien lieferten keine eindeutigen Ergebnisse. Wurden HEK-293-Zellen mit einem Konstrukt transfiziert, das das 10-repeat Allel enthielt, führte dies zu geringeren DAT-Expressionen (Miller & Madras, 2002). Auch in dopaminergen Neuronen resultierte ein Vektor mit dem 9-repeat-Allel in einer erhöhten Transkription des DAT (Michelhaugh *et al.*, 2001). Dagegen wurde auch gezeigt, dass das 10-repeat-Allel eine höhere Expression als das 7- oder 9-repeat-Allel nach sich zieht (Fuke *et al.*, 2001). Zellen mit dem 10-repeat-Allel hatten eine 50 % höhere DAT-Dichte als Zellen mit dem 9-repeat-Allel (VanNess *et al.*, 2005). Der DAT-Polymorphismus liegt in der 3'-UTR und beeinflusst nicht die Aminosäure-Sequenz, sondern hat wahrscheinlich regulatorischen Einfluss auf die Genexpression. 3-untranslatierte Regionen beeinflussen den nukleären Export, Polyadenylierung, Transkriptionsraten, Degradierung der mRNA und subzelluläre Lokalisation (Conne *et al.*, 2000).

Eine geringere Verfügbarkeit und Expression von DAT, wie sie u.a. von van de Giessen berichtet wurde (Miller & Madras, 2002; van de Giessen *et al.*, 2009) könnte eine erhöhte Dopamin-Konzentration im synaptischen Spalt bedeuten. Dies würde die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen. Dies ist aber nur der Fall, wenn man davon ausgeht, dass der Dopamin-Transporter für die Wiederaufnahme in die Zelle verantwortlich ist. DAT vermittelt die Wiederaufnahme in die Präsynapse, wie es in *DAT-knockout*-Mäusen gezeigt wurde. Dopamin bleibt in diesen *knockout*-Mäusen 100-mal länger im Extrazellulärraum als in WT-Mäusen (Giros *et al.*, 1996; Kristensen *et al.*, 2011). DAT kann dagegen auch die Abgabe von Dopamin in den extrazellulären Raum vermitteln, da der Transporter auch in die dendritischen Freisetzung von Dopamin involviert ist (für Reviews siehe (Falkenburger *et al.*, 2001; Koutsilieri *et al.*, 2014; Uhl, 2003)). Wenn der DAT-Genotyp 10/10 zu einer erhöhten Dopamin-Konzentration führt, wäre es möglich, dass dieser eine Verschlechterung der HIV-Infektion im ZNS nach sich zieht, denn in SIV-infizierten Rhesus-Makaken führte die pharmakologische Behandlung mit dopaminergen Medikamenten zu einer Verschlimmerung der SIV-Neuropathologie (Czub *et al.*, 2001). Es wurden bereits HAND-Patienten mit einem Medikament behandelt, das die Monoaminoxidase (MAO) hemmt, antioxidative Eigenschaften besitzt und die Dopamin-Verfügbarkeit erhöht. Das Medikament war unbedenklich, die Patienten zeigten aber keine Verbesserung der Symptome der kognitiven

Beeinträchtigung (Evans *et al.*, 2007; Schifitto *et al.*, 2007). In diesen Studien wurden allerdings nur die kognitiven Funktionen und keine pathologischen Veränderungen untersucht.

Personen mit einer höheren Dopamin-Verfügbarkeit haben eine andere Persönlichkeitsstruktur als Menschen mit einer geringen extrazellulären Dopamin-Konzentration. Individuen mit hohen Dopamin-Konzentrationen zeigen häufig ein sog. *novelty seeking* Verhalten. Das bedeutet, dass Leute, die in einem Persönlichkeits-Test höhere *novelty seeking* Werte erreichen, häufig einen Entdeckergeist haben und temperamentvoll, flatterhaft, risikofreudig, leicht reizbar, hitzig, impulsiv und verschwenderisch sind (Cloninger *et al.*, 1993; Ebstein *et al.*, 1996). Menschen mit niedrigen Werten in *novelty seeking*-Tests sind nachdenklich, steif, genügsam und gleichmütig (Cloninger *et al.*, 1993; Ebstein *et al.*, 1996). Der 10/10-Genotyp wurde auch mit ADHS assoziiert (Hawi *et al.*, 2005; Waldman *et al.*, 1998). Zudem zeigen Leute, die homozygot für das 10-repeat Allel sind, eine reduzierte Inhibitionskontrolle (Cornish *et al.*, 2011). Personen mit mindestens einem 9-repeat-Allel zeigten auch in einem *risk-taking task* eine niedrigere Risikobereitschaft als Personen mit dem 10/10- oder einem 11-repeat-Allel (Mata *et al.*, 2012). Hier stellt sich die Frage, ob dieses Verlangen, Neues zu erleben, auch das Sexualverhalten beeinflusst. Es wurde gezeigt, dass das 7-repeat-Allel des DRD₄ VNTR in jungen Erwachsenen mit sexueller Promiskuität korreliert, diese Personen haben z.B. häufiger einen *one night stand* und sind in einer Partnerschaft häufiger untreu (Garcia *et al.*, 2010). Diese Voraussetzungen würden bei Personen mit diesem Genotyp ein höheres Risiko nach sich ziehen, sich mit HIV zu infizieren.

Die erhöhte Dopamin-Verfügbarkeit wurde in dieser Arbeit mit einem Genotyp des DAT VNTR assoziiert. Zusätzlich könnten andere Mechanismen für die Regulation der Dopamin-Verfügbarkeit eine Rolle spielen. Der Neurotransmitter Dopamin könnte z.B. in erhöhtem Maß synthetisiert oder freigesetzt werden (Scheller *et al.*, 2010) oder der Umsatz von Dopamin könnte verringert sein. Letztlich wäre es auch möglich dass Veränderungen in afferenten neuronalen Populationen auftreten (Scheller *et al.*, 2010). Beispielweise könnten glutamaterge Neuronen, die vom Kortex zum Striatum führen, zu einer Aktivierung von dopaminergen Neuronen führen oder GABAerge Neuronen vom Mesenzephalon könnten zu einer Inhibition dieser Neuronen führen (Scheller *et al.*, 2010).

Die vorliegende Arbeit ist die erste Studie, in der ein bestimmter Genotyp des DAT-Polymorphismus mit dem HIV-Infektionsrisiko in Verbindung gebracht wird (Horn *et al.*, 2013). Unseres Wissens gibt es nur eine andere Publikation von Levine und Mitarbeitern, in

der der DAT VNTR im Zusammenhang mit der HIV-Infektion analysiert wurde. Diese untersuchten ausschließlich Effekte des DAT VNTR auf die kognitive Funktion von HIV-Patienten und wiesen keinen Einfluss des Genotyps auf die Kognition nach (Levine *et al.*, 2012). Auch in unseren beiden Kohorten beeinflussen verschiedene Genotypen des DAT VNTR die Häufigkeit von HAND nicht. Auch die CD4⁺-Zellzahl und die Viruslast unterscheidet sich in Patienten mit verschiedenen DAT-Genotypen nicht voneinander.

Hinsichtlich der Epidemiologie der Genotypen dieses Polymorphismus wurde eine ähnliche Allelverteilung wie in den deutschen nicht-infizierten Individuen auch in anderen gesunden kaukasischen Personen nachgewiesen (Lynch *et al.*, 2003). In afrikanischen Populationen ist die Variabilität der Allele abhängig von der ethnischen Zugehörigkeit und variabler als in Kaukasiern (Santovito *et al.*, 2008).

In einer anderen Studie wurden kürzlich ähnliche Ergebnisse erzielt wie in der vorliegenden Studie, aber nicht mit dem DAT-, sondern dem COMT-Polymorphismus. COMT ist an der Katalyse und folglich der Inaktivierung von Katecholaminen beteiligt. Die Wahrscheinlichkeit, zwei Kopien des Met-Allels des COMT Val108/158Met-Polymorphismus zu tragen, war in afro-amerikanischen HIV-infizierten Frauen höher als in nicht-infizierten Frauen (Sundermann *et al.*, 2013). Diese Autoren und andere legen nahe, dass dieses Allel – vermittelt durch Dopamin – die Neigung zu Risiko-Verhalten erhöht (Amstadter *et al.*, 2012; Sundermann *et al.*, 2013). Dies kann in unseren Kohorten nicht bestätigt werden, die Genotypen des COMT-Polymorphismus treten in HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen mit einer ähnlichen Häufigkeit auf. Die Aminosäure Methionin führt zu einer drei- bis vierfachen Reduktion der Enzymaktivität (Lachman *et al.*, 1996), was zu einer Erhöhung der Dopamin-Konzentration führen könnte. Dies konnte in der deutschen Kohorte bestätigt werden. HIV-Patienten mit mindestens einem Met-Allel weisen eine signifikant höhere Dopamin-Verfügbarkeit auf als Patienten mit dem Val/Val-Allel. Dies könnte ebenso ein erhöhtes Risiko-Verhalten dieser Personen bedeuten, wie es auch Sundermann und Mitarbeiter vorschlugen (Sundermann *et al.*, 2013). Die mRNA-DAT-Expression in Südafrikanern unterscheidet sich in Personen mit diesen Allelen nicht voneinander. Ebenso ist die Krankheits-Progression in den Patienten mit unterschiedlichen Genotypen vergleichbar (CD4⁺-Zellzahl und Viruslast). Gesunde Menschen und Schizophrenie-Patienten mit dem Met-Allel zeigen bessere kognitive Funktionen als Personen mit anderen Genotypen (Bilder *et al.*, 2002; Malhotra *et al.*, 2002). Die Häufigkeit von HAND ist in Met-Allel-Trägern unserer Kohorte ähnlich wie in Val/Val-Trägern. Die

Allelverteilung in deutschen und südafrikanischen nicht-infizierten Personen ist in ähnlicher Form berichtet worden (Koen *et al.*, 2004; Schellekens *et al.*, 2012).

Da eine Verbindung zwischen dem DAT-Genotyp 10/10 und einer erhöhten Dopamin-Verfügbarkeit gefunden wurde und dieser Genotyp in HIV-Patienten mit einer signifikant veränderten Häufigkeit auftritt, gingen wir der Hypothese nach, dass auch andere Polymorphismen mit einer ähnlichen Funktion wie der DAT VNTR die Dopamin-Verfügbarkeit beeinflussen. Durch einen SNP im *drd2*-Gen (DRD₂-TaqI α -Polymorphismus) kommt es in A1/A2-Trägern zu einer reduzierten DRD₂-Dichte im Striatum (Jonsson *et al.*, 1999; Pohjalainen *et al.*, 1998). Dies könnte zu einer veränderten Dopamin-Verfügbarkeit im synaptischen Spalt führen. In unserer Kohorte weisen Personen mit verschiedenen Genotypen ähnlich hohe Dopamin-Konzentrationen im Liquor auf. Auch ist die Expression des DAT auf PBMCs, durch die eine veränderte Dopamin-Konzentration zustande kommen könnte, in Personen mit verschiedenen Genotypen vergleichbar. Die Allelhäufigkeiten des DRD₂-Polymorphismus unterscheiden sich auch zwischen nicht-infizierten und HIV-Infizierten nicht und stimmen in beiden Kohorten mit der Allelverteilung in anderen Studien sehr gut überein (Hemmings *et al.*, 2013; Schellekens *et al.*, 2012).

Dagegen treten beim DRD₃-Ser9Gly-Polymorphismus die verschiedenen Genotypen sowohl in unseren deutschen als auch in den südafrikanischen nicht-infizierten Personen mit anderen Häufigkeiten auf als es in Franzosen und Afrikanern beschrieben wurde (Crocq *et al.*, 1992; Jeanneteau *et al.*, 2006). Die Transfektion von HEK-293 Zellen mit dem Gly-Allel des DRD₃-Polymorphismus führt zu einer vier- bis fünffach erhöhten Affinität von Dopamin für den Rezeptor als das Ser-Allel (Jeanneteau *et al.*, 2006). Dies könnte zu einer niedrigeren Dopamin-Konzentration in Gly-Trägern führen. Das konnte in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden, die Dopamin-Konzentrationen in Gly-Trägern und Personen mit dem Genotyp Ser/Ser unterscheiden sich nicht und auch die DAT-Expression ist vergleichbar.

Über den DRD₄ VNTR wurde berichtet, dass das 4/7-repeat-Allel andere pharmakologische Eigenschaften als das 2/4- und 4/4-Allel hat (Van Tol *et al.*, 1992). In gesunden Personen und ADHS-Patienten war das 7-repeat-Allel mit besseren kognitiven Funktionen und präfrontaler Kontrolle assoziiert (Boonstra *et al.*, 2008; Kramer-Hammerle *et al.*, 2005). Das 7-repeat-Allel ist in jungen Erwachsenen im Vergleich zu anderen Allelen mit sexueller Promiskuität assoziiert (Garcia *et al.*, 2010). In unseren Kohorten gab es keinen Unterschied der Allelhäufigkeiten zwischen nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen, was in diesen Kohorten keine Assoziation zwischen sexueller Promiskuität und HIV-Status vermuten lässt.

Die hier berichtete Allel-Häufigkeit in der deutschen Kohorte stimmt in etwa mit bekannten Genotyp-Verteilungen in Kaukasiern überein (Mill *et al.*, 2001). Im April 2014 veröffentlichte Spiegel-Online einen Artikel über das Kondom-Konsumverhalten in Südafrika. Daraus geht hervor, dass 2008 noch 85 % der Männer und 66 % der Frauen im Alter zwischen 15 und 24 Jahren Kondome benutzten, wobei 2012 nur noch 67 % der Männer und 50 % der Frauen Kondome verwendeten (Schulz, 2014). Dadurch wird das Risiko für eine Infektion mit dem Immunschwächevirus begünstigt.

HIV-Patienten mit mindestens einem Met-Allel des BDNF Val66Met-Polymorphismus haben zudem ähnliche Dopamin-Konzentration wie Personen mit dem Genotyp Val/Val und auch eine vergleichbare mRNA DAT-Expression. Es wurde ebenfalls eine vergleichbare Genotyp-Häufigkeit wie in deutschen nicht-infizierten Personen berichtet, in Südafrikanern tritt in unserer Kohorte eine andere Genotyp-Häufigkeiten auf als in der Literatur beschrieben (Egan *et al.*, 2003; Hemmings *et al.*, 2013).

Um einen möglichen Einfluss von Dopamin auf Zellen des Immunsystems zu untersuchen, wurden Proteine analysiert, die eine regulatorische Funktion in der dopaminergen Neurotransmission in Lymphozyten einnehmen. T-Zellen und Dendritische Zellen werden vor allem von Zytokinen reguliert (C. Janeway, 2009). Wie von Buttarelli und Mitarbeitern zusammengefasst wird, wurde in Lymphozyten auch endogenes Dopamin entdeckt (Bergquist *et al.*, 1994) und ebenso die Tyrosin-Hydroxylase, das Geschwindigkeits-bestimmende Enzym der Dopamin-Synthese (Buttarelli *et al.*, 2011; Cosentino *et al.*, 2007). Auch die Expression der fünf Dopamin-Rezeptoren wurde in Leukozyten nachgewiesen (Ostadali *et al.*, 2004). In diesem Zusammenhang wurde auch gezeigt, dass Zellen des Immunsystems von Neurotransmittern reguliert werden (Grebe *et al.*, 2009; Leon-Ponte *et al.*, 2007) und diese Neurotransmitter die T-Zell-vermittelte Immunität modulieren können. Neurotransmitter können infolgedessen die Kommunikation von Nervensystem und Immunsystem vermitteln. So könnte auch Dopamin durch die Stimulierung von Dopamin-Rezeptoren in Leukozyten die Initiation und die Entwicklung einer Immunreaktion regulieren (Buttarelli *et al.*, 2011). Dieses Dopamin stammt entweder aus dem ZNS oder dem Blut, wird von Immunzellen sezerniert oder hat seinen Ursprung im sympathischen Nervensystem (Buttarelli *et al.*, 2011).

In Erkrankungen des ZNS wie Morbus Parkinson, Schizophrenie und dem Tourette-Syndrom sind Veränderungen der Expression von Dopamin-Rezeptoren auf Lymphozyten im Gegensatz zu gesunden Menschen vorhanden (Barbanti *et al.*, 1999; Meador-Woodruff *et al.*, 1994; Zvara *et al.*, 2005). So ist bspw. die mRNA-Expression von DRD₅ auf Lymphozyten

von Patienten mit dem Tourette-Syndrom erhöht (Ferrari *et al.*, 2008) in dem eine hohe Dopamin-Verfügbarkeit aufgrund der wirksamen Therapie mit Dopamin-Antagonisten vermutet wird. Dopamin-Rezeptoren in der Peripherie als Biomarker für neuropsychiatrische Erkrankungen bzw. als prognostische Marker einzusetzen, wird derzeit diskutiert (Brito-Melo *et al.*, 2012; Zvara *et al.*, 2005), da Dopamin-Rezeptoren in der Peripherie einen Hinweis auf die dopaminerge Neurotransmission im Gehirn geben können.

In dieser Arbeit wurde die mRNA-Expression eines im ZNS inhibitorisch- und eines exzitatorisch-wirkenden Dopamin-Rezeptors (DRD₃ und DRD₅) und die Expression des Dopamin-Transporters auf PBMCs von HIV-Patienten analysiert, wobei die Funktion dieser Elemente in Lymphozyten nicht geklärt ist. Die mRNA DRD₃- und DAT-Expression auf PBMCs unterscheidet sich in nicht-infizierten und HIV-infizierten südafrikanischen Personen nicht. Dagegen haben HIV-Patienten eine signifikant geringere DRD₅-Expression auf PBMCs als nicht-infizierte Personen. Zusätzlich weisen HAND-Patienten im Vergleich zu neuropsychiatrisch normalen HIV-Patienten eine signifikant reduzierte DRD₅-Expression auf. DRD₅ wird im Gehirn im Hippocampus und in der Amygdala exprimiert (Meador-Woodruff *et al.*, 1994), das bedeutet, dass DRD₅ hauptsächlich im limbischen System vorkommt. Wenn eine geringere DRD₅-Expression auf PBMCs in HIV-Patienten auch zu einer geringeren DRD₅-Expression im Gehirn führt, könnte dies eine reduzierte Rezeptor-Dichte im limbischen System bedeuten. Im limbischen System ist v.a. der mesolimbische Dopamin-vermittelte Signalweg von Bedeutung. Das mesolimbische System ist das sogenannte Belohnungssystem, das bei zu geringer Aktivität zu Antriebslosigkeit führt. Kokain stellt eine Möglichkeit dar, diesen Signalweg zu stimulieren. Sollten keine kompensatorischen Mechanismen auftreten, könnte es zu einer geringeren exzitatorischen Neurotransmission führen und demzufolge zu einer geringeren Aktivität des mesolimbischen Systems. In der Tat zeigen HIV-Patienten Verhaltensveränderungen, die auf eine veränderte Aktivität des mesolimbischen Signalwegs zurückzuführen sind (Koutsilieri *et al.*, 2002a).

Die Stimulierung von DRD₁ inhibiert zudem die zytotoxische Funktion von CD8⁺-Zellen (Saha *et al.*, 2001). Durch eine geringere zytotoxische Funktion dieser Zellen könnte der Körper anfälliger für virale Infektionen sein. Auch wurde gezeigt, dass Katecholamine die Funktion von regulatorischen T-Zellen inhibieren (Cosentino *et al.*, 2007; Kipnis *et al.*, 2004). Dopamin inhibiert überdies die Proliferation und Differenzierung von Lymphozyten (Bergquist *et al.*, 1994). Die Autoren vermuten, dass es sich um einen autokrinen *feedback loop* handelt, mit dem Lymphozyten ihre eigene Aktivität herunterregulieren. Zudem berichtete unsere Arbeitsgruppe, dass Dopamin in chronisch infizierten T-Lymphoblasten die

Replikation von HIV aktiviert (Scheller *et al.*, 2000). Dopamin führt außerdem in ruhenden T-Zellen zu einer etwa fünffach gesteigerten mRNA-Expression und zu einer erhöhten Sezernierung von TNF- α , wobei das antiviral-wirksame IFN- γ nicht verändert war (Besser *et al.*, 2005). Eine pharmakologische Behandlung mit einem Medikament, das die Dopamin-Verfügbarkeit erhöht, führte auch in SIV-infizierten Rhesusaffen zu einer erhöhten TNF- α -Expression (Czub *et al.*, 2004). TNF- α wiederum induziert die Expression von HIV in chronisch infizierten T-Zellen (ACH-2) (Folks *et al.*, 1989). Dadurch kommt es durch Dopamin und indirekt durch TNF- α zu einer andauernden Aktivierung der HIV-Replikation.

Zusammenhang von Dopamin und Immunaktivierung

Während der HIV-Infektion kommt es im ZNS zu einem erhöhten Aufkommen proinflammatorischer Zytokine und außerdem zu einer erhöhten Dopamin-Verfügbarkeit. Dies und die Tatsache, dass Dopamin in Zellkultur und SIV-infizierten Rhesusaffen zu einer erhöhten Expression bzw. Sezernierung von TNF- α führt (Besser *et al.*, 2005; Czub *et al.*, 2004) legt die Vermutung nahe, dass in Personen mit einer höheren Dopamin-Verfügbarkeit auch andere Marker der Immunaktivierung beeinflusst werden. Die Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor in deutschen nicht-infizierten und HIV-infizierten Individuen korreliert jedoch nicht mit der Konzentration von suPAR im Liquor bzw. den Konzentrationen von MCP-1, sCD14 und suPAR im Plasma. Dagegen weisen nicht-Infizierte und HIV-Patienten beider Kohorten mit dem DAT 10/10-Genotyp eine signifikant höhere MCP-1-Konzentration im Plasma auf als Personen mit anderen Genotypen. In Mäusen wurde nach Verabreichung von Methamphetaminen, wodurch die Dopamin-Verfügbarkeit erhöht wird, ebenso eine erhöhte Expression von MPC-1 in Teilgebieten des Gehirns nachgewiesen (Wakida *et al.*, 2014). Wird eine Korrelation der MCP-1-Konzentration im Plasma und Liquor vorausgesetzt, würden durch die erhöhte MCP-1-Konzentration im Gehirn mehr Monozyten ins Gehirn angelockt werden und somit mehr Zielzellen für HIV im Gehirn zur Verfügung stehen.

Immunaktivierung in deutschen und südafrikanischen nicht-infizierten Personen und HIV-Patienten

Da HIV nur in aktivierten Zellen repliziert, werden durch die chronische Aktivierung von Immunzellen mehr Zielzellen für die HIV-Infektion zur Verfügung gestellt (Grossman *et al.*, 1998). Zusätzlich kommt es während der HIV-Infektion zu einer Schädigung von

Lymphgewebe (Effros *et al.*, 1996; Grossman *et al.*, 2002) und abnormalem T-Zell *trafficking* (Hengel *et al.*, 2001; Rosenberg *et al.*, 1998). Zudem ist die Halbwertszeit von T-Zellen verringert (McCune *et al.*, 2000). Diese Mechanismen führen letztendlich zu einem Verlust der regenerativen Kapazität des Immunsystems und eigentlich harmlose Krankheitserreger können nicht mehr bekämpft werden. Eine detaillierte Übersicht ist dem Review von Brenchley und Douek zu entnehmen (Brenchley *et al.*, 2006).

So spielt der Monozyten-Aktivierungsmarker MCP-1 für die Rekrutierung aktivierter Monozyten und T-Zellen eine wichtige Rolle (Leonard & Yoshimura, 1990), während ein anderer Marker für Monozyten-Aktivierung, nämlich sCD14, ein bekannter Marker für mikrobielle Translokation ist (Brenchley *et al.*, 2006). RANTES spielt als natürlicher HIV-supprimierender Faktor eine wichtige Rolle in der HIV-Infektion; RANTES wurde in 10-fach höherer Konzentration in kenianischen „HIV-resistenten“ Prostituierten, also solchen, die trotz eines hohen Risikoverhaltens nicht mit dem Virus infiziert sind, im Vergleich mit nicht-resistenten Prostituierten gefunden (Cocchi *et al.*, 1995; Iqbal *et al.*, 2005). Auch die Konzentrationen von suPAR, sCD14 und MCP-1 sind während der HIV-Infektion erhöht (Ancuta *et al.*, 2008; Kenway-Lynch *et al.*, 2014; Lien *et al.*, 1998; Ostrowski *et al.*, 2005).

In deutschen HIV-Patienten dagegen tritt in der vorliegenden Arbeit im Gegensatz zu nicht-infizierten Personen keine erhöhte Immunaktivierung in Form von suPAR, sCD14 und MCP-1 im Plasma auf. Zwar ist die Konzentration von suPAR und MCP-1 im Plasma in HIV-Patienten im Gegensatz zu nicht-Infizierten erhöht, erreicht jedoch keine statistische Signifikanz. Im Liquor deutscher Patienten ist die suPAR-Konzentration im Vergleich zu nicht-infizierten Personen nicht verändert, wobei die Konzentration von MCP-1 in HIV-Patienten im Vergleich zu nicht-Infizierten leicht erhöht ist. Die suPAR-Konzentration im Plasma deutscher HIV-Patienten korreliert signifikant mit der Viruslast, der CD4⁺-Zellzahl und der HIV-Demenz-Skala. Deutsche HIV-Patienten mit einem HDS-Score ≤ 10 haben demzufolge eine signifikant höhere suPAR-Konzentration im Plasma als neuropsychiatrisch unauffällige HIV-Patienten (solche mit einem HDS-Score über 10). Eine Korrelation zwischen suPAR und der CD4⁺-Zellzahl ebenso wie eine erhöhte Konzentration der membran-gebundenen Form (uPAR) im Liquor von Patienten mit HIV-assoziiierter Demenz wurden bereits in der Literatur beschrieben (Lawn *et al.*, 2007; Sidenius *et al.*, 2004). Die Konzentration von suPAR im Plasma ist in den vorliegenden deutschen HIV-Patienten deshalb sowohl ein guter Marker für den immunologischen Krankheitsverlauf als auch für die Erkrankung des ZNS. In einer großen Studie mit einem Vierjahres-Follow-up, in die nur

Therapie-naive HIV-Patienten eingeschlossen wurde, korrelierte suPAR jedoch nur schwach mit der Krankheitsprogression (Nyamweya *et al.*, 2012).

suPAR im Plasma deutscher HIV-Patienten korreliert überdies signifikant mit suPAR im Liquor. Daraus lässt sich schließen, dass die Ausprägung der Immunaktivierung im ZNS in diesen Patienten die Ausprägung der Immunaktivierung in der Peripherie widerspiegelt. Die Konzentration von suPAR im Liquor korreliert wie auch die Konzentration im Plasma signifikant mit der CD4⁺-Zellzahl. Die suPAR-Konzentration im Liquor ist daher ebenso ein guter Marker für die periphere Krankheitsprogression. suPAR wurde als prognostischer Marker für das Überleben während der HIV-Infektion vorgeschlagen (Sidenius *et al.*, 2000). suPAR im Liquor ist ebenfalls signifikant mit MCP-1 im Liquor, der Viruslast im Blut und tendenziell mit der Viruslast im Liquor assoziiert. Die Immunmarker MCP-1 und sCD14 kommen in potentiellen HAND-Patienten und neuropsychiatrisch nicht beeinträchtigten HIV-Patienten in vergleichbaren Konzentrationen vor.

Eine mögliche Erklärung für die generell geringe Immunaktivierung in der vorliegenden deutschen Kohorte könnte sein, dass HAART die Virusreplikation supprimiert und daher auch die Immunaktivierung reduziert (Marchetti *et al.*, 2012). Jedoch wurden in der vorliegenden Arbeit sowohl Therapie-naive Patienten als auch Patienten mit HAART analysiert und die suPAR-, sCD14 und MPC-1-Konzentrationen sind in HIV-Patienten mit und ohne HAART nicht signifikant unterschiedlich. Dagegen ist die Immunaktivierung in südafrikanischen HIV-Patienten im Vergleich zu nicht-Infizierten signifikant erhöht. Der wichtigste Immunmarker für die HIV-Progression zu AIDS ist die Aktivierung von CD8⁺-T-Zellen. Sowohl die angeborene als auch die adaptive Immunantwort tragen zu der Aktivierung von T-Zellen bei (Eller *et al.*, 2011). In der vorliegenden Arbeit wurde ebenfalls eine Aktivierung von CD8⁺-T-Zellen beobachtet (CD3⁺/CD8⁺/CD38⁺/HLA-DR⁺). CD38/HLA-DR ist in südafrikanischen HIV-Patienten gegenüber nicht-Infizierten signifikant erhöht und wird durch HAART signifikant gesenkt. Die Senkung der T-Zell-Aktivierung durch HAART wurde auch in anderen Studien beschrieben (Hatano *et al.*, 2013; Hunt *et al.*, 2003). HIV-Patienten dieser Kohorte mit höherer T-Zell-Aktivierung haben auch eine signifikant geringere CD4⁺-Zellzahl und eine signifikant höhere Viruslast. Eine Korrelation der T-Zell-Aktivierung mit der Viruslast und eine inverse Korrelation mit der CD4⁺-Zellzahl wurde auch in ugandischen Therapie-naiven HIV-Patienten gefunden (Eller *et al.*, 2011).

Die Aktivierung von T-Zellen ist aufgrund der inversen Korrelation mit der CD4⁺-Zellzahl und der Viruslast in südafrikanischen HIV-Patienten infolgedessen ein guter Marker für die periphere HIV-Infektion.

Die Expression von CD38/HLA-DR auf CD8⁺-Zellen war des Weiteren mit der sCD14- und MCP-1-Konzentration assoziiert. Dies lässt vermuten, dass in diesen südafrikanischen HIV-Patienten nicht nur der allgemein anerkannte Marker CD38/HLA-DR, sondern auch sCD14 und MCP-1 als Marker für die periphere Immunaktivierung in Frage kommen.

Die MCP-1-Konzentration ist in südafrikanischen HIV-Patienten im Gegensatz zu nicht-Infizierten ebenfalls signifikant erhöht. Dies wurde auch in einer Studie aus Tansania gefunden (Haissman *et al.*, 2009). Die Konzentration von MCP-1 korreliert in unseren südafrikanischen HIV-Patienten zudem signifikant mit der Viruslast und außerdem mit der Konzentration von RANTES. Eine Assoziation dieser beiden Chemokine ist nicht überraschend, da beide für die Rekrutierung weiterer Immunzellen (MCP-1 v.a. Monozyten, T-Gedächtniszellen und Dendritische Zellen, RANTES v.a. T-Zellen) verantwortlich sind.

sCD14 ist nicht mit der CD4⁺-Zellzahl, der Viruslast oder der IHDS/GDS assoziiert. Der Marker ist in HIV-Patienten im Vergleich zu nicht-infizierten Personen jedoch signifikant erhöht. Eine Studie aus Ghana bekräftigt dieses Ergebnis (Lawn *et al.*, 2000). Weiter korreliert sCD14 signifikant mit der T-Zell-Aktivierung.

Auch die suPAR-Konzentration ist in südafrikanischen HIV-Patienten signifikant erhöht, steht dagegen in keiner Beziehung mit Markern der Krankheitsprogression (CD4⁺-Zellzahl, Viruslast und Häufigkeit von HAND). Erhöhte suPAR-Konzentrationen in HIV-Patienten wurden ebenfalls in einer anderen afrikanischen Studie gefunden; Patienten mit hohen suPAR-Konzentrationen aus Guinea-Bissau weisen zusätzlich ein höheres Mortalitätsrisiko auf (Fourie *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2012). suPAR korreliert in unserer Kohorte weder mit der CD4⁺-Zellzahl noch mit der Viruslast. Dagegen erwies sich suPAR, wie oben erwähnt, in den vorliegenden deutschen HIV-Patienten als ein sehr guter Marker.

Alle Immunmarker außer dem immunsuppressiven Faktor RANTES sind in südafrikanischen HIV-Patienten im Vergleich zu nicht-infizierten Personen signifikant erhöht; in deutschen HIV-Patienten tritt keine Immunaktivierung auf. Eine mögliche Erklärung für die hohe Immunaktivierung in südafrikanischen und die niedrige Immunaktivierung in deutschen HIV-Patienten könnte die fast doppelt so hohe Viruslast in Südafrikanern sein. Zudem haben mit 24,3 % (9 von 37) mehr Südafrikaner trotz HAART eine Viruslast über 1000 (virologische Versager) und 16,1 % der Deutschen (9 von 56).

RANTES ist beim Vergleich südafrikanischer HIV-Patienten und nicht-infizierter Personen nicht verändert, ist allerdings mit der IHDS assoziiert. Die Konzentration von RANTES ist zudem mit der Konzentration von MCP-1 verbunden und korreliert auch signifikant mit der

suPAR-Konzentration. suPAR ist ebenso wie Chemokine im Allgemeinen an immunologischen Prozessen wie Zellmigration beteiligt (Madsen *et al.*, 2007).

Vergleich der Immunaktivierung in deutschen und südafrikanischen nicht-infizierten Personen und HIV-Patienten

Die sCD14-Konzentration ist in HIV-infizierten südafrikanischen Personen im Vergleich zu deutschen HIV-Patienten signifikant erhöht. Dieser Trend ist auch in nicht-infizierten südafrikanischen Individuen im Gegensatz zu deutschen zu erkennen (Students *t* Test, $p = 0,0377$). Die höhere Immunaktivierung in Afrikanern könnte von anderen Umwelt-Bedingungen hervorgerufen worden sein. So zeigten nicht-infizierte Afrikaner und Italiener, die in Afrika lebten, eine ähnlich hohe T-Zell-Aktivierung. Im Gegensatz dazu hatten Afrikaner, die in Italien lebten, keine Aktivierung des Immunsystems (Clerici *et al.*, 2000). Das legt die Vermutung nahe, dass die Immunaktivierung nicht genetisch bedingt ist, sondern von Umweltfaktoren abhängig ist (Clerici *et al.*, 2000). suPAR ist in unserer Kohorte nur in südafrikanischen HIV-Patienten im Vergleich zu deutschen HIV-Patienten erhöht, wobei die nicht-infizierten Individuen sich nicht in der suPAR-Konzentration unterscheiden. Dies lässt darauf schließen, dass die erhöhte suPAR-Konzentration in Südafrikanern von HIV selbst hervorgerufen werden könnte und hier möglicherweise der Subtyp des Virus eine Rolle spielen könnte. Eine weitere mögliche Erklärung für die erhöhte suPAR-Konzentration in südafrikanischen HIV-Patienten wäre die fast doppelt so hohe Viruslast wie in deutschen HIV-Patienten. Jedoch ist ein anderer Immunmarker MCP-1, wodurch Monozyten an die Entzündungsstelle migrieren, in südafrikanischen HIV-Patienten und nicht-Infizierten signifikant geringer als in Deutschen. Dabei könnte TNF- α eine Rolle spielen, da bekannt ist, dass die Expression von MCP-1 u.a. von TNF- α stimuliert wird (Murao *et al.*, 1999, 10413089). In ugandischen nicht-infizierten Personen waren die TNF- α Plasmaspiegel signifikant geringer als in US-Amerikanern (Redd *et al.*, 2009). Wenn auch in unserer Kohorte geringere TNF- α -Konzentrationen vorlägen, könnte dies eine geringere MCP-1-Expression zur Folge haben und eine geringere MCP-1-Konzentration bedeuten. Dies könnte die reduzierte MCP-1 Konzentration in den südafrikanischen Personen erklären.

Einer der allgemein anerkannten Auslöser für die chronische Immunaktivierung während der HIV-Infektion ist die Translokation mikrobieller Bestandteile aus dem Darm (Brenchley *et al.*, 2006). Ob der Übertritt von Bakterien in das Blut auch in Afrikanern mitverantwortlich

für die Immunaktivierung ist, ist nicht geklärt. In einer ugandischen Studie wurde keine Veränderung der Konzentrationen von Markern der bakteriellen Translokation (sCD14, LPS) in HIV-Patienten während des Krankheitsverlaufs festgestellt (Redd *et al.*, 2009). Ferner blieb die Konzentration anderer Zytokine (z.B. TNF- α und IFN- γ) über den Verlauf der HIV-Infektion gleich oder sank. Deshalb vermuten Redd und Mitarbeiter, dass die mikrobielle Translokation und die daraus folgende Entzündungsreaktion für die Progression der HIV-Infektion in Afrika nicht verantwortlich sind (Redd *et al.*, 2009).

Resistenz-assoziierte Mutationen, Koinfektion mit Parasiten und genetische Polymorphismen als mögliche Gründe für die erhöhte Immunaktivierung in südafrikanischen HIV-Patienten und Folgen der Immunaktivierung

Die erhöhte Immunaktivierung (CD38/HLA-DR, MCP-1, sCD14, suPAR) in südafrikanischen HIV-Patienten im Vergleich zu nicht-infizierten Personen könnte aus einer nicht-optimalen Virussuppression resultieren. In 37,8 % der südafrikanischen HIV-Patienten war virale RNA nachweisbar, obwohl die Patienten antiretrovirale Medikamente einnahmen. Sechs von acht Patienten, von denen HIV RNA detektiert und sequenziert werden konnte, weisen eine Resistenz-assoziierte Mutation auf (75 %). Die meisten Resistenz-assoziierten Mutationen (62,5 %) treten gegen nicht-nukleosidische reverse Transkriptase-Inhibitoren (NNRTIs) auf. Die Mutation K103N kommt in der Hälfte der Patienten mit Resistenz-assoziierten Mutationen vor, wodurch die Virusreplikation durch Efavirenz und Nevirapin nicht mehr inhibiert wird. Auch die Mutation A98G kommt häufig vor (33 %), die ebenso Nevirapin unwirksam macht. Das häufige Auftreten von K103N in unserer Kohorte ist mit einer anderen Studie aus Südafrika, in der K103N in 33 % der Patienten vorkommt, vergleichbar (Jacobs *et al.*, 2009). A98G tritt auch in einer anderen afrikanischen Studie zu knapp 20 % auf; die HIV-Patienten dieser Studie waren jedoch nicht mit Subtyp C infiziert, sondern anderen Subtypen, die im Gebiet unterhalb der Sahara häufig vorkommen (Chaplin *et al.*, 2011). 12,5 % (1 Patient von 8) haben nachweisbare HI-Viren mit einer geringfügigen Resistenz gegen Proteaseinhibitoren (PIs, L10I), die Wirksamkeit der PIs ist gewährleistet, es ist aber die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass innerhalb von kurzer Zeit eine PI-resistente Quasispezies selektiert wird. Da nicht von allen HIV-Patienten dieser Kohorte RNA sequenziert wurde, kann keine Prävalenz von Resistenzen angegeben werden. Es wurden ausschließlich Resistenzprofile von virologischen Versagern erstellt, da bei geringer Viruslast das Virus mit gängigen Kits, die nicht für die Diagnostik verwendet werden dürfen, häufig nicht nachgewiesen werden kann. Falls nicht mehr HIV-Patienten dieser Kohorte resistente

HI-Viren aufweisen, würden 9,1 % (6 von 66) der Patienten Resistenz-assoziierte Mutation tragen. Eine Resistenzrate von 9,2 % wurde in einer südafrikanischen Studie mit HIV-infizierten Frauen gefunden (Jacobs *et al.*, 2009). In anderen Ländern Afrikas liegt die Häufigkeit von Resistenzen noch höher, in Uganda bei 12,3 % (Hamers *et al.*, 2011, 21802367) und in Tansania tragen sogar 19,1 % der über 25-jährigen HIV-Patienten resistente HI-Viren (Kasang *et al.*, 2011).

In der südafrikanischen Kohorte liegen auch andere Umweltbedingungen als in den deutschen HIV-Patienten vor, z.B. sind die hygienischen Bedingungen in ärmeren Regionen anders und Personen der südafrikanischen Kohorte womöglich häufiger mit anderen Erregern wie Parasiten koinfiziert. Zwei Parasiten, die u.a. das ZNS befallen, sind *Echinococcus* und *Schistosoma* (Shahlaie *et al.*, 2005). *Echinococcus multilocularis*, *E. granulosus* und *Schistosoma mansoni* kommen in HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen nicht in unterschiedlichen Häufigkeiten vor. Auch die Immunaktivierung basierend auf der T-Zell-Aktivierung und der Konzentrationen von MCP-1, RANTES, sCD14 und suPAR im Plasma in *Echinococcus*-infizierten und nicht-infizierten HIV-Patienten ist vergleichbar. Ein Nachweis, dass die erhöhte Immunaktivierung von Parasiten herrührt, konnte somit in unserer Kohorte nicht erbracht werden. Unseres Wissens wurde dieser Zusammenhang in HIV-Patienten bisher nicht untersucht.

Die Aktivierung von Monozyten bezüglich sCD14 und MCP-1 konnte auch in ghanaischen bzw. tansanischen HIV-Patienten im Vergleich zu nicht-Infizierten belegt werden (Haissman *et al.*, 2009; Lawn *et al.*, 2000). suPAR war ebenfalls in einer Studie in afrikanischen HIV-Patienten erhöht (Fourie *et al.*, 2012). Diese Studien gehen jedoch nicht auf die Koinfektion mit Parasiten ein.

In einigen Genen, die für Chemokine, Chemokin-Rezeptoren und Zytokine kodieren, wurden genetische Polymorphismen identifiziert; diese sind mit der Pathogenese der HIV-Infektion assoziiert. Die 32-bp Deletion in CCR5, die zu einem nicht funktionellen Korezeptor führt und vor der sexuellen Transmission vor HIV schützt (Liu *et al.*, 1996) tritt in der analysierten südafrikanischen Kohorte nicht auf. Da dieser Polymorphismus in Afrika nur bei 0,1 % der Bevölkerung auftritt im Gegensatz zu 9,8 % in Kaukasiern (Williamson *et al.*, 2000), ist es nicht überraschend, dass dieses Allel in der Kohorte nicht vorkommt.

Die MCP-1-Konzentrationen unterscheiden sich in der vorliegenden Arbeit in unterschiedlichen Genotypen des MCP-1-2518A→G- (wird auch als 2578 bezeichnet)

Polymorphismus in nicht-Infizierten und HIV-Patienten nicht voneinander. Auch in HIV-Patienten mit verschiedenen Genotypen ist eine vergleichbare MCP-1-Konzentration vorhanden. Ein Nachweis über die Funktionalität des Polymorphismus konnte in der analysierten Kohorte somit nicht erbracht werden, obwohl gezeigt wurde, dass Personen, die homozygot für G sind, auch höhere MCP-1-Konzentrationen im Serum haben als Personen mit anderen Genotypen (McDermott *et al.*, 2005). Die Allelhäufigkeit des WT-Allels des MCP-1-Polymorphismus in gesunden Personen in einer Studie aus Tunesien und einer aus Westafrika (Gambia und Guinea) ist in etwa mit der hier analysierten Allelhäufigkeit vergleichbar (Dhaouadi *et al.*, 2013; Velez Edwards *et al.*, 2012).

Der Genotyp Int1.1C des RANTES Int1.1 T→C-Polymorphismus führt zu einer verringerten RANTES-Transkription (An *et al.*, 2002). Auch in unserer Kohorte weisen Personen mit dem C/C-Allel geringere RANTES-Konzentrationen im Plasma auf als Personen mit anderen Genotypen. Da nur 5 bzw. 6 % der südafrikanischen nicht-infizierten bzw. HIV-infizierten Personen homozygot für das C-Allel sind und somit die Stichprobengröße nicht ausreichend ist, kann kein Rückschluss auf die Funktionalität dieses Polymorphismus gezogen werden. Zusätzlich ist keine Assoziation mit der CD4⁺-Zellzahl und der Viruslast zu erkennen, obwohl in einer anderen Studie mindestens ein C-Allel mit einer schnelleren Progression zu AIDS verbunden war (An *et al.*, 2002). Eine geringere RANTES-Konzentration führt wahrscheinlich zu einer geringeren Bindung von RANTES an CCR5 und könnte dazu führen, dass mehr freie Korezeptor-Bindungsstellen von HIV genutzt werden können (An *et al.*, 2002). Die Häufigkeit der Genotypen dieses Polymorphismus ist in etwa mit der Häufigkeit, die in einer Studie mit Tunesiern gefunden wurde, vergleichbar (Kalai *et al.*, 2013).

Beim RANTES-403 G→A-Polymorphismus führt das A-Allel zu einer erhöhten Transkription in Jurkat- und humanen Mastzellen (HMC-1) (Nickel *et al.*, 2000). In südafrikanischen nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen hingegen ist die RANTES-Konzentration in Personen mit dem A/A-Genotyp signifikant geringer als in Personen mit den Genotypen A/G und G/G. Der RANTES-403A/G-Genotyp zusammen mit dem RANTES -28C/C-Genotyp führte auch zu einer langsameren Progression zu AIDS (McDermott *et al.*, 2000). In unserer Kohorte ist in HIV-Patienten mit dem Risiko-Allel kein Unterschied in der CD4⁺-Zellzahl zu Patienten mit den anderen Genotypen zu erkennen. Da in der vorliegenden Studie aber nur einmalig Patientenmaterial entnommen wurde, können ohnehin höchstens Hinweise und keine Rückschlüsse auf den tatsächlichen Krankheitsverlauf gezogen werden. Das Auftreten der verschiedenen Genotypen des RANTES-403-Polymorphismus ist in den

analysierten südafrikanischen nicht-infizierten Personen ähnlich wie in der oben genannten tunesischen Studie (Kalai *et al.*, 2013).

Epidemiologie von HAND

Die Epidemiologie von HAND unterscheidet sich in der westlichen Welt und in Afrika. In Europa und Nordamerika zeigen in etwa 50 % der therapierten Patienten mindestens eine milde Form der neurokognitiven Störung, wobei die meisten Infektionen auf den HIV-Subtyp-B zurückzuführen sind (Clifford, 2008; Paraskevis *et al.*, 2009). In Afrikanern reicht die Prävalenz von HAND von 21 % in Kamerun über 33 % in Zambia bis hin zu 64 % in Uganda, die unterschiedlichen Prävalenzen sind wahrscheinlich unterschiedlichen HIV-Subtypen zuzuschreiben (Nakku *et al.*, 2013; Njamnshi *et al.*, 2008; Robertson *et al.*, 2010). In südafrikanischen HIV-Patienten, von denen 89 % mit Subtyp C-infiziert sind, tritt HAND in 23,5 % der HIV-Patienten auf (Jacobs *et al.*, 2009; Joska *et al.*, 2010).

Es wurde auch in primären Astrozyten gezeigt, dass gp120 aus Subtyp B im Gegensatz zu dem Protein aus Subtyp C zu einer Erhöhung des proinflammatorischen Prostaglandins E2 führt und zu einer Verringerung der NMDA-Rezeptor-Gen und Proteinexpression (Samikkannu *et al.*, 2011). Dadurch könnte es bei Subtyp B-Infektionen zu einer vermehrten Exzitotoxizität und somit einer Schädigung von zellulären Strukturen kommen, die letztendlich womöglich mehr neuropsychiatrische Störungen in Subtyp B-infizierten als Subtyp C-infizierten Personen hervorrufen.

HAND kommt in unseren beiden Kohorten mit einer ähnlichen Häufigkeit vor, in deutschen HIV-Patienten weisen 31,8 % einen HDS-Score ≤ 10 auf, von den südafrikanischen Patienten sind 25 % von HAND betroffen. In einer europäischen Studie zeigten 31 % der HIV-Patienten eine milde neurokognitive Störung, was in unserer Kohorte vergleichbar war. Auch die Häufigkeit von HAND in unseren südafrikanischen Patienten wird von einer anderen Studien bestätigt (23,5 %, siehe oben, (Joska *et al.*, 2010). Zudem resultierte der Vergleich des Auftretens der Erkrankung in Subtyp B- und Subtyp C-infizierten Individuen aus Brasilien in einer ähnlich hohen Anzahl an HAND-Patienten (de Almeida *et al.*, 2013). Neben einer ähnlichen Häufigkeit von HAND zeigen unsere beide Kohorten vergleichbare CD4⁺-Zellzahlen und Viruslasten, obwohl südafrikanische HIV-Patienten eine etwas geringere CD4⁺-Zellzahl haben und eine fast doppelt so hohe Viruslast wie deutsche HIV-Patienten. Niedrigere CD4⁺-Zellzahlen und höhere Viruslasten in Therapie-naiven südafrikanischen HIV-Patienten wurden im Vergleich zu US-amerikanischen HIV-Patienten auch in einer anderen Studie gefunden (Ortega *et al.*, 2013).

Obwohl in Deutschland und Südafrika unterschiedliche Tests angewendet werden, um eine neuropsychiatrische Beeinträchtigung zu identifizieren, können die Ergebnisse der Tests dennoch miteinander verglichen werden. In den deutschen Patienten wurden HAND-Kandidaten mit der HIV-Demenz Skala (HDS) identifiziert. In Südafrika wurde die Internationale HDS (IHDS) verwendet. Die HDS und die IHDS haben ähnliche Spezifität (Haddow *et al.*, 2013; Zipursky *et al.*, 2013). Südafrikanische Personen wurden einerseits mit der IHDS, andererseits mit dem *global deficit score* (GDS) beurteilt. Der GDS gibt besseren Aufschluss über den neuropsychiatrischen Zustand einer Person als die IHDS, er ist genauer und zuverlässiger.

Neben dem Subtyp gibt es weitere Risikofaktoren für HAND, die einen Einfluss auf die Häufigkeit von HAND haben können. Diese sind z.B. geringere CD4⁺-Zellzahlen, höheres Alter, geringere Schulbildung, Drogen- und Alkoholkonsum; auch Mangelernährung, z.B. Vitamin B12-Mangel, kann eine Rolle spielen (Chiesi *et al.*, 1996; Tozzi *et al.*, 2005), erläutert von (Joska *et al.*, 2010).

In dieser Arbeit wurde zum ersten Mal gezeigt, dass in Afrikanern der RANTES-403-Polymorphismus funktionell ist und direkt mit der Konzentration des immunsuppressiven Faktors RANTES im Plasma assoziiert ist. Die RANTES-Konzentration ist HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen vergleichbar. Südafrikanische HIV-Patienten zeigen im Vergleich zu nicht-Infizierten dagegen eine signifikant erhöhte T-Zellaktivierung und signifikant höhere Plasma-Konzentrationen von MCP-1, sCD14 und suPAR. Deutsche HIV-Patienten und nicht-Infizierte zeigen keine Unterschiede in den MCP-1-, sCD14- und suPAR-Konzentrationen. Zusätzlich liegen in südafrikanischen HIV-Patienten gesteigerte sCD14- und suPAR-Konzentrationen im Vergleich zu deutschen HIV-Patienten vor.

Insgesamt lässt sich sagen, dass deutsche nicht-infizierte und HIV-infizierte Personen lediglich geringe Unterschiede in der Immunaktivierung zeigen, in südafrikanischen HIV-Patienten hingegen vier analysierte Immunmarker im Vergleich zu nicht-infizierten Personen signifikant erhöht sind. Die Ursache dieser erhöhten Immunaktivierung in südafrikanischen HIV-Patienten und ob diese einen Einfluss auf den Langzeit-Krankheitsverlauf hat, bleibt zu klären. Zusätzlich liegen vier Immunmarker in südafrikanischen HIV-Patienten mit und ohne HAART in vergleichbaren Konzentrationen vor. Diese Tatsachen weisen darauf hin, dass HAART in unserer südafrikanischen Kohorte nur suboptimal funktioniert. Dies könnte einerseits durch Resistenz-assoziierte Mutationen hervorgerufen worden sein, andererseits

durch die Einnahme von antiretrovialen Medikamenten ohne ärztliche Aufsicht (z.B. durch das sog. *drug sharing*).

Zusammenfassend wurde in dieser Studie ein möglicher genetischer Risiko-Faktor für die HIV-Infektion identifiziert. Der Risiko-Genotyp 10/10 des Dopamin-Transporter-Polymorphismus ist in HIV-Patienten signifikant häufiger vorhanden als in nicht-infizierten Personen. Personen mit diesem Genotyp haben eine höhere Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor bzw. eine reduzierte mRNA-DAT-Expression auf PBMCs. Diese Personen weisen möglicherweise ein anderes Verhalten auf und sind impulsiver und risikofreudiger als Personen mit einer niedrigeren Dopamin-Verfügbarkeit, was vermutlich auch das Sexualleben betrifft; dadurch ist die Wahrscheinlichkeit für eine HIV-Infektion erhöht. Möglicherweise wird die erhöhte Dopamin-Konzentration also nicht von HIV selbst hervorgerufen, sondern ist durch die genetische Konstitution bedingt, wodurch die Wahrscheinlichkeit für eine HIV-Infektion erhöht sein könnte. Zudem war der DAT-Risiko-Genotyp mit einer erhöhten MCP-1-Konzentration im Plasma verbunden. Die Erhöhung von Immunmarkern ist mit einer schnelleren Progression bzw. einer schlechteren Prognose der HIV-Infektion verknüpft, u.a., weil die chronische Immunaktivierung letztendlich zu einer Erschöpfung des Immunsystems beiträgt. Zwar war die Stichprobenanzahl mit 190 Teilnehmern eher gering, die unterschiedliche Allelverteilung im DAT-Polymorphismus wurde jedoch in zwei ethnisch unterschiedlichen Kohorten, einer deutschen und einer südafrikanischen gefunden. In diesen beiden Kohorten treten andere Subtypen des Virus, andere Transmissionswege (homosexuelle Transmission in Deutschland und heterosexuelle in Südafrika) und andere Umweltbedingungen auf. Um diese interessanten Resultate zu bekräftigen, müssen neue Studien mit einer größeren Stichprobenanzahl geplant werden.

QUELLEN

- AIDS-Gesellschaft, D. (2014).** Deutsch-Österreichische Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion.
- Albert, P. R. (2011).** What is a functional genetic polymorphism? Defining classes of functionality. *Journal of psychiatry & neuroscience : JPN* **36**, 363-365.
- Allen, G. F., Ullah, Y., Hargreaves, I. P., Land, J. M. & Heales, S. J. (2013).** Dopamine but not l-dopa stimulates neural glutathione metabolism. Potential implications for Parkinson's and other dopamine deficiency states. *Neurochemistry international* **62**, 684-694.
- Amenta, F., Bronzetti, E., Cantalamessa, F., El-Assouad, D., Felici, L., Ricci, A. & Tayebati, S. K. (2001).** Identification of dopamine plasma membrane and vesicular transporters in human peripheral blood lymphocytes. *Journal of neuroimmunology* **117**, 133-142.
- Amstadter, A. B., Macpherson, L., Wang, F., Banducci, A. N., Reynolds, E. K., Potenza, M. N., Gelernter, J. & Lejuez, C. W. (2012).** The relationship between risk-taking propensity and the COMT Val(158)Met polymorphism among early adolescents as a function of sex. *Journal of psychiatric research* **46**, 940-945.
- An, P., Nelson, G. W., Wang, L., Donfield, S., Goedert, J. J., Phair, J., Vlahov, D., Buchbinder, S., Farrar, W. L., Modi, W., O'Brien, S. J. & Winkler, C. A. (2002).** Modulating influence on HIV/AIDS by interacting RANTES gene variants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**, 10002-10007.
- An, S. F., Giometto, B. & Scaravilli, F. (1996).** HIV-1 DNA in brains in AIDS and pre-AIDS: correlation with the stage of disease. *Annals of neurology* **40**, 611-617.
- Ances, B. M. & Ellis, R. J. (2007).** Dementia and neurocognitive disorders due to HIV-1 infection. *Seminars in neurology* **27**, 86-92.
- Ancuta, P., Kamat, A., Kunstman, K. J., Kim, E. Y., Autissier, P., Wurcel, A., Zaman, T., Stone, D., Mefford, M., Morgello, S., Singer, E. J., Wolinsky, S. M. & Gabuzda, D. (2008).** Microbial translocation is associated with increased monocyte activation and dementia in AIDS patients. *PloS one* **3**, e2516.
- Antinori, A., Arendt, G., Becker, J. T., Brew, B. J., Byrd, D. A., Cherner, M., Clifford, D. B., Cinque, P., Epstein, L. G., Goodkin, K., Gisslen, M., Grant, I., Heaton, R. K., Joseph, J., Marder, K., Marra, C. M., McArthur, J. C., Nunn, M., Price, R. W., Pulliam, L., Robertson, K. R., Sacktor, N., Valcour, V. & Wojna, V. E. (2007).** Updated research nosology for HIV-associated neurocognitive disorders. *Neurology* **69**, 1789-1799.
- Arendt, G. (2007).** *Klinische Neurologie, Neurologische und neuropsychiatrische Aspekte der HIV-Infektion*. Stuttgart: Verlag Kohlhammer.
- Arendt, G., Hefter, H., Elsing, C., Strohmeyer, G. & Freund, H. J. (1990).** Motor dysfunction in HIV-infected patients without clinically detectable central-nervous deficit. *Journal of neurology* **237**, 362-368.
- Arendt, G. & Nolting, T. (2012).** [Neuro-AIDS in the cART era]. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie* **80**, 450-457.
- Arias-Carrion, O., Stamelou, M., Murillo-Rodriguez, E., Menendez-Gonzalez, M. & Poppel, E. (2010).** Dopaminergic reward system: a short integrative review. *International archives of medicine* **3**, 24.
- Aylward, E. H., Henderer, J. D., McArthur, J. C., Brettschneider, P. D., Harris, G. J., Barta, P. E. & Pearlson, G. D. (1993).** Reduced basal ganglia volume in HIV-1-associated dementia: results from quantitative neuroimaging. *Neurology* **43**, 2099-2104.
- Baik, J. H. (2013).** Dopamine signaling in reward-related behaviors. *Frontiers in neural circuits* **7**, 152.
- Barbanti, P., Fabbrini, G., Ricci, A., Cerbo, R., Bronzetti, E., Caronti, B., Calderaro, C., Felici, L., Stocchi, F., Meco, G., Amenta, F. & Lenzi, G. L. (1999).** Increased expression of dopamine receptors on lymphocytes in Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* **14**, 764-771.
- Barroga, C. F., Raskino, C., Fangon, M. C., Palumbo, P. E., Baker, C. J., Englund, J. A. & Spector, S. A. (2000).** The CCR5Delta32 allele slows disease progression of human

- immunodeficiency virus-1-infected children receiving antiretroviral treatment. *The Journal of infectious diseases* **182**, 413-419.
- Bennett, B. A., Hollingsworth, C. K., Martin, R. S. & Harp, J. J. (1998).** Methamphetamine-induced alterations in dopamine transporter function. *Brain research* **782**, 219-227.
- Bergquist, J., Tarkowski, A., Ekman, R. & Ewing, A. (1994).** Discovery of endogenous catecholamines in lymphocytes and evidence for catecholamine regulation of lymphocyte function via an autocrine loop. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **91**, 12912-12916.
- Besser, M. J., Ganor, Y. & Levite, M. (2005).** Dopamine by itself activates either D2, D3 or D1/D5 dopaminergic receptors in normal human T-cells and triggers the selective secretion of either IL-10, TNFalpha or both. *Journal of neuroimmunology* **169**, 161-171.
- Bilder, R. M., Volavka, J., Czobor, P., Malhotra, A. K., Kennedy, J. L., Ni, X., Goldman, R. S., Hoptman, M. J., Sheitman, B., Lindenmayer, J. P., Citrome, L., McEvoy, J. P., Kunz, M., Chakos, M., Cooper, T. B. & Lieberman, J. A. (2002).** Neurocognitive correlates of the COMT Val(158)Met polymorphism in chronic schizophrenia. *Biological psychiatry* **52**, 701-707.
- Bjorklund, A. & Dunnett, S. B. (2007).** Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends in neurosciences* **30**, 194-202.
- Boonstra, A. M., Kooij, J. J., Buitelaar, J. K., Oosterlaan, J., Sergeant, J. A., Heister, J. G. & Franke, B. (2008).** An exploratory study of the relationship between four candidate genes and neurocognitive performance in adult ADHD. *American journal of medical genetics Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* **147**, 397-402.
- Boven, L. A., Gomes, L., Hery, C., Gray, F., Verhoef, J., Portegies, P., Tardieu, M. & Nottet, H. S. (1999).** Increased peroxynitrite activity in AIDS dementia complex: implications for the neuropathogenesis of HIV-1 infection. *Journal of immunology* **162**, 4319-4327.
- Brenchley, J. M., Price, D. A., Schacker, T. W., Asher, T. E., Silvestri, G., Rao, S., Kazzaz, Z., Bornstein, E., Lambotte, O., Altmann, D., Blazar, B. R., Rodriguez, B., Teixeira-Johnson, L., Landay, A., Martin, J. N., Hecht, F. M., Picker, L. J., Lederman, M. M., Deeks, S. G. & Douek, D. C. (2006).** Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nature medicine* **12**, 1365-1371.
- Brenchley, J. M., Schacker, T. W., Ruff, L. E., Price, D. A., Taylor, J. H., Beilman, G. J., Nguyen, P. L., Khoruts, A., Larson, M., Haase, A. T. & Douek, D. C. (2004).** CD4+ T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract. *The Journal of experimental medicine* **200**, 749-759.
- Brenneman, D. E., Westbrook, G. L., Fitzgerald, S. P., Ennist, D. L., Elkins, K. L., Ruff, M. R. & Pert, C. B. (1988).** Neuronal cell killing by the envelope protein of HIV and its prevention by vasoactive intestinal peptide. *Nature* **335**, 639-642.
- Brito-Melo, G. E., Nicolato, R., de Oliveira, A. C., Menezes, G. B., Lelis, F. J., Avelar, R. S., Sa, J., Bauer, M. E., Souza, B. R., Teixeira, A. L. & Reis, H. J. (2012).** Increase in dopaminergic, but not serotonergic, receptors in T-cells as a marker for schizophrenia severity. *Journal of psychiatric research* **46**, 738-742.
- Buttarelli, F. R., Fanciulli, A., Pellicano, C. & Pontieri, F. E. (2011).** The dopaminergic system in peripheral blood lymphocytes: from physiology to pharmacology and potential applications to neuropsychiatric disorders. *Current neuropharmacology* **9**, 278-288.
- C. Janeway, K. M., P. Travers, M. Walport, M. Collins, A. Fischer, R. Geha, P. Klenerman, M. Malim, S. Rowland-Jones, A. Thrasher (2009).** *Janeway Immunologie*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag
- Carey, C. L., Woods, S. P., Gonzalez, R., Conover, E., Marcotte, T. D., Grant, I., Heaton, R. K. & Group, H. (2004).** Predictive validity of global deficit scores in detecting neuropsychological impairment in HIV infection. *Journal of clinical and experimental neuropsychology* **26**, 307-319.
- Carlsson, A. (1959).** The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacological reviews* **11**, 490-493.
- Caspi, A. & Moffitt, T. E. (2006).** Gene-environment interactions in psychiatry: joining forces with neuroscience. *Nature reviews Neuroscience* **7**, 583-590.

- Chaplin, B., Eisen, G., Idoko, J., Onwujekwe, D., Idigbe, E., Adewole, I., Gashau, W., Meloni, S., Sarr, A. D., Sankale, J. L., Ekong, E., Murphy, R. L. & Kanki, P. (2011). Impact of HIV type 1 subtype on drug resistance mutations in Nigerian patients failing first-line therapy. *AIDS research and human retroviruses* 27, 71-80.
- Chen, Z. Y., Jing, D., Bath, K. G., Ieraci, A., Khan, T., Siao, C. J., Herrera, D. G., Toth, M., Yang, C., McEwen, B. S., Hempstead, B. L. & Lee, F. S. (2006). Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior. *Science* 314, 140-143.
- Chiesi, A., Vella, S., Dally, L. G., Pedersen, C., Danner, S., Johnson, A. M., Schwander, S., Goebel, F. D., Glauser, M., Antunes, F. & et al. (1996). Epidemiology of AIDS dementia complex in Europe. AIDS in Europe Study Group. *Journal of acquired immune deficiency syndromes and human retrovirology : official publication of the International Retrovirology Association* 11, 39-44.
- Choi, W. S., Machida, C. A. & Ronnekleiv, O. K. (1995). Distribution of dopamine D1, D2, and D5 receptor mRNAs in the monkey brain: ribonuclease protection assay analysis. *Brain research Molecular brain research* 31, 86-94.
- Chorley, B. N., Wang, X., Campbell, M. R., Pittman, G. S., Noureddine, M. A. & Bell, D. A. (2008). Discovery and verification of functional single nucleotide polymorphisms in regulatory genomic regions: current and developing technologies. *Mutation research* 659, 147-157.
- Clapham, P. R. & McKnight, A. (2001). HIV-1 receptors and cell tropism. *British medical bulletin* 58, 43-59.
- Clerici, M., Butto, S., Lukwiya, M., Saresella, M., Declich, S., Trabattoni, D., Pastori, C., Piconi, S., Fracasso, C., Fabiani, M., Ferrante, P., Rizzardini, G. & Lopalco, L. (2000). Immune activation in africa is environmentally-driven and is associated with upregulation of CCR5. Italian-Ugandan AIDS Project. *Aids* 14, 2083-2092.
- Clifford, D. B. (2008). HIV-associated neurocognitive disease continues in the antiretroviral era. *Topics in HIV medicine : a publication of the International AIDS Society, USA* 16, 94-98.
- Cloninger, C. R., Svrakic, D. M. & Przybeck, T. R. (1993). A psychobiological model of temperament and character. *Archives of general psychiatry* 50, 975-990.
- Cocchi, F., DeVico, A. L., Garzino-Demo, A., Arya, S. K., Gallo, R. C. & Lusso, P. (1995). Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science* 270, 1811-1815.
- Coffey, M. J., Woffendin, C., Phare, S. M., Strieter, R. M. & Markovitz, D. M. (1997). RANTES inhibits HIV-1 replication in human peripheral blood monocytes and alveolar macrophages. *The American journal of physiology* 272, L1025-1029.
- Conant, K., Garzino-Demo, A., Nath, A., McArthur, J. C., Halliday, W., Power, C., Gallo, R. C. & Major, E. O. (1998). Induction of monocyte chemoattractant protein-1 in HIV-1 Tat-stimulated astrocytes and elevation in AIDS dementia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95, 3117-3121.
- Congdon, E., Lesch, K. P. & Canli, T. (2008). Analysis of DRD4 and DAT polymorphisms and behavioral inhibition in healthy adults: implications for impulsivity. *American journal of medical genetics Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 147B, 27-32.
- Conne, B., Stutz, A. & Vassalli, J. D. (2000). The 3' untranslated region of messenger RNA: A molecular 'hotspot' for pathology? *Nature medicine* 6, 637-641.
- Cornish, K. M., Savage, R., Hocking, D. R. & Hollis, C. P. (2011). Association of the DAT1 genotype with inattentive behavior is mediated by reading ability in a general population sample. *Brain and cognition* 77, 453-458.
- Cosentino, M., Fietta, A. M., Ferrari, M., Rasini, E., Bombelli, R., Carcano, E., Saporiti, F., Meloni, F., Marino, F. & Lecchini, S. (2007). Human CD4+CD25+ regulatory T cells selectively express tyrosine hydroxylase and contain endogenous catecholamines subserving an autocrine/paracrine inhibitory functional loop. *Blood* 109, 632-642.
- Crocq, M. A., Mant, R., Asherson, P., Williams, J., Hode, Y., Mayerova, A., Collier, D., Lannfelt, L., Sokoloff, P., Schwartz, J. C. & et al. (1992). Association between schizophrenia and homozygosity at the dopamine D3 receptor gene. *Journal of medical genetics* 29, 858-860.

- Cummings, J. L. & Benson, D. F. (1984).** Subcortical dementia. Review of an emerging concept. *Archives of neurology* **41**, 874-879.
- Czub, M., Czub, S., Gosztonyi, G., Koutsilieri, E., Sopper, S., Muller, J. G., Gerlach, M., Riederer, P. & ter Meulen, V. (1999).** Effects of Selegiline in a retroviral rat model for neurodegenerative disease. *Journal of neurovirology* **5**, 458-464.
- Czub, S., Czub, M., Koutsilieri, E., Sopper, S., Villinger, F., Muller, J. G., Stahl-Hennig, C., Riederer, P., Ter Meulen, V. & Gosztonyi, G. (2004).** Modulation of simian immunodeficiency virus neuropathology by dopaminergic drugs. *Acta neuropathologica* **107**, 216-226.
- Czub, S., Koutsilieri, E., Sopper, S., Czub, M., Stahl-Hennig, C., Muller, J. G., Pedersen, V., Gsell, W., Heeney, J. L., Gerlach, M., Gosztonyi, G., Riederer, P. & ter Meulen, V. (2001).** Enhancement of central nervous system pathology in early simian immunodeficiency virus infection by dopaminergic drugs. *Acta neuropathologica* **101**, 85-91.
- Davies, J., Everall, I. P., Weich, S., McLaughlin, J., Scaravilli, F. & Lantos, P. L. (1997).** HIV-associated brain pathology in the United Kingdom: an epidemiological study. *Aids* **11**, 1145-1150.
- Davis, L. E., Hjelle, B. L., Miller, V. E., Palmer, D. L., Llewellyn, A. L., Merlin, T. L., Young, S. A., Mills, R. G., Wachsman, W. & Wiley, C. A. (1992).** Early viral brain invasion in iatrogenic human immunodeficiency virus infection. *Neurology* **42**, 1736-1739.
- de Almeida, S. M., Ribeiro, C. E., de Pereira, A. P., Badiie, J., Cherner, M., Smith, D., Maich, I., Raboni, S. M., Rotta, I., Barbosa, F. J., Heaton, R. K., Umlauf, A. & Ellis, R. J. (2013).** Neurocognitive impairment in HIV-1 clade C- versus B-infected individuals in Southern Brazil. *Journal of neurovirology* **19**, 550-556.
- Dhaouadi, T., Sfar, I., Aounallah-Skhiri, H., Jendoubi-Ayed, S., Bouacha, H., Ben Abdallah, T. & Gorgi, Y. (2013).** MCP-1, CCR2 and CCR5 polymorphisms in Tunisian patients with atopic asthma. *Iranian journal of allergy, asthma, and immunology* **12**, 29-36.
- Ding, Y. C., Chi, H. C., Grady, D. L., Morishima, A., Kidd, J. R., Kidd, K. K., Flodman, P., Spence, M. A., Schuck, S., Swanson, J. M., Zhang, Y. P. & Moyzis, R. K. (2002).** Evidence of positive selection acting at the human dopamine receptor D4 gene locus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**, 309-314.
- Do, T., Kerr, B. & Kuzhikandathil, E. V. (2007).** Brain-derived neurotrophic factor regulates the expression of D1 dopamine receptors. *Journal of neurochemistry* **100**, 416-428.
- Doble, A. (1999).** The role of excitotoxicity in neurodegenerative disease: implications for therapy. *Pharmacology & therapeutics* **81**, 163-221.
- Ebstein, R. P., Novick, O., Umansky, R., Priel, B., Osher, Y., Blaine, D., Bennett, E. R., Nemanov, L., Katz, M. & Belmaker, R. H. (1996).** Dopamine D4 receptor (D4DR) exon III polymorphism associated with the human personality trait of Novelty Seeking. *Nature genetics* **12**, 78-80.
- Effros, R. B., Allsopp, R., Chiu, C. P., Hausner, M. A., Hirji, K., Wang, L., Harley, C. B., Villeponteau, B., West, M. D. & Giorgi, J. V. (1996).** Shortened telomeres in the expanded CD28-CD8+ cell subset in HIV disease implicate replicative senescence in HIV pathogenesis. *Aids* **10**, F17-22.
- Egan, M. F., Kojima, M., Callicott, J. H., Goldberg, T. E., Kolachana, B. S., Bertolino, A., Zaitsev, E., Gold, B., Goldman, D., Dean, M., Lu, B. & Weinberger, D. R. (2003).** The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* **112**, 257-269.
- Eller, M. A., Blom, K. G., Gonzalez, V. D., Eller, L. A., Naluyima, P., Laeyendecker, O., Quinn, T. C., Kiwanuka, N., Serwadda, D., Sewankambo, N. K., Tasseneetrithep, B., Wawer, M. J., Gray, R. H., Marovich, M. A., Michael, N. L., de Souza, M. S., Wabwire-Mangen, F., Robb, M. L., Currier, J. R. & Sandberg, J. K. (2011).** Innate and adaptive immune responses both contribute to pathological CD4 T cell activation in HIV-1 infected Ugandans. *PLoS one* **6**, e18779.
- Emerman, M. (1996).** HIV-1, Vpr and the cell cycle. *Current biology : CB* **6**, 1096-1103.
- Emilien, G., Maloteaux, J. M., Geurts, M., Hoogenberg, K. & Cragg, S. (1999).** Dopamine receptors--physiological understanding to therapeutic intervention potential. *Pharmacology & therapeutics* **84**, 133-156.

- Epstein, L. G., Kuiken, C., Blumberg, B. M., Hartman, S., Sharer, L. R., Clement, M. & Goudsmit, J. (1991).** HIV-1 V3 domain variation in brain and spleen of children with AIDS: tissue-specific evolution within host-determined quasispecies. *Virology* **180**, 583-590.
- Evans, S. R., Yeh, T. M., Sacktor, N., Clifford, D. B., Simpson, D., Miller, E. N., Ellis, R. J., Valcour, V., Marra, C. M., Millar, L. & Schifitto, G. (2007).** Selegiline transdermal system (STS) for HIV-associated cognitive impairment: open-label report of ACTG 5090. *HIV clinical trials* **8**, 437-446.
- Everall, I. P., Heaton, R. K., Marcotte, T. D., Ellis, R. J., McCutchan, J. A., Atkinson, J. H., Grant, I., Mallory, M. & Masliah, E. (1999).** Cortical synaptic density is reduced in mild to moderate human immunodeficiency virus neurocognitive disorder. HNRC Group. HIV Neurobehavioral Research Center. *Brain pathology* **9**, 209-217.
- Everall, I. P., Luthert, P. J. & Lantos, P. L. (1991).** Neuronal loss in the frontal cortex in HIV infection. *Lancet* **337**, 1119-1121.
- Falkenburger, B. H., Barstow, K. L. & Mintz, I. M. (2001).** Dendrodendritic inhibition through reversal of dopamine transport. *Science* **293**, 2465-2470.
- Ferrari, M., Termine, C., Franciotta, D., Castiglioni, E., Pagani, A., Lanzi, G., Marino, F., Lecchini, S., Cosentino, M. & Balottin, U. (2008).** Dopaminergic receptor D5 mRNA expression is increased in circulating lymphocytes of Tourette syndrome patients. *Journal of psychiatric research* **43**, 24-29.
- Folks, T. M., Clouse, K. A., Justement, J., Rabson, A., Duh, E., Kehrl, J. H. & Fauci, A. S. (1989).** Tumor necrosis factor alpha induces expression of human immunodeficiency virus in a chronically infected T-cell clone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **86**, 2365-2368.
- Fourie, C. M., Van Rooyen, J. M., Kruger, A., Olsen, M. H., Eugen-Olsen, J., Schutte, R. & Schutte, A. E. (2012).** Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) is associated with metabolic changes in HIV-1-infected Africans: a prospective study. *Inflammation* **35**, 221-229.
- Fuke, S., Suo, S., Takahashi, N., Koike, H., Sasagawa, N. & Ishiura, S. (2001).** The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression. *Pharmacogenomics J* **1**, 152-156.
- Garcia, J. R., MacKillop, J., Aller, E. L., Merriwether, A. M., Wilson, D. S. & Lum, J. K. (2010).** Associations between dopamine D4 receptor gene variation with both infidelity and sexual promiscuity. *PloS one* **5**, e14162.
- Gelbard, H. A., Nottet, H. S., Swindells, S., Jett, M., Dzenko, K. A., Genis, P., White, R., Wang, L., Choi, Y. B., Zhang, D. & et al. (1994).** Platelet-activating factor: a candidate human immunodeficiency virus type 1-induced neurotoxin. *Journal of virology* **68**, 4628-4635.
- Gendelman, H. E., Orenstein, J. M., Baca, L. M., Weiser, B., Burger, H., Kalter, D. C. & Meltzer, M. S. (1989).** The macrophage in the persistence and pathogenesis of HIV infection. *Aids* **3**, 475-495.
- Genis, P., Jett, M., Bernton, E. W., Boyle, T., Gelbard, H. A., Dzenko, K., Keane, R. W., Resnick, L., Mizrahi, Y., Volsky, D. J. & et al. (1992).** Cytokines and arachidonic metabolites produced during human immunodeficiency virus (HIV)-infected macrophage-astroglia interactions: implications for the neuropathogenesis of HIV disease. *The Journal of experimental medicine* **176**, 1703-1718.
- Giorgi, J. V., Hultin, L. E., McKeating, J. A., Johnson, T. D., Owens, B., Jacobson, L. P., Shih, R., Lewis, J., Wiley, D. J., Phair, J. P., Wolinsky, S. M. & Detels, R. (1999).** Shorter survival in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection is more closely associated with T lymphocyte activation than with plasma virus burden or virus chemokine coreceptor usage. *The Journal of infectious diseases* **179**, 859-870.
- Giros, B. & Caron, M. G. (1993).** Molecular characterization of the dopamine transporter. *Trends in pharmacological sciences* **14**, 43-49.
- Giros, B., Jaber, M., Jones, S. R., Wightman, R. M. & Caron, M. G. (1996).** Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature* **379**, 606-612.
- Golden, C. J. (1976).** Identification of brain disorders by the Stroop Color and Word Test. *Journal of clinical psychology* **32**, 654-658.

- Gonzalez, E., Rovin, B. H., Sen, L., Cooke, G., Dhanda, R., Mummidi, S., Kulkarni, H., Bamshad, M. J., Telles, V., Anderson, S. A., Walter, E. A., Stephan, K. T., Deucher, M., Mangano, A., Bologna, R., Ahuja, S. S., Dolan, M. J. & Ahuja, S. K. (2002). HIV-1 infection and AIDS dementia are influenced by a mutant MCP-1 allele linked to increased monocyte infiltration of tissues and MCP-1 levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**, 13795-13800.
- Gordon, S. N., Klatt, N. R., Bosinger, S. E., Brenchley, J. M., Milush, J. M., Engram, J. C., Dunham, R. M., Paiardini, M., Klucking, S., Danesh, A., Strobert, E. A., Apetrei, C., Pandrea, I. V., Kelvin, D., Douek, D. C., Staprans, S. I., Sodora, D. L. & Silvestri, G. (2007). Severe depletion of mucosal CD4+ T cells in AIDS-free simian immunodeficiency virus-infected sooty mangabeys. *Journal of immunology* **179**, 3026-3034.
- Grandy, D. K., Litt, M., Allen, L., Bunzow, J. R., Marchionni, M., Makam, H., Reed, L., Magenis, R. E. & Civelli, O. (1989). The human dopamine D2 receptor gene is located on chromosome 11 at q22-q23 and identifies a TaqI RFLP. *American journal of human genetics* **45**, 778-785.
- Graybiel, A. M. (2000). The basal ganglia. *Current biology : CB* **10**, R509-511.
- Grebe, K. M., Hickman, H. D., Irvine, K. R., Takeda, K., Bennink, J. R. & Yewdell, J. W. (2009). Sympathetic nervous system control of anti-influenza CD8+ T cell responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**, 5300-5305.
- Grossman, Z., Feinberg, M. B. & Paul, W. E. (1998). Multiple modes of cellular activation and virus transmission in HIV infection: a role for chronically and latently infected cells in sustaining viral replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **95**, 6314-6319.
- Grossman, Z., Meier-Schellersheim, M., Sousa, A. E., Victorino, R. M. & Paul, W. E. (2002). CD4+ T-cell depletion in HIV infection: are we closer to understanding the cause? *Nature medicine* **8**, 319-323.
- Guillin, O., Griffon, N., Bezard, E., Leriche, L., Diaz, J., Gross, C. & Sokoloff, P. (2003). Brain-derived neurotrophic factor controls dopamine D3 receptor expression: therapeutic implications in Parkinson's disease. *European journal of pharmacology* **480**, 89-95.
- Gupta, S., Bousman, C. A., Chana, G., Cherner, M., Heaton, R. K., Deutsch, R., Ellis, R. J., Grant, I. & Everall, I. P. (2011). Dopamine receptor D3 genetic polymorphism (rs6280TC) is associated with rates of cognitive impairment in methamphetamine-dependent men with HIV: preliminary findings. *Journal of neurovirology* **17**, 239-247.
- Haddow, L. J., Floyd, S., Copas, A. & Gilson, R. J. (2013). A systematic review of the screening accuracy of the HIV Dementia Scale and International HIV Dementia Scale. *PLoS one* **8**, e61826.
- Haisman, J. M., Vestergaard, L. S., Sembuche, S., Erikstrup, C., Mmbando, B., Mtullu, S., Lemnge, M. M., Gerstoft, J. & Ullum, H. (2009). Plasma cytokine levels in Tanzanian HIV-1-infected adults and the effect of antiretroviral treatment. *Journal of acquired immune deficiency syndromes* **52**, 493-497.
- Hatano, H., Yukl, S. A., Ferre, A. L., Graf, E. H., Somsouk, M., Sinclair, E., Abdel-Mohsen, M., Liegler, T., Harvill, K., Hoh, R., Palmer, S., Bacchetti, P., Hunt, P. W., Martin, J. N., McCune, J. M., Tracy, R. P., Busch, M. P., O'Doherty, U., Shacklett, B. L., Wong, J. K. & Deeks, S. G. (2013). Prospective antiretroviral treatment of asymptomatic, HIV-1 infected controllers. *PLoS pathogens* **9**, e1003691.
- Hawi, Z., Segurado, R., Conroy, J., Sheehan, K., Lowe, N., Kirley, A., Shields, D., Fitzgerald, M., Gallagher, L. & Gill, M. (2005). Preferential transmission of paternal alleles at risk genes in attention-deficit/hyperactivity disorder. *American journal of human genetics* **77**, 958-965.
- Hazenbergh, M. D., Otto, S. A., van Benthem, B. H., Roos, M. T., Coutinho, R. A., Lange, J. M., Hamann, D., Prins, M. & Miedema, F. (2003). Persistent immune activation in HIV-1 infection is associated with progression to AIDS. *Aids* **17**, 1881-1888.
- Heinz, A., Goldman, D., Jones, D. W., Palmour, R., Hommer, D., Gorey, J. G., Lee, K. S., Linnoila, M. & Weinberger, D. R. (2000). Genotype influences in vivo dopamine transporter availability in human striatum. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* **22**, 133-139.

- Hemelaar, J., Gouws, E., Ghys, P. D., Osmanov, S., Isolation, W.-U. N. f. H. & Characterisation (2011).** Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000-2007. *Aids* **25**, 679-689.
- Hemmings, S. M., Martin, L. I., Klopper, M., van der Merwe, L., Aitken, L., de Wit, E., Black, G. F., Hoal, E. G., Walzl, G. & Seedat, S. (2013).** BDNF Val66Met and DRD2 Taq1A polymorphisms interact to influence PTSD symptom severity: A preliminary investigation in a South African population. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **40**, 273-280.
- Hengel, R. L., Jones, B. M., Kennedy, M. S., Hubbard, M. R. & McDougal, J. S. (2001).** Cd4+ T cells programmed to traffic to lymph nodes account for increases in numbers of cd4+ T cells up to 1 year after the initiation of highly active antiretroviral therapy for human immunodeficiency virus type 1 infection. *The Journal of infectious diseases* **184**, 93-97.
- Hinkin, C. H., van Gorp, W. G., Mandelkern, M. A., Gee, M., Satz, P., Holston, S., Marcotte, T. D., Evans, G., Paz, D. H., Ropchan, J. R. & et al. (1995).** Cerebral metabolic change in patients with AIDS: report of a six-month follow-up using positron-emission tomography. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences* **7**, 180-187.
- Horn, A., Scheller, C., du Plessis, S., Arendt, G., Nolting, T., Joska, J., Sopper, S., Maschke, M., Obermann, M., Husstedt, I. W., Hain, J., Maponga, T., Riederer, P. & Koutsilieri, E. (2013).** Increases in CSF dopamine in HIV patients are due to the dopamine transporter 10/10-repeat allele which is more frequent in HIV-infected individuals. *Journal of neural transmission* **120**, 1411-1419.
- Hughes, E. S., Bell, J. E. & Simmonds, P. (1997).** Investigation of the dynamics of the spread of human immunodeficiency virus to brain and other tissues by evolutionary analysis of sequences from the p17gag and env genes. *Journal of virology* **71**, 1272-1280.
- Hunt, P. W., Martin, J. N., Sinclair, E., Brecht, B., Hagos, E., Lampiris, H. & Deeks, S. G. (2003).** T cell activation is associated with lower CD4+ T cell gains in human immunodeficiency virus-infected patients with sustained viral suppression during antiretroviral therapy. *The Journal of infectious diseases* **187**, 1534-1543.
- Hyman, C., Hofer, M., Barde, Y. A., Juhasz, M., Yancopoulos, G. D., Squinto, S. P. & Lindsay, R. M. (1991).** BDNF is a neurotrophic factor for dopaminergic neurons of the substantia nigra. *Nature* **350**, 230-232.
- Iqbal, S. M., Ball, T. B., Kimani, J., Kiama, P., Thottingal, P., Embree, J. E., Fowke, K. R. & Plummer, F. A. (2005).** Elevated T cell counts and RANTES expression in the genital mucosa of HIV-1-resistant Kenyan commercial sex workers. *The Journal of infectious diseases* **192**, 728-738.
- Itoh, K., Mehraein, P. & Weis, S. (2000).** Neuronal damage of the substantia nigra in HIV-1 infected brains. *Acta neuropathologica* **99**, 376-384.
- Jacobs, G. B., Loxton, A. G., Laten, A., Robson, B., van Rensburg, E. J. & Engelbrecht, S. (2009).** Emergence and diversity of different HIV-1 subtypes in South Africa, 2000-2001. *Journal of medical virology* **81**, 1852-1859.
- Jacobsen, L. K., Staley, J. K., Zoghbi, S. S., Seibyl, J. P., Kosten, T. R., Innis, R. B. & Gelernter, J. (2000).** Prediction of dopamine transporter binding availability by genotype: a preliminary report. *The American journal of psychiatry* **157**, 1700-1703.
- Jeanneteau, F., Funalot, B., Jankovic, J., Deng, H., Lagarde, J. P., Lucotte, G. & Sokoloff, P. (2006).** A functional variant of the dopamine D3 receptor is associated with risk and age-at-onset of essential tremor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**, 10753-10758.
- Jijun, L., Zaiwang, L., Anyuan, L., Shuzhen, W., Fanghua, Q., Lin, Z. & Hong, L. (2010).** Abnormal expression of dopamine and serotonin transporters associated with the pathophysiologic mechanism of Tourette syndrome. *Neurology India* **58**, 523-529.
- Jonsson, E. G., Nothen, M. M., Grunhage, F., Farde, L., Nakashima, Y., Propping, P. & Sedvall, G. C. (1999).** Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. *Molecular psychiatry* **4**, 290-296.
- Joska, J. A., Fincham, D. S., Stein, D. J., Paul, R. H. & Seedat, S. (2010).** Clinical correlates of HIV-associated neurocognitive disorders in South Africa. *AIDS and behavior* **14**, 371-378.
- Kalai, M., Chaouch, L., Mansour, I. B., Hafsia, R., Ghanem, A. & Abbes, S. (2013).** Frequency of three polymorphisms of the CCL5 gene (rs2107538, rs2280788 and rs2280789) and their

- implications for the phenotypic expression of sickle cell anemia in Tunisia. *Polish journal of pathology : official journal of the Polish Society of Pathologists* **64**, 84-89.
- Kasang, C., Kalluvya, S., Majinge, C., Stich, A., Bodem, J., Kongola, G., Jacobs, G. B., Mlewa, M., Mildner, M., Hensel, I., Horn, A., Preiser, W., van Zyl, G., Klinker, H., Koutsilieri, E., Rethwilm, A., Scheller, C. & Weissbrich, B. (2011).** HIV drug resistance (HIVDR) in antiretroviral therapy-naive patients in Tanzania not eligible for WHO threshold HIVDR survey is dramatically high. *PloS one* **6**, e23091.
- Kasang, C., Ulmer, A., Donhauser, N., Schmidt, B., Stich, A., Klinker, H., Kalluvya, S., Koutsilieri, E., Rethwilm, A. & Scheller, C. (2012).** HIV patients treated with low-dose prednisolone exhibit lower immune activation than untreated patients. *BMC infectious diseases* **12**, 14.
- Kaul, M., Garden, G. A. & Lipton, S. A. (2001).** Pathways to neuronal injury and apoptosis in HIV-associated dementia. *Nature* **410**, 988-994.
- Kebabian, J. W. & Calne, D. B. (1979).** Multiple receptors for dopamine. *Nature* **277**, 93-96.
- Kenway-Lynch, C. S., Das, A., Lackner, A. A. & Pahar, B. (2014).** Cytokine/Chemokine Responses in Activated CD4+ and CD8+ T Cells Isolated from Peripheral Blood, Bone Marrow, and Axillary Lymph Nodes during Acute Simian Immunodeficiency Virus Infection. *Journal of virology* **88**, 9442-9457.
- Kerr, S. J., Armati, P. J., Guillemin, G. J. & Brew, B. J. (1998).** Chronic exposure of human neurons to quinolinic acid results in neuronal changes consistent with AIDS dementia complex. *Aids* **12**, 355-363.
- Kipnis, J., Cardon, M., Avidan, H., Lewitus, G. M., Mordechay, S., Rolls, A., Shani, Y. & Schwartz, M. (2004).** Dopamine, through the extracellular signal-regulated kinase pathway, downregulates CD4+CD25+ regulatory T-cell activity: implications for neurodegeneration. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **24**, 6133-6143.
- Klatt, N. R., Funderburg, N. T. & Brechley, J. M. (2013).** Microbial translocation, immune activation, and HIV disease. *Trends in microbiology* **21**, 6-13.
- Klove, H. (1963).** Clinical Neuropsychology. *The Medical clinics of North America* **47**, 1647-1658.
- Koen, L., Kinnear, C. J., Corfield, V. A., Emsley, R. A., Jordaan, E., Keyter, N., Moolman-Smook, J. C., Stein, D. J. & Niehaus, D. J. (2004).** Violence in male patients with schizophrenia: risk markers in a South African population. *The Australian and New Zealand journal of psychiatry* **38**, 254-259.
- Kornfeld, H., Vande Stouwe, R. A., Lange, M., Reddy, M. M. & Grieco, M. H. (1982).** T-lymphocyte subpopulations in homosexual men. *The New England journal of medicine* **307**, 729-731.
- Koutsilieri, E., Riederer, P., du Plessis, S. & Scheller, C. (2014).** A short review on the relation between the dopamine transporter 10/10-repeat allele and ADHD: implications for HIV infection. *Attention deficit and hyperactivity disorders*.
- Koutsilieri, E., Scheller, C., Sopper, S., ter Meulen, V. & Riederer, P. (2002a).** Psychiatric complications in human immunodeficiency virus infection. *Journal of neurovirology* **8 Suppl 2**, 129-133.
- Koutsilieri, E., Sopper, S., Heinemann, T., Scheller, C., Lan, J., Stahl-Hennig, C., ter Meulen, V., Riederer, P. & Gerlach, M. (1999).** Involvement of microglia in cerebrospinal fluid glutamate increase in SIV-infected rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *AIDS research and human retroviruses* **15**, 471-477.
- Koutsilieri, E., Sopper, S., Scheller, C., ter Meulen, V. & Riederer, P. (2002b).** Involvement of dopamine in the progression of AIDS Dementia Complex. *Journal of neural transmission* **109**, 399-410.
- Koutsilieri, E., Sopper, S., Scheller, C., ter Meulen, V. & Riederer, P. (2002c).** Parkinsonism in HIV dementia. *Journal of neural transmission* **109**, 767-775.
- Kramer-Hammerle, S., Rothenaigner, I., Wolff, H., Bell, J. E. & Brack-Werner, R. (2005).** Cells of the central nervous system as targets and reservoirs of the human immunodeficiency virus. *Virus research* **111**, 194-213.
- Krause, J. (2008).** SPECT and PET of the dopamine transporter in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Expert review of neurotherapeutics* **8**, 611-625.

- Kristensen, A. S., Andersen, J., Jorgensen, T. N., Sorensen, L., Eriksen, J., Loland, C. J., Stromgaard, K. & Gether, U. (2011).** SLC6 neurotransmitter transporters: structure, function, and regulation. *Pharmacological reviews* **63**, 585-640.
- Kumar, A. M., Fernandez, J. B., Singer, E. J., Commins, D., Waldrop-Valverde, D., Ownby, R. L. & Kumar, M. (2009).** Human immunodeficiency virus type 1 in the central nervous system leads to decreased dopamine in different regions of postmortem human brains. *Journal of neurovirology* **15**, 257-274.
- Kure, K., Weidenheim, K. M., Lyman, W. D. & Dickson, D. W. (1990).** Morphology and distribution of HIV-1 gp41-positive microglia in subacute AIDS encephalitis. Pattern of involvement resembling a multisystem degeneration. *Acta neuropathologica* **80**, 393-400.
- Laakso, A., Pohjalainen, T., Bergman, J., Kajander, J., Haaparanta, M., Solin, O., Syvalahti, E. & Hietala, J. (2005).** The A1 allele of the human D2 dopamine receptor gene is associated with increased activity of striatal L-amino acid decarboxylase in healthy subjects. *Pharmacogenetics and genomics* **15**, 387-391.
- Lachman, H. M., Papolos, D. F., Saito, T., Yu, Y. M., Szumlanski, C. L. & Weinshilboum, R. M. (1996).** Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* **6**, 243-250.
- Laplana, M. & Fibla, J. (2012).** Distribution of functional polymorphic variants of inflammation-related genes RANTES and CCR5 in long-lived individuals. *Cytokine* **58**, 10-13.
- Lawn, S. D., Labeta, M. O., Arias, M., Acheampong, J. W. & Griffin, G. E. (2000).** Elevated serum concentrations of soluble CD14 in HIV- and HIV+ patients with tuberculosis in Africa: prolonged elevation during anti-tuberculosis treatment. *Clinical and experimental immunology* **120**, 483-487.
- Lawn, S. D., Myer, L., Bangani, N., Vogt, M. & Wood, R. (2007).** Plasma levels of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) and early mortality risk among patients enrolling for antiretroviral treatment in South Africa. *BMC infectious diseases* **7**, 41.
- Leon-Ponte, M., Ahern, G. P. & O'Connell, P. J. (2007).** Serotonin provides an accessory signal to enhance T-cell activation by signaling through the 5-HT7 receptor. *Blood* **109**, 3139-3146.
- Leonard, E. J. & Yoshimura, T. (1990).** Human monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). *Immunology today* **11**, 97-101.
- Letendre, S. L., Ellis, R. J., Ances, B. M. & McCutchan, J. A. (2010).** Neurologic complications of HIV disease and their treatment. *Topics in HIV medicine : a publication of the International AIDS Society, USA* **18**, 45-55.
- Levine, A. J., Singer, E. J. & Shapshak, P. (2009).** The role of host genetics in the susceptibility for HIV-associated neurocognitive disorders. *AIDS and behavior* **13**, 118-132.
- Levine, A. J., Sinsheimer, J. S., Bilder, R., Shapshak, P. & Singer, E. J. (2012).** Functional polymorphisms in dopamine-related genes: effect on neurocognitive functioning in HIV+ adults. *Journal of clinical and experimental neuropsychology* **34**, 78-91.
- Lewin, B. (2002).** *Molekularbiologie der Gene*. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag
- Lichtfuss, G. F., Hoy, J., Rajasuriar, R., Kramski, M., Crowe, S. M. & Lewin, S. R. (2011).** Biomarkers of immune dysfunction following combination antiretroviral therapy for HIV infection. *Biomarkers in medicine* **5**, 171-186.
- Lien, E., Aukrust, P., Sundan, A., Muller, F., Froland, S. S. & Espevik, T. (1998).** Elevated levels of serum-soluble CD14 in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: correlation to disease progression and clinical events. *Blood* **92**, 2084-2092.
- Lindstrom, A. & Albert, J. (2003).** A simple and sensitive 'in-house' method for determining genotypic drug resistance in HIV-1. *Journal of virological methods* **107**, 45-51.
- Liu, R., Paxton, W. A., Choe, S., Ceradini, D., Martin, S. R., Horuk, R., MacDonald, M. E., Stuhlmann, H., Koup, R. A. & Landau, N. R. (1996).** Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell* **86**, 367-377.
- Liu, Y., Tang, X. P., McArthur, J. C., Scott, J. & Gartner, S. (2000).** Analysis of human immunodeficiency virus type 1 gp160 sequences from a patient with HIV dementia: evidence for monocyte trafficking into brain. *Journal of neurovirology* **6 Suppl 1**, S70-81.

- Lopez, O. L., Smith, G., Meltzer, C. C. & Becker, J. T. (1999).** Dopamine systems in human immunodeficiency virus-associated dementia. *Neuropsychiatry, neuropsychology, and behavioral neurology* **12**, 184-192.
- Lundstrom, K. & Turpin, M. P. (1996).** Proposed schizophrenia-related gene polymorphism: expression of the Ser9Gly mutant human dopamine D3 receptor with the Semliki Forest virus system. *Biochemical and biophysical research communications* **225**, 1068-1072.
- Lynch, D. R., Mozley, P. D., Sokol, S., Maas, N. M., Balcer, L. J. & Siderowf, A. D. (2003).** Lack of effect of polymorphisms in dopamine metabolism related genes on imaging of TRODAT-1 in striatum of asymptomatic volunteers and patients with Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* **18**, 804-812.
- M. Bear, B. C., M. Paradiso (2007).** *Neuroscience, Exploring the brain*. Baltimore, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Madsen, C. D., Ferraris, G. M., Andolfo, A., Cunningham, O. & Sidenius, N. (2007).** uPAR-induced cell adhesion and migration: vitronectin provides the key. *The Journal of cell biology* **177**, 927-939.
- Malavasi, F., Deaglio, S., Funaro, A., Ferrero, E., Horenstein, A. L., Ortolan, E., Vaisitti, T. & Aydin, S. (2008).** Evolution and function of the ADP ribosyl cyclase/CD38 gene family in physiology and pathology. *Physiological reviews* **88**, 841-886.
- Malhotra, A. K., Kestler, L. J., Mazzanti, C., Bates, J. A., Goldberg, T. & Goldman, D. (2002).** A functional polymorphism in the COMT gene and performance on a test of prefrontal cognition. *The American journal of psychiatry* **159**, 652-654.
- Marazziti, D., Catena Dell'osso, M., Baroni, S., Masala, I., Dell'Osso, B., Consoli, G., Giannaccini, G., Betti, L. & Lucacchini, A. (2010).** Alterations of the dopamine transporter in resting lymphocytes of patients with different psychotic disorders. *Psychiatry research* **175**, 54-57.
- Marcario, J. K., Manaye, K. F., SantaCruz, K. S., Mouton, P. R., Berman, N. E. & Cheney, P. D. (2004).** Severe subcortical degeneration in macaques infected with neurovirulent simian immunodeficiency virus. *Journal of neurovirology* **10**, 387-399.
- Marchetti, G., Merlini, E., Sinigaglia, E., Iannotti, N., Bai, F., Savoldi, A., Tincati, C., Carpani, G., Bini, T. & Arminio Monforte, A. (2012).** Immune reconstitution in HIV+ subjects on lopinavir/ritonavir-based HAART according to the severity of pre-therapy CD4+. *Current HIV research* **10**, 597-605.
- Mata, R., Hau, R., Papassotiropoulos, A. & Hertwig, R. (2012).** DAT1 polymorphism is associated with risk taking in the Balloon Analogue Risk Task (BART). *PloS one* **7**, e39135.
- McArthur, J. C., Hoover, D. R., Bacellar, H., Miller, E. N., Cohen, B. A., Becker, J. T., Graham, N. M., McArthur, J. H., Selnes, O. A., Jacobson, L. P. & et al. (1993).** Dementia in AIDS patients: incidence and risk factors. Multicenter AIDS Cohort Study. *Neurology* **43**, 2245-2252.
- McCune, J. M., Hanley, M. B., Cesar, D., Halvorsen, R., Hoh, R., Schmidt, D., Wieder, E., Deeks, S., Siler, S., Neese, R. & Hellerstein, M. (2000).** Factors influencing T-cell turnover in HIV-1-seropositive patients. *The Journal of clinical investigation* **105**, R1-8.
- McDermott, D. H., Beecroft, M. J., Kleeberger, C. A., Al-Sharif, F. M., Ollier, W. E., Zimmerman, P. A., Boatman, B. A., Leitman, S. F., Detels, R., Hajeer, A. H. & Murphy, P. M. (2000).** Chemokine RANTES promoter polymorphism affects risk of both HIV infection and disease progression in the Multicenter AIDS Cohort Study. *Aids* **14**, 2671-2678.
- McDermott, D. H., Yang, Q., Kathiresan, S., Cupples, L. A., Massaro, J. M., Keaney, J. F., Jr., Larson, M. G., Vasan, R. S., Hirschhorn, J. N., O'Donnell, C. J., Murphy, P. M. & Benjamin, E. J. (2005).** CCL2 polymorphisms are associated with serum monocyte chemoattractant protein-1 levels and myocardial infarction in the Framingham Heart Study. *Circulation* **112**, 1113-1120.
- McKenna, F., McLaughlin, P. J., Lewis, B. J., Sibbring, G. C., Cummerson, J. A., Bowen-Jones, D. & Moots, R. J. (2002).** Dopamine receptor expression on human T- and B-lymphocytes, monocytes, neutrophils, eosinophils and NK cells: a flow cytometric study. *Journal of neuroimmunology* **132**, 34-40.
- Meador-Woodruff, J. H., Grandy, D. K., Van Tol, H. H., Damask, S. P., Little, K. Y., Civelli, O. & Watson, S. J., Jr. (1994).** Dopamine receptor gene expression in the human medial

- temporal lobe. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* **10**, 239-248.
- Megra, B., Eugenin, E., Roberts, T., Morgello, S. & Berman, J. W. (2013).** Protease resistant protein cellular isoform (PrP(c)) as a biomarker: clues into the pathogenesis of HAND. *Journal of neuroimmune pharmacology : the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology* **8**, 1159-1166.
- Mehandru, S., Poles, M. A., Tenner-Racz, K., Jean-Pierre, P., Manuelli, V., Lopez, P., Shet, A., Low, A., Mohri, H., Boden, D., Racz, P. & Markowitz, M. (2006).** Lack of mucosal immune reconstitution during prolonged treatment of acute and early HIV-1 infection. *PLoS medicine* **3**, e484.
- Meisner, F., Scheller, C., Kneitz, S., Sopper, S., Neuen-Jacob, E., Riederer, P., ter Meulen, V., Koutsilieri, E. & German Competence Network, H. A. (2008).** Memantine upregulates BDNF and prevents dopamine deficits in SIV-infected macaques: a novel pharmacological action of memantine. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* **33**, 2228-2236.
- Mengod, G., Vilaro, M. T., Niznik, H. B., Sunahara, R. K., Seeman, P., O'Dowd, B. F. & Palacios, J. M. (1991).** Visualization of a dopamine D1 receptor mRNA in human and rat brain. *Brain research Molecular brain research* **10**, 185-191.
- Michelhaugh, S. K., Fiskerstrand, C., Lovejoy, E., Bannon, M. J. & Quinn, J. P. (2001).** The dopamine transporter gene (SLC6A3) variable number of tandem repeats domain enhances transcription in dopamine neurons. *Journal of neurochemistry* **79**, 1033-1038.
- Mill, J., Asherson, P., Browes, C., D'Souza, U. & Craig, I. (2002).** Expression of the dopamine transporter gene is regulated by the 3' UTR VNTR: Evidence from brain and lymphocytes using quantitative RT-PCR. *Am J Med Genet* **114**, 975-979.
- Mill, J., Curran, S., Kent, L., Richards, S., Gould, A., Virdee, V., Hockett, L., Sharp, J., Batten, C., Fernando, S., Simanoff, E., Thompson, M., Zhao, J., Sham, P., Taylor, E. & Asherson, P. (2001).** Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) and the dopamine D4 receptor gene: evidence of association but no linkage in a UK sample. *Molecular psychiatry* **6**, 440-444.
- Miller, G. M. & Madras, B. K. (2002).** Polymorphisms in the 3'-untranslated region of human and monkey dopamine transporter genes affect reporter gene expression. *Molecular psychiatry* **7**, 44-55.
- Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M. & Caron, M. G. (1998).** Dopamine receptors: from structure to function. *Physiological reviews* **78**, 189-225.
- Mollace, V., Colasanti, M., Persichini, T., Bagetta, G., Lauro, G. M. & Nistico, G. (1993).** HIV gp120 glycoprotein stimulates the inducible isoform of no synthase in human cultured astrocytoma cells. *Biochemical and biophysical research communications* **194**, 439-445.
- Moriyama, Y., Amakatsu, K. & Futai, M. (1993).** Uptake of the neurotoxin, 4-methylphenylpyridinium, into chromaffin granules and synaptic vesicles: a proton gradient drives its uptake through monoamine transporter. *Archives of biochemistry and biophysics* **305**, 271-277.
- Moses, A. V., Bloom, F. E., Pauza, C. D. & Nelson, J. A. (1993).** Human immunodeficiency virus infection of human brain capillary endothelial cells occurs via a CD4/galactosylceramide-independent mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **90**, 10474-10478.
- Mothobi, N. Z. & Brew, B. J. (2012).** Neurocognitive dysfunction in the highly active antiretroviral therapy era. *Current opinion in infectious diseases* **25**, 4-9.
- Mouillet-Richard, S., Ermonval, M., Chebassier, C., Laplanche, J. L., Lehmann, S., Launay, J. M. & Kellermann, O. (2000).** Signal transduction through prion protein. *Science* **289**, 1925-1928.
- Nakku, J., Kinyanda, E. & Hoskins, S. (2013).** Prevalence and factors associated with probable HIV dementia in an African population: A cross-sectional study of an HIV/AIDS clinic population. *BMC psychiatry* **13**, 126.
- Nath, A., Maragos, W. F., Avison, M. J., Schmitt, F. A. & Berger, J. R. (2001).** Acceleration of HIV dementia with methamphetamine and cocaine. *Journal of neurovirology* **7**, 66-71.

- Navia, B. A., Cho, E. S., Petito, C. K. & Price, R. W. (1986a).** The AIDS dementia complex: II. Neuropathology. *Annals of neurology* **19**, 525-535.
- Navia, B. A., Jordan, B. D. & Price, R. W. (1986b).** The AIDS dementia complex: I. Clinical features. *Annals of neurology* **19**, 517-524.
- Nestler, E. J. & Carlezon, W. A., Jr. (2006).** The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biological psychiatry* **59**, 1151-1159.
- New, D. R., Ma, M., Epstein, L. G., Nath, A. & Gelbard, H. A. (1997).** Human immunodeficiency virus type 1 Tat protein induces death by apoptosis in primary human neuron cultures. *Journal of neurovirology* **3**, 168-173.
- Nickel, R. G., Casolaro, V., Wahn, U., Beyer, K., Barnes, K. C., Plunkett, B. S., Freidhoff, L. R., Sengler, C., Plitt, J. R., Schleimer, R. P., Caraballo, L., Naidu, R. P., Levett, P. N., Beaty, T. H. & Huang, S. K. (2000).** Atopic dermatitis is associated with a functional mutation in the promoter of the C-C chemokine RANTES. *Journal of immunology* **164**, 1612-1616.
- Njamnshi, A. K., Djientcheu Vde, P., Fonsah, J. Y., Yepnjio, F. N., Njamnshi, D. M. & Muna, W. E. (2008).** The International HIV Dementia Scale is a useful screening tool for HIV-associated dementia/cognitive impairment in HIV-infected adults in Yaounde-Cameroon. *Journal of acquired immune deficiency syndromes* **49**, 393-397.
- Nyamweya, S., Townend, J., Zaman, A., Steele, S. J., Jeffries, D., Rowland-Jones, S., Whittle, H., Flanagan, K. L. & Jaye, A. (2012).** Are plasma biomarkers of immune activation predictive of HIV progression: a longitudinal comparison and analyses in HIV-1 and HIV-2 infections? *PloS one* **7**, e44411.
- Obermann, M., Kuper, M., Kastrup, O., Yaldizli, O., Esser, S., Thiermann, J., Koutsilieri, E., Arendt, G., Diener, H. C., Maschke, M. & German Competence Network, H. A. (2009).** Substantia nigra hyperechogenicity and CSF dopamine depletion in HIV. *Journal of neurology* **256**, 948-953.
- Oliveira, I., Andersen, A., Furtado, A., Medina, C., da Silva, D., da Silva, Z. J., Aaby, P., Laursen, A. L., Wejse, C. & Eugen-Olsen, J. (2012).** Assessment of simple risk markers for early mortality among HIV-infected patients in Guinea-Bissau: a cohort study. *BMJ open* **2**.
- Ortega, M., Heaps, J. M., Joska, J., Vaida, F., Seedat, S., Stein, D. J., Paul, R. & Ances, B. M. (2013).** HIV clades B and C are associated with reduced brain volumetrics. *Journal of neurovirology* **19**, 479-487.
- Ostadali, M. R., Ahangari, G., Eslami, M. B., Razavi, A., Zarrindast, M. R., Ahmadkhaniha, H. R. & Boulhari, J. (2004).** The Detection of Dopamine Gene Receptors (DRD1-DRD5) Expression on Human Peripheral Blood Lymphocytes by Real Time PCR. *Iranian journal of allergy, asthma, and immunology* **3**, 169-174.
- Ostrowski, S. R., Piironen, T., Hoyer-Hansen, G., Gerstoft, J., Pedersen, B. K. & Ullum, H. (2005).** High plasma levels of intact and cleaved soluble urokinase receptor reflect immune activation and are independent predictors of mortality in HIV-1-infected patients. *Journal of acquired immune deficiency syndromes* **39**, 23-31.
- Paraskevis, D., Pybus, O., Magiorkinis, G., Hatzakis, A., Wensing, A. M., van de Vijver, D. A., Albert, J., Angarano, G., Asjo, B., Balotta, C., Boeri, E., Camacho, R., Chaix, M. L., Coughlan, S., Costagliola, D., De Luca, A., de Mendoza, C., Derdelinckx, I., Grossman, Z., Hamouda, O., Hoepelman, I., Horban, A., Korn, K., Kucherer, C., Leitner, T., Loveday, C., Macrae, E., Maljkovic-Berry, I., Meyer, L., Nielsen, C., Op de Coul, E. L., Ormaasen, V., Perrin, L., Puchhammer-Stockl, E., Ruiz, L., Salminen, M. O., Schmit, J. C., Schuurman, R., Soriano, V., Stanczak, J., Stanojevic, M., Struck, D., Van Laethem, K., Violin, M., Yerly, S., Zazzi, M., Boucher, C. A., Vandamme, A. M. & Programme, S. (2009).** Tracing the HIV-1 subtype B mobility in Europe: a phylogeographic approach. *Retrovirology* **6**, 49.
- Perrin, L., Kaiser, L. & Yerly, S. (2003).** Travel and the spread of HIV-1 genetic variants. *The Lancet infectious diseases* **3**, 22-27.
- Petito, C. K. (2004).** Human immunodeficiency virus type 1 compartmentalization in the central nervous system. *Journal of neurovirology* **10 Suppl 1**, 21-24.
- Phillips, A. G., Vacca, G. & Ahn, S. (2008).** A top-down perspective on dopamine, motivation and memory. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* **90**, 236-249.

- Plantier, J. C., Dachraoui, R., Lemee, V., Gueudin, M., Borsa-Lebas, F., Caron, F. & Simon, F. (2005).** HIV-1 resistance genotyping on dried serum spots. *Aids* **19**, 391-397.
- Pohjalainen, T., Rinne, J. O., Nagren, K., Lehikoinen, P., Anttila, K., Syvalahti, E. K. & Hietala, J. (1998).** The A1 allele of the human D2 dopamine receptor gene predicts low D2 receptor availability in healthy volunteers. *Molecular psychiatry* **3**, 256-260.
- Poli, G., Kinter, A., Justement, J. S., Kehrl, J. H., Bressler, P., Stanley, S. & Fauci, A. S. (1990).** Tumor necrosis factor alpha functions in an autocrine manner in the induction of human immunodeficiency virus expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **87**, 782-785.
- Power, C., Selnes, O. A., Grim, J. A. & McArthur, J. C. (1995).** HIV Dementia Scale: a rapid screening test. *Journal of acquired immune deficiency syndromes and human retrovirology : official publication of the International Retrovirology Association* **8**, 273-278.
- Price, R. W., Navia, B. A. & Cho, E. S. (1986).** AIDS encephalopathy. *Neurologic clinics* **4**, 285-301.
- Proschel, M., Saunders, A., Roses, A. D. & Muller, C. R. (1992).** Dinucleotide repeat polymorphism at the human gene for the brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Hum Mol Genet* **1**, 353.
- Pumarola-Sune, T., Navia, B. A., Cordon-Cardo, C., Cho, E. S. & Price, R. W. (1987).** HIV antigen in the brains of patients with the AIDS dementia complex. *Annals of neurology* **21**, 490-496.
- Purohit, V., Rapaka, R. & Shurtleff, D. (2011).** Drugs of abuse, dopamine, and HIV-associated neurocognitive disorders/HIV-associated dementia. *Molecular neurobiology* **44**, 102-110.
- Ramel, C. (1997).** Mini- and microsatellites. *Environmental health perspectives* **105 Suppl 4**, 781-789.
- Rathore, A., Chatterjee, A., Sivarama, P., Yamamoto, N., Singhal, P. K. & Dhole, T. N. (2008).** Association of RANTES -403 G/A, -28 C/G and In1.1 T/C polymorphism with HIV-1 transmission and progression among North Indians. *Journal of medical virology* **80**, 1133-1141.
- Redd, A. D., Dabito, D., Bream, J. H., Charvat, B., Laeyendecker, O., Kiwanuka, N., Lutalo, T., Kigozi, G., Tobian, A. A., Gamiel, J., Neal, J. D., Oliver, A. E., Margolick, J. B., Sewankambo, N., Reynolds, S. J., Wawer, M. J., Serwadda, D., Gray, R. H. & Quinn, T. C. (2009).** Microbial translocation, the innate cytokine response, and HIV-1 disease progression in Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**, 6718-6723.
- Reinvang, I., Froland, S. S. & Skripeland, V. (1991).** Prevalence of neuropsychological deficit in HIV infection. Incipient signs of AIDS dementia complex in patients with AIDS. *Acta neurologica Scandinavica* **83**, 289-293.
- Rippeth, J. D., Heaton, R. K., Carey, C. L., Marcotte, T. D., Moore, D. J., Gonzalez, R., Wolfson, T., Grant, I. & Group, H. (2004).** Methamphetamine dependence increases risk of neuropsychological impairment in HIV infected persons. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* **10**, 1-14.
- Roberts, T. K., Eugenin, E. A., Morgello, S., Clements, J. E., Zink, M. C. & Berman, J. W. (2010).** PrPC, the cellular isoform of the human prion protein, is a novel biomarker of HIV-associated neurocognitive impairment and mediates neuroinflammation. *The American journal of pathology* **177**, 1848-1860.
- Robertson, K., Liner, J., Hakim, J., Sankale, J. L., Grant, I., Letendre, S., Clifford, D., Diop, A. G., Jaye, A., Kanmogne, G., Njamnshi, A., Langford, T. D., Weyessa, T. G., Wood, C., Banda, M., Hosseinipour, M., Sacktor, N., Nakasuja, N., Bangirana, P., Paul, R., Joska, J., Wong, J., Boivin, M., Holding, P., Kammerer, B., Van Rie, A., Ive, P., Nath, A., Lawler, K., Adebamowo, C., Royal, W., 3rd, Joseph, J. & Neuro, A. i. A. C. P. (2010).** NeuroAIDS in Africa. *Journal of neurovirology* **16**, 189-202.
- Rohr, O., Sawaya, B. E., Lecestre, D., Aunis, D. & Schaeffer, E. (1999).** Dopamine stimulates expression of the human immunodeficiency virus type 1 via NF-kappaB in cells of the immune system. *Nucleic acids research* **27**, 3291-3299.
- Rosenberg, Y. J., Anderson, A. O. & Pabst, R. (1998).** HIV-induced decline in blood CD4/CD8 ratios: viral killing or altered lymphocyte trafficking? *Immunology today* **19**, 10-17.

- Rottenberg, D. A., Moeller, J. R., Strother, S. C., Sidtis, J. J., Navia, B. A., Dhawan, V., Ginos, J. Z. & Price, R. W. (1987). The metabolic pathology of the AIDS dementia complex. *Annals of neurology* **22**, 700-706.
- Rovin, B. H., Lu, L. & Saxena, R. (1999). A novel polymorphism in the MCP-1 gene regulatory region that influences MCP-1 expression. *Biochemical and biophysical research communications* **259**, 344-348.
- S. J. Flint, L. W. E., V. R. Racaniello, A. M. Skalka (2009). *Principles of Virology*. Washington DC: ASM Press.
- S. Modrow, D. F. (1997). *Molekulare Virologie*. Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum akademischer Verlag.
- Sacktor, N., Lyles, R. H., Skolasky, R., Kleeberger, C., Selnes, O. A., Miller, E. N., Becker, J. T., Cohen, B., McArthur, J. C. & Multicenter, A. C. S. (2001). HIV-associated neurologic disease incidence changes:: Multicenter AIDS Cohort Study, 1990-1998. *Neurology* **56**, 257-260.
- Sacktor, N., Nakasujja, N., Skolasky, R. L., Rezapour, M., Robertson, K., Musisi, S., Katabira, E., Ronald, A., Clifford, D. B., Laeyendecker, O. & Quinn, T. C. (2009). HIV subtype D is associated with dementia, compared with subtype A, in immunosuppressed individuals at risk of cognitive impairment in Kampala, Uganda. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **49**, 780-786.
- Sacktor, N. C., Wong, M., Nakasujja, N., Skolasky, R. L., Selnes, O. A., Musisi, S., Robertson, K., McArthur, J. C., Ronald, A. & Katabira, E. (2005). The International HIV Dementia Scale: a new rapid screening test for HIV dementia. *Aids* **19**, 1367-1374.
- Saha, B., Mondal, A. C., Majumder, J., Basu, S. & Dasgupta, P. S. (2001). Physiological concentrations of dopamine inhibit the proliferation and cytotoxicity of human CD4+ and CD8+ T cells in vitro: a receptor-mediated mechanism. *Neuroimmunomodulation* **9**, 23-33.
- Samikkannu, T., Agudelo, M., Gandhi, N., Reddy, P. V., Saiyed, Z. M., Nwankwo, D. & Nair, M. P. (2011). Human immunodeficiency virus type 1 clade B and C gp120 differentially induce neurotoxin arachidonic acid in human astrocytes: implications for neuroAIDS. *Journal of neurovirology* **17**, 230-238.
- Sandler, N. G., Wand, H., Roque, A., Law, M., Nason, M. C., Nixon, D. E., Pedersen, C., Ruxrungtham, K., Lewin, S. R., Emery, S., Neaton, J. D., Brenchley, J. M., Deeks, S. G., Sereti, I., Douek, D. C. & Group, I. S. S. (2011). Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. *The Journal of infectious diseases* **203**, 780-790.
- Sanger, F., Nicklen, S. & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **74**, 5463-5467.
- Santovito, A., Cervella, P., Selvaggi, A., Caviglia, G. P., Burgarello, C., Sella, G., Salvarani, B. & Delpero, M. (2008). DAT1 VNTR polymorphisms in a European and an African population: identification of a new allele. *Human biology* **80**, 191-198.
- Sardar, A. M., Czudek, C. & Reynolds, G. P. (1996). Dopamine deficits in the brain: the neurochemical basis of parkinsonian symptoms in AIDS. *Neuroreport* **7**, 910-912.
- Schellekens, A. F., Franke, B., Ellenbroek, B., Cools, A., de Jong, C. A., Buitelaar, J. K. & Verkes, R. J. (2012). Reduced dopamine receptor sensitivity as an intermediate phenotype in alcohol dependence and the role of the COMT Val158Met and DRD2 Taq1A genotypes. *Archives of general psychiatry* **69**, 339-348.
- Scheller, C., Arendt, G., Nolting, T., Antke, C., Sopper, S., Maschke, M., Obermann, M., Angerer, A., Husstedt, I. W., Meisner, F., Neuen-Jacob, E., Muller, H. W., Carey, P., Ter Meulen, V., Riederer, P. & Koutsilieri, E. (2010). Increased dopaminergic neurotransmission in therapy-naive asymptomatic HIV patients is not associated with adaptive changes at the dopaminergic synapses. *Journal of neural transmission* **117**, 699-705.
- Scheller, C., Sopper, S., Jassoy, C., ter Meulen, V., Riederer, P. & Koutsilieri, E. (2000). Dopamine activates HIV in chronically infected T lymphoblasts. *Journal of neural transmission* **107**, 1483-1489.
- Scheller, C., Sopper, S., Jenuwein, M., Neuen-Jacob, E., Tatschner, T., Grunblatt, E., ter Meulen, V., Riederer, P. & Koutsilieri, E. (2005). Early impairment in dopaminergic

- neurotransmission in brains of SIV-infected rhesus monkeys due to microglia activation. *Journal of neurochemistry* **95**, 377-387.
- Schifitto, G., Zhang, J., Evans, S. R., Sacktor, N., Simpson, D., Millar, L. L., Hung, V. L., Miller, E. N., Smith, E., Ellis, R. J., Valcour, V., Singer, E., Marra, C. M., Kolson, D., Weihe, J., Rummel, R., Katzenstein, D. & Clifford, D. B. (2007).** A multicenter trial of selegiline transdermal system for HIV-associated cognitive impairment. *Neurology* **69**, 1314-1321.
- Schulz, B. (2014).** HIV-Prävention in Südafrika: Bunte Präservative sollen "Kondom-Müdigkeit" stoppen. Frankfurt: Reuters
- Seyffert, W. (2003).** *Lehrbuch der Genetik*. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag
- Shahlaie, K., Hawk, M. W., Hu, B. R., Theis, J. H. & Kim, K. D. (2005).** Parasitic central nervous system infections: echinococcus and schistosoma. *Reviews in neurological diseases* **2**, 176-185.
- Shapiro, A. M., Benedict, R. H., Schretlen, D. & Brandt, J. (1999).** Construct and concurrent validity of the Hopkins Verbal Learning Test-revised. *The Clinical neuropsychologist* **13**, 348-358.
- Sidenius, N., Nebuloni, M., Sala, S., Zerbi, P., Price, R. W., Gisslen, M., Hagberg, L., Vago, L., Lazzarin, A., Blasi, F. & Cinque, P. (2004).** Expression of the urokinase plasminogen activator and its receptor in HIV-1-associated central nervous system disease. *Journal of neuroimmunology* **157**, 133-139.
- Sidenius, N., Sier, C. F., Ullum, H., Pedersen, B. K., Lepri, A. C., Blasi, F. & Eugen-Olsen, J. (2000).** Serum level of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor is a strong and independent predictor of survival in human immunodeficiency virus infection. *Blood* **96**, 4091-4095.
- Silvestri, G., Sodora, D. L., Koup, R. A., Paiardini, M., O'Neil, S. P., McClure, H. M., Staprans, S. I. & Feinberg, M. B. (2003).** Nonpathogenic SIV infection of sooty mangabeys is characterized by limited bystander immunopathology despite chronic high-level viremia. *Immunity* **18**, 441-452.
- Smit, T. K., Brew, B. J., Tourtellotte, W., Morgello, S., Gelman, B. B. & Saksena, N. K. (2004).** Independent evolution of human immunodeficiency virus (HIV) drug resistance mutations in diverse areas of the brain in HIV-infected patients, with and without dementia, on antiretroviral treatment. *Journal of virology* **78**, 10133-10148.
- Smith, Y. & Villalba, R. (2008).** Striatal and extrastriatal dopamine in the basal ganglia: an overview of its anatomical organization in normal and Parkinsonian brains. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* **23 Suppl 3**, S534-547.
- Strelow, L. I., Watry, D. D., Fox, H. S. & Nelson, J. A. (1998).** Efficient infection of brain microvascular endothelial cells by an in vivo-selected neuroinvasive SIVmac variant. *Journal of neurovirology* **4**, 269-280.
- Sun, J., Xu, J., Cairns, N. J., Perlmutter, J. S. & Mach, R. H. (2012).** Dopamine D1, D2, D3 receptors, vesicular monoamine transporter type-2 (VMAT2) and dopamine transporter (DAT) densities in aged human brain. *PloS one* **7**, e49483.
- Sundermann, E. E., Bishop, J. R., Rubin, L. H., Aouizerat, B., Wilson, T. E., Weber, K. M., Cohen, M., Golub, E., Anastos, K., Liu, C., Crystal, H., Pearce, C. L. & Maki, P. M. (2013).** HIV serostatus differs by catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype. *Aids* **27**, 1779-1782.
- Takahashi, H. (2013).** PET neuroimaging of extrastriatal dopamine receptors and prefrontal cortex functions. *Journal of physiology, Paris* **107**, 503-509.
- Tozzi, V., Balestra, P., Lorenzini, P., Bellagamba, R., Galgani, S., Corpolongo, A., Vlassi, C., Larussa, D., Zaccarelli, M., Noto, P., Visco-Comandini, U., Giulianelli, M., Ippolito, G., Antinori, A. & Narciso, P. (2005).** Prevalence and risk factors for human immunodeficiency virus-associated neurocognitive impairment, 1996 to 2002: results from an urban observational cohort. *Journal of neurovirology* **11**, 265-273.
- Uhl, G. R. (2003).** Dopamine transporter: basic science and human variation of a key molecule for dopaminergic function, locomotion, and parkinsonism. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* **18 Suppl 7**, S71-80.
- UNAIDS (2012).** UNAIDS Report on the global AIDS epidemic.
- UNAIDS (2013).** UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2013.

- Vallone, D., Picetti, R. & Borrelli, E. (2000).** Structure and function of dopamine receptors. *Neuroscience and biobehavioral reviews* **24**, 125-132.
- van de Giessen, E., de Win, M. M., Tanck, M. W., van den Brink, W., Baas, F. & Booij, J. (2009).** Striatal dopamine transporter availability associated with polymorphisms in the dopamine transporter gene SLC6A3. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* **50**, 45-52.
- Van Tol, H. H., Wu, C. M., Guan, H. C., Ohara, K., Bunzow, J. R., Civelli, O., Kennedy, J., Seeman, P., Niznik, H. B. & Jovanovic, V. (1992).** Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population. *Nature* **358**, 149-152.
- van Zyl, G. U., Claassen, M., Engelbrecht, S., Laten, J. D., Cotton, M. F., Theron, G. B. & Preiser, W. (2008).** Zidovudine with nevirapine for the prevention of HIV mother-to-child transmission reduces nevirapine resistance in mothers from the Western Cape, South Africa. *Journal of medical virology* **80**, 942-946.
- Vandenbergh, D. J., Persico, A. M. & Uhl, G. R. (1992).** A human dopamine transporter cDNA predicts reduced glycosylation, displays a novel repetitive element and provides racially-dimorphic TaqI RFLPs. *Brain research Molecular brain research* **15**, 161-166.
- VanNess, S. H., Owens, M. J. & Kilts, C. D. (2005).** The variable number of tandem repeats element in DAT1 regulates in vitro dopamine transporter density. *BMC Genet* **6**, 55.
- Varrone, A. & Halldin, C. (2010).** Molecular imaging of the dopamine transporter. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* **51**, 1331-1334.
- Velez Edwards, D. R., Tacconelli, A., Wejse, C., Hill, P. C., Morris, G. A., Edwards, T. L., Gilbert, J. R., Myers, J. L., Park, Y. S., Stryjewski, M. E., Abbate, E., Estevan, R., Rabna, P., Novelli, G., Hamilton, C. D., Adegbola, R., Ostergaard, L., Williams, S. M., Scott, W. K. & Sirugo, G. (2012).** MCP1 SNPs and pulmonary tuberculosis in cohorts from West Africa, the USA and Argentina: lack of association or epistasis with IL12B polymorphisms. *PLoS one* **7**, e32275.
- Wagner, A. K., Ren, D., Conley, Y. P., Ma, X., Kerr, M. E., Zafonte, R. D., Puccio, A. M., Marion, D. W. & Dixon, C. E. (2007).** Sex and genetic associations with cerebrospinal fluid dopamine and metabolite production after severe traumatic brain injury. *Journal of neurosurgery* **106**, 538-547.
- Wakida, N., Kiguchi, N., Saika, F., Nishiue, H., Kobayashi, Y. & Kishioka, S. (2014).** CC-chemokine ligand 2 facilitates conditioned place preference to methamphetamine through the activation of dopamine systems. *Journal of pharmacological sciences* **125**, 68-73.
- Waldman, I. D., Rowe, D. C., Abramowitz, A., Kozel, S. T., Mohr, J. H., Sherman, S. L., Cleveland, H. H., Sanders, M. L., Gard, J. M. & Stever, C. (1998).** Association and linkage of the dopamine transporter gene and attention-deficit hyperactivity disorder in children: heterogeneity owing to diagnostic subtype and severity. *American journal of human genetics* **63**, 1767-1776.
- Wang, G. J., Chang, L., Volkow, N. D., Telang, F., Logan, J., Ernst, T. & Fowler, J. S. (2004).** Decreased brain dopaminergic transporters in HIV-associated dementia patients. *Brain* **127**, 2452-2458.
- Wester, P., Bergstrom, U., Eriksson, A., Gezelius, C., Hardy, J. & Winblad, B. (1990).** Ventricular cerebrospinal fluid monoamine transmitter and metabolite concentrations reflect human brain neurochemistry in autopsy cases. *Journal of neurochemistry* **54**, 1148-1156.
- Westerink, B. H. (1985).** Sequence and significance of dopamine metabolism in the rat brain. *Neurochemistry international* **7**, 221-227.
- WHO (2012).** HIV drug resistance report 2012.
- Williamson, C., Loubser, S. A., Brice, B., Joubert, G., Smit, T., Thomas, R., Visagie, M., Cooper, M. & van der Ryst, E. (2000).** Allelic frequencies of host genetic variants influencing susceptibility to HIV-1 infection and disease in South African populations. *Aids* **14**, 449-451.
- Yokel, R. A. & Wise, R. A. (1975).** Increased lever pressing for amphetamine after pimozide in rats: implications for a dopamine theory of reward. *Science* **187**, 547-549.
- Zhang, L., Hu, L., Li, X., Zhang, J. & Chen, B. (2014).** The DRD2 rs1800497 polymorphism increase the risk of mood disorder: evidence from an update meta-analysis. *Journal of affective disorders* **158**, 71-77.

- Zhao, W., Huang, Y., Liu, Z., Cao, B. B., Peng, Y. P. & Qiu, Y. H. (2013).** Dopamine receptors modulate cytotoxicity of natural killer cells via cAMP-PKA-CREB signaling pathway. *PloS one* **8**, e65860.
- Zipursky, A. R., Gogolishvili, D., Rueda, S., Brunetta, J., Carvalhal, A., McCombe, J. A., Gill, M. J., Rachlis, A., Rosenes, R., Arbess, G., Marcotte, T. & Rourke, S. B. (2013).** Evaluation of brief screening tools for neurocognitive impairment in HIV/AIDS: a systematic review of the literature. *Aids* **27**, 2385-2401.
- Zvara, A., Szekeres, G., Janka, Z., Kelemen, J. Z., Cimmer, C., Santha, M. & Puskas, L. G. (2005).** Over-expression of dopamine D2 receptor and inwardly rectifying potassium channel genes in drug-naïve schizophrenic peripheral blood lymphocytes as potential diagnostic markers. *Disease markers* **21**, 61-69.

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Eleni Koutsilieri für die freundliche Aufnahme in ihre Arbeitsgruppe, die Bereitstellung des Themas, die angenehmen Gespräche und lehrreichen Diskussionen, ihr allzeit offenes Ohr, ihre Geduld und insgesamt die ausgezeichnete Betreuung.

PD Dr. Carsten Scheller möchte ich für die Betreuung der virologischen Teilaspekte dieser Arbeit sowie die Betreuung der praktischen Arbeit, die interessanten Diskussionen und zahlreichen Anregungen danken.

Prof. Dr. Axel Rethwilm danke ich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes im Institut für Virologie und Immunbiologie sowie die freundliche Aufnahme in das Graduiertenkolleg IRTG 1522 (*HIV and associated infectious diseases in Southern Africa*) sowie die damit verbundenen Kurse und den Auslandsaufenthalt in Südafrika.

Für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens danke ich Prof. Dr. Thomas Dandekar, Lehrstuhl für Bioinformatik, Universität Würzburg.

Mein besonderer Dank für das allzeit hervorragende und herzliche Arbeitsklima sowie die hilfreichen Diskussionen gilt Eva ebenso wie Inge, Conrad, Nicole, Tatiana, Yannick, Christa, Jenny, Mathias, Uwe und Johannes. Eva, Yannick, Inge und Lena danke ich zudem für die Unterstützung im Labor.

Rainer Burger (Fakultät für Psychiatrie und Psychotherapie, Universität Würzburg) danke ich für die Einführung in die HPLC und die Messung der Dopamin-Verfügbarkeit.

Prof. Dr. Gabriele Arendt (Neurologische Klinik, Universitätsklinikum Düsseldorf), Prof. Dr. Husstedt (Klinik für allgemeine Neurologie, Universitätsklinikum Münster), Prof. Dr. Maschke und Prof. Dr. Obermann (Klinik für Neurologie, Universitätsklinikum Duisburg-Essen) danke ich für die Rekrutierung der deutschen HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen ebenso wie die Bereitstellung der klinischen Daten der Teilnehmer.

Meinen Kooperationspartnern Stéfan du Plessis und Teboho Linda (Department of Psychiatry, Stellenbosch University, Südafrika) danke ich für die Rekrutierung der südafrikanischen HIV-Patienten und nicht-infizierten Personen sowie die Bereitstellung der klinischen Daten der Teilnehmer. Prof. John Joska und Dr. Hetta Gouse (Department of Psychiatry and Mental Health, University of Cape Town, Südafrika) danke ich für die Durchführung der neuropsychiatrischen Tests.

Tongai Maponga und Nafiisah Chotun (Department of Medical Virology, Stellenbosch University, Südafrika) danke ich für die PBMC-Isolierung der südafrikanischen Teilnehmer. Ein besonderer Dank geht an Prof. Wolfgang Preiser und PD Gert van Zyl für die angenehme Betreuung während meines Auslandsaufenthaltes im Department of Medical Virology, Stellenbosch University, Südafrika.

Prof. Dr. Klaus Brehm (Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Universität Würzburg) danke ich für den Nachweis der Erreger *Echinococcus* und *Schistosoma* in unseren Patientenproben.

Dr. Sieghart Sopper (Hämatologie und Onkologie), Medizinische Universität Innsbruck, Österreich, ehemals Institut für Virologie und Immunbiologie) danke ich für die Bereitstellung der Daten der MCP-1-Messung der deutschen HIV-Patienten.

Johannes Hain (Institut für Mathematik und Informatik, Lehrstuhl für Mathematik VIII, Universität Würzburg) danke ich für die Hilfe bei den statistischen Analysen.

Der Hauptteil dieser Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziert. Für das letzte Jahr meiner Promotion erhielt ich ein Stipendium nach dem Qualifikationsprogramm für Wissenschaftlerinnen im Programm Chancengleichheit für Frauen in Forschung und Lehre der Universität Würzburg. Dafür danke ich der Bayerischen Staatsregierung und der Universität Würzburg ebenso wie der Vectoria-Stiftung.

Ein großer Dank gilt auch Jonas. Schließlich danke ich von ganzem Herzen meinen Eltern für ihre fortwährende Hilfsbereitschaft und Unterstützung.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

+	positiv
3-MT	3-Methoxythyramin
3TC	Lamivudin
A	Adenin oder Alanin
A _{2A}	Adenosin A _{2A} -Rezeptor
ABC	Abacavir
ADHS	Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndrom
ADP	Adenosin-Diphosphat
AIDS	<i>acquired immunodeficiency syndrome</i> (erworbenes Immunschwächesyndrom)
ANI	<i>asymptomatic neurocognitive impairment</i> (asymptomatische neurokognitive Störung)
ANOVA	analysis of variance
APC	Allophycocyanin
ATP	Adenosintriphosphat
BDNF	<i>brain derived neurotrophic factor</i>
bp	Basenpaare
BSA	Bovines Serumalbumin
bspw.	beispielsweise
bzw.	beziehungsweise
C	Cystein oder Cytosin
cAMP	zyklisches Adenosin-Monophosphat
cART	Kombinations-antiretrovirale Therapie
CCL5	CC-Motiv Ligand 5
CCR5	CC-Motiv-Chemokin-Rezeptor 5
CD	<i>cluster of differentiation</i>
cDNA	komplementäre DNA
CMV	Zytomegalievirus
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CSF	Zerebrospinal-Flüssigkeit
CV	Curriculum vitae
CXCR4	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4
D ₁ /D ₂	Dopamin-Rezeptoren des Typs 1/2
ddI	Didanosin
DEPC	Diethyldicarbonat
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOPAC	3,4-Dihydroxyphenylethylamin
DR	Dopamin-Rezeptor
EFR	Evafirenz
Env	<i>envelope</i> (Hülle)
EPSP	exzitatorisches postsynaptisches Potential
Et al.	und andere (lat. et alii (Maskulinum), et aliae (Femininum))

ETR	Etravirin
FBS	fötales Rinderserum
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
FSC	<i>forward scatter</i> (Vorwärtsstreulicht)
FTC	Emtricitabin
g	Erdbeschleunigung
G	Glycin oder Guanin
Gag	<i>group-specific antigen</i> (gruppen-spezifisches Antigen)
GDS	<i>global deficit score</i>
G _i /G _s	inhibitorisches bzw. stimulierendes G-Protein
Gly	Glyzin
GOI	<i>gene of interest</i>
Gp	Glykoprotein
Gs	stimulatorisches G-Protein
H ⁺	Wasserstoffion
HAART	hoch-aktive antiretrovirale Therapie
HAD	HIV-assoziierte Demenz
HAND	<i>HIV associated neurocognitive disorder</i> (HIV-assoziierte neurokognitive Störung)
HDS	HIV-Demenz Skala
HIV	<i>human immunodeficiency virus</i> (humanes Immunschwäche Virus)
HIV-1 M	<i>major</i> (Gruppe von HIV)
HIV-1 N	non-M, non-O (Gruppe von HIV)
HIV-1 O	<i>outlier</i> (Gruppe von HIV)
HIV-1 P	eine weitere neue Gruppe von HIV (wie HIV-1 N)
HLA	humanes Leukozytenantigen
HMC-1	human mast cell line 1
HRP	<i>horseradish peroxidase</i> (Meerrettich-Peroxidase)
HVA	Homovanillinsäure
I	Isoleucin
IFN- γ	Interferon- γ
IHDS	Internationale HIV-Demenz-Skala
IL	Interleukin
INDEL	Insertionen- und Deletionen
Int	Intron
IPSP	inhibitorisches postsynaptisches Potential
K	Lysin
K ⁺	Kaliumion
L	Leucin
L-AADC	L-Aminosäure-Decarboxylase
Lat.	lateinisch
L-DOPA	L-Dihydroxyphenylalanin
LPS	Lipopolysaccharid
LTR	<i>long terminal repeats</i>
L-Tyr	L-Tyrosin

M	DNA-Marker
M	Methionin
MAO	Monoamin-Oxidase
MCMD	<i>minor cognitive motor disorder</i> (milde neurokognitive Störung)
MCP-1	<i>monocyte chemoattractant protein 1</i>
Met	Methionin
MIP-1	<i>macrophage inflammatory proteins 1</i>
MLV	Murines Leukämievirus
MND	<i>mild neurocognitive disorder</i> (milde neurokognitive Störung)
mRNA	<i>messenger RNA</i> (Boten-RNA)
N	Asparagin
n.v.	nicht vorhanden
Na ⁺	Natriumion
NEB	New England Biolabs
Nef	<i>negative factor</i>
NFV	Nelfinavir
NF-κB	<i>nuclear factor 'κ-light-chain-enhancer' of activated B-cells</i>
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NNRTI	nicht-nukleosidische reverse- Transkriptase-Inhibitoren
NO	Stickstoffmonoxid
NRTI	nukleosidische reverse- Transkriptase-Inhibitoren
ns	nicht signifikant
NVR	Nevirapin
OR	<i>odds ratio</i> (Quotenverhältnis)
p.a.	lat.: <i>pro analysi</i>
PAF	<i>platelet activating factor</i>
PBMC	<i>Peripheral blood mononuclear cells</i> (Mononukleäre Zellen des peripheren Blutes)
PE	Phycoerythrin
PerCP	Peridinin Chlorophyll A Komplex
P _i	Phosphat
Pol	Polymerase
RANTES	<i>regulated and T cell expressed and secreted</i>
Rev	<i>regulator of expression of virion proteins</i>
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
RPV	Rilpivirin
RT	Reverse Transkription / reverse Transkriptase
sCD14	<i>soluble CD14</i> (lösliches CD14)
SIV	<i>simian immunodeficiency virus</i> (simianes Immunschwäche Virus)
SLC	<i>solute carrier molecule family</i>
SNP	<i>single nucleotide polymorphism</i> (Einzelnukleotid-Polymorphismen)
sog.	sogenannt
SSC	<i>side scatter</i> (Seitwärtsstreulicht)

suPAR	<i>soluble urokinase plasminogen activator receptor</i>
T	Thymin
Tat	<i>transactivator of transcription</i>
TLR	Toll-like-Rezeptor
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF- α	Tumornekrose-Faktor α
u.a.	unter anderem
UNAIDS	<i>Joint United Nation Program on HIV/AIDS</i>
UTR	untranslatierte Region
v.a.	vor allem
Val	Valin
Vif	<i>viral infectivity factor</i>
VMAT	<i>vesicular monoaminotransporter</i>
VNTR	<i>variable number of tandem repeats</i> (Kopienzahlvarianten)
Vpr	<i>viral protein R</i>
Vpu	<i>viral protein unique</i>
VTA	<i>ventral tegmental area</i>
WHO	Weltgesundheitsorganisation
WT	Wildtyp
Y	Tyrosin
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1.1: Organisation des Genoms von HIV.....	6
Abb. 1.2: Replikationszyklus von HIV und Wirkstationen antiretroviraler Medikamente.....	12
Abb. 1.3: HIV im ZNS.....	14
Abb. 1.4: Synthese und Abbau von Dopamin.....	24
Abb. 1.5: Dopaminerge Synapse.....	25
Abb. 3.1: Fragmentlängen der amplifizierten Allele von Polymorphismen, die die dopaminerge Neurotransmission beeinflussen.....	60
Abb. 3.2: Genotyp-Häufigkeiten des DAT VNTR in nicht-Infizierten und HIV-Patienten.....	62
Abb. 3.3: Infektionsrisiko für HIV in verschiedenen Genotypen des DAT VNTR.....	63
Abb. 3.4: Allelhäufigkeiten aller Genotypen des DAT VNTR außer den 10/10- und 9/10-Genotypen in deutschen und südafrikanischen Personen.....	64
Abb. 3.5: Dopamin-Konzentrationen im Liquor und mRNA-Expression des Dopamin-Transporters auf PBMCs in nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen mit unterschiedlichen DAT VNTR-Genotypen.....	68
Abb. 3.6: mRNA-Expression des Dopamin-Transporters auf PBMCs von südafrikanischen nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen.....	69
Abb. 3.7: Dopamin-Konzentrationen im Liquor und mRNA-Expression des Dopamin-Transporters auf PBMCs von nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen mit unterschiedlichen Genotypen des COMT Val108/158Met-Polymorphismus.....	71
Abb. 3.8: Dopamin-Konzentrationen im Liquor und mRNA-Expression des Dopamin-Transporters auf PBMCs von Personen mit unterschiedlichen Genotypen der BDNF-, DRD ₂ -, DRD ₃ - und DRD ₄ -Polymorphismen.....	73
Abb. 3.9: mRNA-Expression von DRD ₃ und DRD ₅ von südafrikanischen nicht-Infizierten und HIV-Patienten.....	75
Abb. 3.10: mRNA-Expression von DRD ₃ und DRD ₅ auf PBMCs von südafrikanischen HIV-Patienten mit und ohne neuropsychiatrische Störung.....	75
Abb. 3.11: Korrelation der mRNA-Expressionen des DRD ₃ mit dem DRD ₅ und dem DAT auf PBMCs von südafrikanischen HIV-Patienten.....	76
Abb. 3.12: mRNA-Expression des DRD ₃ auf PBMCs von südafrikanischen nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen mit unterschiedlichen Genotypen des DRD ₃ -Polymorphismus.....	77
Abb. 3.13: Assoziation der Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor und den Immunmarkern MCP-1, sCD14 und suPAR im Plasma bzw. Liquor deutscher HIV-Patienten.....	78
Abb. 3.14: MCP-1-, sCD14- und suPAR-Konzentrationen im Plasma von nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen mit verschiedenen DAT VNTR-Genotypen.....	80
Abb. 3.15: Korrelation der suPAR-Konzentration mit der CD4 ⁺ -Zellzahl, der Viruslast und dem HDS-Score in deutschen HIV-Patienten.....	83
Abb. 3.16: T-Zell-Aktivierung und Plasmakonzentrationen von suPAR, sCD14, MCP-1 und RANTES in südafrikanischen nicht-infizierten und HIV-infizierten Personen.....	85
Abb. 3.17: Repräsentative Darstellung einer durchflusszytometrischen Messung der Oberflächen-Expression von CD38/HLA-DR von CD8 ⁺ -Zellen aus peripherem Blut in einem südafrikanischen HIV-Patienten.....	86
Abb. 3.18: T-Zell-Aktivierung in südafrikanischen HIV-Patienten mit und ohne HAART.....	87
Abb. 3.19: Korrelation der T-Zell-Aktivierung mit der CD4 ⁺ -Zellzahl und der Viruslast in südafrikanischen HIV-Patienten.....	89
Abb. 3.20: MCP-1, sCD14 und suPAR-Plasmakonzentrationen in deutschen und südafrikanischen HIV-infizierten und nicht-infizierten Personen.....	92

Abb. 3.21: Fragmentlängen der amplifizierten Allele der CCR5-, MCP-1-2518-, RANTES Int1.1- und RANTES-403-Polymorphismen.....	96
Abb. 3.22: Plasmakonzentration von MCP-1 in Südafrikanern mit verschiedenen Genotypen des MCP-1-2518A→G-Polymorphismus.....	98
Abb. 3.23: Plasmakonzentration von RANTES in Südafrikanern mit verschiedenen Genotypen des RANTES Int1.1T→C-Polymorphismus.....	99
Abb. 3.24: Plasmakonzentration von RANTES in Südafrikanern mit verschiedenen Genotypen des RANTES-403G→A-Polymorphismus.....	100

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 2.1: Neuropsychologische Tests und Testkategorien.	38
Tab. 3.1: Klinische Charakterisierung der HIV-Patienten.	59
Tab. 3.2: Allelhäufigkeiten der BDNF Val66Met-, COMT Val108/158Met-, DRD ₂ TaqI α -, DRD ₃ Ser9Gly-Polymorphismen und des DRD ₄ VNTR.	66
Tab. 3.3: Assoziation verschiedener DAT VNTR-Genotypen mit der CD4 ⁺ -Zellzahl, der Viruslast und der Häufigkeit von HAND in allen deutschen und südafrikanischen HIV-Patienten.	70
Tab. 3.4: Assoziation verschiedener Genotypen des COMT-Polymorphismus in deutschen und südafrikanischen HIV-Patienten mit der CD4 ⁺ -Zellzahl, der Viruslast und der Häufigkeit von HAND.	72
Tab. 3.5: Korrelation der Dopamin-Verfügbarkeit im Liquor und den Immunmarkern MCP-1, sCD14 und suPAR im Plasma bzw. Liquor deutscher nicht-infizierter Personen und HIV-Patienten.	79
Tab. 3.6: Assoziation verschiedener Genotypen des DAT VNTR mit den Immunmarkern MCP-1, suPAR und sCD14 im Plasma von nicht-infizierten und HIV-infizierten deutschen und südafrikanischen Personen.	80
Tab. 3.7: MCP-1-, sCD14- und suPAR-Konzentrationen im Plasma bzw. Liquor von deutschen nicht-infizierten Personen und HIV-Patienten.	81
Tab. 3.8: MCP-1-, sCD14- und suPAR-Konzentrationen im Plasma bzw. Liquor von deutschen Therapie-naiven HIV-Patienten und Patienten mit antiretroviraler Therapie.	82
Tab. 3.9: Korrelation der suPAR-Konzentration im Plasma deutscher HIV-Patienten mit und ohne HAART mit der CD4 ⁺ -Zellzahl, der Viruslast, dem HDS-Score und der suPAR-Konzentration im Liquor.	84
Tab. 3.10: Korrelationen von sCD14, MCP-1 und suPAR mit der CD4 ⁺ Zellzahl, der Viruslast und dem HDS-Score in deutschen HIV-Patienten.	84
Tab. 3.11: Korrelationen der verschiedenen Immunmarker untereinander in deutschen HIV-Patienten.	84
Tab. 3.12: Plasmakonzentrationen von MCP-1, RANTES, sCD14 und suPAR in südafrikanischen Therapie-naiven HIV-Patienten und Patienten unter antiretroviraler Therapie.	87
Tab. 3.13: Korrelationen der T-Zell-Aktivierung und der Plasmakonzentrationen von MCP-1-, RANTES, sCD14 und suPAR mit der CD4 ⁺ Zellzahl, der Viruslast, dem IHDS- bzw. GDS-Score in südafrikanischen HIV-Patienten.	90
Tab. 3.14: Korrelationen der verschiedenen Immunmarker untereinander in deutschen HIV-Patienten.	91
Tab. 3.15: T-Zell-Aktivierung und Plasmakonzentrationen von MCP-1, RANTES, sCD14 und suPAR in südafrikanischen HIV-Patienten mit und ohne <i>Echinococcus</i> -Koinfektion.	94
Tab. 3.16: Resistenz-assoziierte Mutationen von HIV in virologischen Versagen (Viruslast > 1000 Kopien/ml).	95
Tab. 3.17: Allelhäufigkeiten der CCR5 Δ 32-, MCP-1-2518-, RANTES Int1.1- und RANTES-403-Polymorphismen in südafrikanischen nicht-infizierten Personen und HIV-Patienten.	97
Tab. 3.18: Assoziation des MCP-1-2518-, RANTES Int1.1- und RANTES-403-Polymorphismus mit der CD4 ⁺ Zellzahl, der Viruslast und dem IHDS/GDS-Score in südafrikanischen HIV-Patienten.	100

PUBLIKATIONEN

Horn A, Scheller C, du Plessis S, Arendt G, Nolting T, Joska J, Sopper S, Maschke M, Obermann M, Husstedt IW, Hain J, Maponga T, Riederer P, Koutsilieri E and the German Competence Network HIV/AIDS. Increases in CSF dopamine in HIV patients are due to the dopamine transporter 10/10-repeat allele which is more frequent in HIV-infected individuals. *J Neural Transm* 2013 Aug; 120: 1411-1419. doi: 10.1007/s00702-013-1086-x.

Plochmann K, **Horn A**, Gschmack E, Armbruster N, Krieg J, Wiktorowicz T, Weber C, Stirnagel K, Lindemann D, Rethwilm A, Scheller C. Heparan sulfate is an attachment factor for foamy virus entry. *J Virol*. 2012 Sep; 86(18):10028-35. doi: 10.1128

Kasang C, Kalluvya S, Majinge C, Stich A, Bodem J, Kongola G, Jacobs GB, Mlewa M, Mildner M, Hensel I, **Horn A**, Preiser W, van Zyl G, Klinker H, Koutsilieri E, Rethwilm A, Scheller C, Weissbrich B, HIV Drug Resistance (HIVDR) in Antiretroviral Therapy-Naïve Patients in Tanzania Not Eligible for WHO Threshold HIVDR Survey Is Dramatically High. *PLoS One*. 2011;6(8):e23091. Epub 2011 Aug 19.

ANHANG

Zuordnung von Versuchsnummern

Abb. 3.1: AH115, AH117, AH118, AH122, AH123, AH124, AH174, AH171, AH172, AH173, AH188, AH189

Abb. 3.2: AH115, AH122

Abb. 3.3: AH115, AH122

Abb. 3.4: AH115, AH122

Abb. 3.5: AH115, AH122, AH164

Abb. 3.6: AH164

Abb. 3.7: AH117, AH124, AH164

Abb. 3.8: AH115, AH117, AH118, AH122, AH123, AH124, AH164, AH174, AH171, AH172, AH173, AH188, AH189

Abb. 3.9: AH157, AH182

Abb. 3.10: AH157, AH182

Abb. 3.11: AH157, AH164, AH182

Abb. 3.12: AH168, AH182

Abb. 3.13: AH078, AH098

Abb. 3.14: AH078, AH098, AH115, AH122, AH151, AH152, AH177

Abb. 3.15: AH078

Abb. 3.16: AH151, AH152, AH160, AH177, AH191

Abb. 3.17: AH160

Abb. 3.18: AH160

Abb. 3.19: AH160

Abb. 3.20: AH078, AH098, AH51, AH152, AH177

Abb. 3.21: AH181, AH183, AH185, AH186

Abb. 3.22: AH177, AH181

Abb. 3.23: AH185, AH191

Abb. 3.24: AH186, AH191

Tab. 3.2: AH117, AH118, AH123, AH124, AH168, AH171, AH172, AH173, AH188, AH189

Tab. 3.3: AH115, AH122

Tab. 3.4: AH117, AH124

Tab. 3.5: AH078, AH098

Tab. 3.6: AH078, AH098, AH115, AH122, AH151, AH152, AH177

Tab. 3.7: AH078, AH098

Tab. 3.8: AH078, AH098

Tab. 3.9: AH078

Tab. 3.10: AH078, AH098

Tab. 3.11: AH078, AH098

Tab. 3.12: AH151, AH152, AH177, AH191

Tab. 3.13: AH151, AH152, AH160, AH177, AH191

Tab. 3.14: AH151, AH152, AH160, AH177, AH191

Tab. 3.15: AH151, AH152, AH160, AH165, AH177, AH191

Tab. 3.16: AH192

Tab. 3.17: AH181, AH183, AH185, AH186

Tab. 3.18: AH181, AH183, AH185, AH186

Curriculum vitae

