Aus dem Zentrum für Innere Medizin, Medizinische Klinik I des
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Direktor: Prof. Dr. H. Greten

Untersuchung des Einflusses der antiviralen Therapie auf den Fettstoffwechsel HIV-positiver Patienten mit einem Lipodystrophie- Syndrom – unter besonderer Berücksichtigung der Lipoprotein- und der hepatischen Lipase

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

dem Fachbereich der Medizin der Universität Hamburg vorgelegt von

Thomas Buhk
aus Reinbek bei Hamburg
Hamburg, im Mai 2002

Angenommen vom Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am: 13. Juni 2002

Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg

Prüfungsausschuß, die Vorsitzende: Prof. Dr. rer. nat. Ulrike Beisiegel

Prüfungsausschuß: 2. Gutachter: PD Dr. med. Hans-Jürgen Stellbrink

Prüfungsausschuß: 3. Gutachter: PD Dr. med. Detlev Ameis

Stellvertretendes Mitglied: PD Dr. med. Andreas de Weerth

diese Arbeit ist meinen Eltern Ursula und Gerd Buhk gewidmet

A Inhaltsverzeichnis S. 4

B Arbeitshypothese und Fragestellung S. 7

C Einleitung S. 8

1. Einführung in die Thematik S. 8
1.1 Das HI-Virus S. 8
1.2 Grundzüge der antiviralen Therapie der HIV-Infektion S. 10
1.3 Metabolische und morphologische Fettstoffwechselstörungen S. 11
1.3.1 Morphologische Veränderungen (morphologische Lipodystrophie)
1.3.2 Metabolische Veränderungen (metabolische Lipodystrophie) S. 15
1.4 Grundzüge des Fettstoffwechsels S. 18
1.4.1 Transportsysteme der Plasmalipoproteine S. 18
1.4.2 Apolipoprotein E S. 20
1.5 Erfassung des wissentschaftlichen Umfeldes S. 21
1.5.1 Hypothese der Sequenzhomologie S. 21
1.5.2 Hypothese der mitochondrialen Dysfunktion S. 22

C Materialien und Methoden S. 24

2.1 Patientengruppe S. 24
2.2 Serum S. 24
2.3 Lipidbestimmung S. 24
2.4 Lipoproteinlipase Aktivitätsbestimmung S. 25
2.5 Hepatische Lipaseaktivitätsbestimmung S. 27
2.6 Apolipoprotein E S. 29
2.7 Statistik und Auswertung S. 30

D Befunde S. 31

3 Darstellung der Ergebnisse S. 31
3.1 Die Resultate des Gesamtkollektives S. 31
3.1.1 Epidemiologische Daten S. 31

3.1.2 Lipide S. 32
3.1.3 Apoprotein E S. 33
3.2 Immunologie und Fettstoffwechsel S. 35
3.2.1 Viruslastbestimmungen (PCR) S. 35
3.2.2 Lymphozytensubpopulation S. 36
3.3 Fettstoffwechsel bei di- & konvergenter antiviraler Therapie S. 39
3.3.1 Triglyceride und Cholesterine S. 39
3.3.2 HDL-Cholesterin S. 41
3.3.3 Lipoproteinlipase und antivirale Therapie S. 42
3.3.4 Hepatische Lipase und antivirale Therapie S. 43
3.4 Nüchterntriglyceride und Lipoprotein- und hepatische Lipase S. 45
3.5 Korrelation der Cholesterin- und Triglyceridnüchternwerte mit der Dauer der antiviralen Therapie S. 47
3.6 Fettstoffwechsel und einzelne Proteaseinhibitoren S. 50
3.6.1 Cholesterin- und Triglyceridwerte, Lipoprotein- und hepatische Lipase S. 50
3.6.2 Lipoprotein-, hepatische Lipase und Proteaseinhibitoren-Spiegel – nicht differenziert nach den einzelnen Substanzen S. 53
3.6.3 Lipoprotein- und hepatischen Lipase und Medikamentenspiegel –differenziert nach den einzelnen Proteaseinhibitoren S. 57
3.7 Intraindividuelle Verlaufsbeobachtung der Lipoproteinlipase und der hepatischen Lipase S. 61
3.7.1 Cholesterin- und Triglyceridwerte S. 61
3.7.2 Lipoproteinlipase S. 63
3.7.3 Hepatische Lipase S. 64

E Diskussion S. 66

4.1 Lipidprofil S. 66
4.2 Einfluß der einzelnen Proteaseinhibitoren -Substanzen (Spiegel) auf die Lipide und die Lipoprotein- und hepatischen Lipase S. 75
4.3 Intraindividuelle Verlaufsbeobachtung S. 79

F Zusammenfassung und Ergebnisse S. 81

G Glossar S. 83

H Literaturverzeichnis S. 84

I Lebenslauf S. 89

J Danksagung S. 90

K Erklärung S. 91

B. Arbeitshypothese und Fragestellung

In dieser Arbeit wird untersucht, ob ein kurzfristiger und direkter Zusammenhang zwischen dem Auftreten metabolischer Veränderungen im Rahmen des HIV-assoziierten Lipodystrophie Syndroms (HALS) und den antiretroviral wirkenden Medikamenten aus der Gruppe der Proteaseinhibitoren besteht. Die Lipoproteinlipase und die hepatische Lipase sind für den Fettstoffwechsel zentrale Enzyme. Im Zentrum dieser Untersuchung steht die Frage nach einer Korrelation der gemessenen Spiegel der jeweiligen Proteaseinhibitoren mit den Enzymaktivitäten der Lipoproteinlipase und der hepatische Lipase. Weiterhin wird bei der Erhebung der metabolischen Fettstoff-wechselstörungen differenziert nach dem jeweiligen Vorliegen des phänotypischen Apolipoprotein E Subtypes.

Es handelt sich bei dieser Arbeit um eine prospektive nicht randomisierte Hypothesen generierende empirische Pilotstudie, in der der Zusammenhang zwischen der Lipo-proteinlipase und der hepatischen Lipase mit der metabolischen Stoffwechselstörung im Rahmen des HALS, der antiviralen Therapie und der HIV-Infektion untersucht wird.

C. Einleitung

1. Einführung in die Thematik

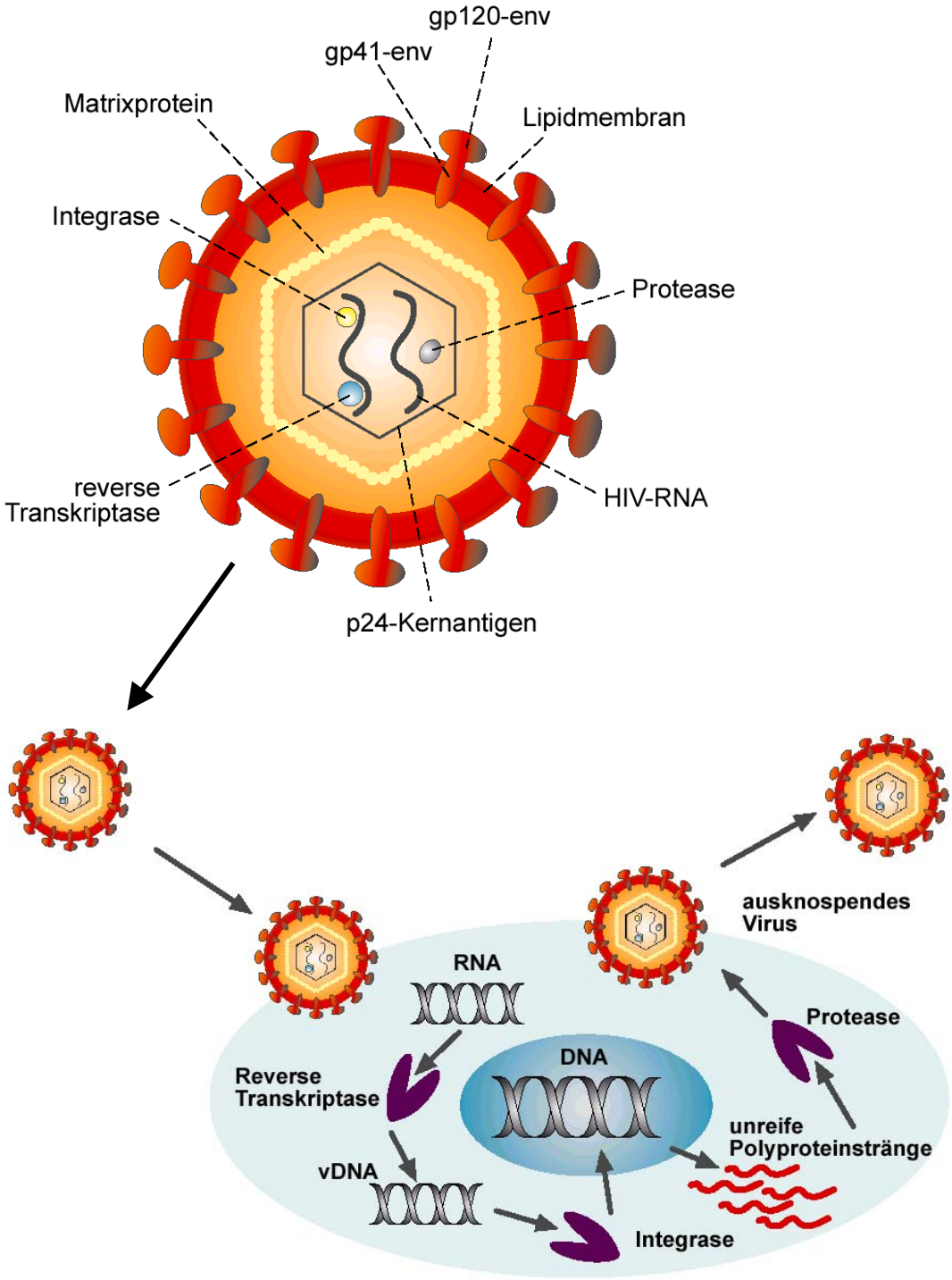
1.1 Das HI-Virus

Im Jahre 1981 (Gottlieb 1981, Heymes 1981) wurde eine zunehmende Häufung von Erkrankungen wie Pneumocystis carinii Pneumonie, Cytomegalie-Infektionen oder Kaposi-Sarkomen beobachtet, die infolge einer damals unerklärten Immunschwäche bei homosexuellen Männern auftraten. Zunächst gelang es der Arbeitsgruppe von Montagnier (Barre-Sinoussi 1983) aus Frankreich, und dann der von Gallo (1984) aus den USA die Ursache dieser Immunschwäche in der Gestalt eines Retrovirus auszumachen und elektronenmikroskopisch darzustellen. Die Bezeichnung Retrovirus leitet sich von einem Enzym (Reverse Transkriptase) her, welches für die Virusvermehrung eine wichtige Rolle spielt. Dieses Retrovirus wurde zu Beginn von der Arbeitsgruppe von Montagnier LAV (Lymphdenopathy Virus) und von Gallos Arbeitsgruppe HTLV-III (Human T-Cell Leukaemia Virus III) genannt, schließlich entschied sich 1986 das internationale Komitee für Virusnomenklatur für den Namen HIV (Human Immunodeficiency Virus) (Coffin 1986).

Die Retroviren stammen aus der Familie der Lentiviren, für die eine persistierende Virämie und eine lange klinische Latenzzeit charakteristisch sind. Morphologisch und funktionell unterteilt man die Retroviren in drei Subfamilien: Oncoviridae, Lentiviridae und Spumaviridae. Das HI-Virus hat eine kuglige Form, ist 90-120nm klein und wird von einer Lipidhülle umgeben, die mit Glykoproteinkomplexen dicht besetzt ist (Graphik 1). Sie bestehen aus einem äußeren Anteil (gp120) und einem Transmembranteil (gp 41). Mit diesem Glykoproteinkomplex vermag das Virus sich an Zellen mit dem Oberflächenantigen CD4 zu binden, dies sind insbesondere T-Lymphozyten, die diesen Rezeptor tragen, Makrophagen, Monozyten, dendritische Zellen und Gliazellen (Dalgleish 1984). Im Inneren des HIV liegen zwei Kopien der HIV-RNA, die ihrerseits nach außen von einem Matrixprotein und dem p24 Kernantigen umgeben sind. Die HIV-RNA liegen als Protein-Nukleinsäure-Komplex, nämlich gebunden an einem Nukleoprotein und der Reversen Transskriptase vor. Das Viruspartikel enthält weiterhin

die Enzyme Integrase und Protease, die zur Vermehrung in der Wirtszelle benötigt werden (Gelderblom 1995).

Graphik 1: Das HI-Virus und sein Vermehrungszyklus



Die Infektion der Wirtszellen und die Fortpflanzung des HIV beginnt mit dem Binden der HIV-Virionen durch das bereits erwähnte Glykoprotein gp120 an das CD4-Molekül der jeweiligen Zielzelle. Die Verschmelzung der Zellmembranen und die Virusinkorporierung ist an das Vorhandensein von Chemokinen (CXCR4, CCR-5) gebunden, die erst die voraussetzende konformationelle Änderung zur Fusion im gp120 bewirken, dann entleert sich der Viruskern in das Zytoplasma der Zielzelle (Deng 1996). Die Retroviren enthalten ausschließlich RNA als genetisches Material, mittels der Reversen Transkriptase erfolgt die Konversion der viralen RNA in die provirale DNA. Der komplementäre zweite Strang wird durch das Enzym Ribonuklease H synthetisiert, so daß am Ende des Prozesses der Reversen Transkriptase eine doppelsträngige provirale nichtintegrierte HIV-DNA vorliegt, die an jedem Ende eine sogenannte LTR-Region (Long Terminal Repeats) enthält. Nach Aktivierung der CD4 Zelle kommt es mittels der viralen Integrase zur Integration dieser proviralen HIV-DNA in die humane DNA (Zack 1990). Im Bereich der LTR-Regionen befinden sich Bindungsstellen für die zelluläre Transskription, über die die regulatorischen HIV Proteine und RNA-Transkribate synthetisiert werden. Die Bildung neuer Viruspartikel erfolgt dann über die Formation der HIV-RNA und der verschiedenen Virusproteine zu einem Zellkern und der Bewegung in Richtung Zelloberfläche. Dieser Prozeß wird durch die HIV-Protease reguliert. Mit der Ausknospung aus der Zelle, legt sich die Zellmembran um den Viruskern und die Glykoproteine gp120 und gp41 werden inkorporiert. Zuletzt werden infektiöse Virionen entlassen (budding).

1.2 Grundzüge der antiviralen Therapie

Die erste therapeutische Option ergab sich 1986 mit dem Medikament Zidovudin (Retrovir®) (Yarchoan 1986), welches das für die retrovirale Replikation wichtige Enzym 'Reverse Transkriptase' durch eine kompetive Hemmung zu hemmen vermag (Graphik 1). Durch den Einbau von Azidothymidin als falscher Baustein kommt es zu einem Kettenabbruch bei der Synthese der proviralen DNA. Die Therapieerfolge waren damals allerdings nur sehr kurzfristig, ein Überlebensvorteil zwischen Patienten, die Retrovir einnahmen und denen, die auf eine medikamentöse Therapie verzichteten, konnte nicht nachgewiesen werden (Hamilton 1992, Volberding 1995).

Tabelle 1: Reverse Transkriptaseinhibitoren (RTI)

Name (Freiname und Kürzel)
Retrovir® (Zidovudin = AZT)
Epivir® (Lamivudin = 3TC)
Hivid® (Zalcitabin = ddC)
Videx® (Didanosin = ddI)
Zerit® (Stavudin = d4T)
Ziagen® (Abacavir = Abc)

Therapeutische Verbesserungen ergaben sich, durch die Entwicklung der weiteren Reverse-Transkriptase-Inhibitoren und der Kombinierbarkeit einiger dieser Substanzen miteinander (Staszewski 1996, Collier 1993, Meng 1992, Ragni 1995).

Mit der Einführung einer neuen Substanzgruppe, der Proteaseinhibitoren im Jahre 1996, welche in Kombination mit Reverse-Transkriptase-Inhibitoren wesentlich effizienter die HIV-Replikation durch die zusätzliche Hemmung der HIV-Protease zu unterbinden vermögen, gelang ein weiterer wichtiger Meilenstein in der Therapie der HIV-Infektion. Erstmalig konnte ein Überlebensvorteil (Cameron 1996, Cameron 1998) für die Patienten nachgewiesen werden, die eine Proteaseinhibitoren beinhaltende antiretrovirale Kombinationsherapie einnahmen. Proteaseinhibitoren greifen in die letzte Phase der Virusreplikation ein, sie binden an das aktive Zentrum der viralen Protease und unter-

Tabelle 2: Proteaseinhibitoren

Name (Freiname und Kürzel)
Invirase® (Saquinavir-Mesylat =SQV-HGC)
Fortovase® (Saquinavir, freie Base=SQV-SGC)
Viracept® (Nelfinavir=NFV)
Norvir® (Ritonavir=RTV)
Crixivan® (Indinavir=IDV)
Agenerase® (Amprenavir=APV)
Lopinavir (in Komb. mit Ritonavir : Kaletra®=LPV/r)

binden damit die Synthese für die virale Replikation wichtiger Proteine, so daß lediglich nicht infektiöse Virionen gebildet werden, die nicht mehr in der Lage sind andere Zellen zu infizieren.

Die Nicht-Nukleosidalen Reversetranskriptaseinhibitoren (NNRTI) bilden die dritte Klasse der antiretroviral wirkenden Medikamente zur Therapie der HIV-Infektion und wirken ebenfalls – wie die zuerst genannte Klasse - an der Reversen Transkriptase. Sie wirken allerdings nicht kompetitiv, durch eine Anlagerung an der Reversen Transkriptase und hemmen das Enzym durch die Veränderung seiner dreidimensionalen räumliche Struktur.

Tabelle 3: Nicht-Nukleosidale RTI (NNRTI)

Name (Freiname und Kürzel)
Viramune® (Nevirapin = NVP)
Sustiva® (Efavirenz = EFV)
Rescriptor® (Delavirdin = DLV)

Durch die Einführung dieser drei Medikamentenklassen und deren mannigfaltigen Kombinationsmöglichkeiten gelingt es die Virusreplikation wesentlich zu supprimieren, so daß sich die HIV Infektion von einer tödlich verlaufenden zu einer behandelbaren chronischen Infektionserkrankung wandelte (Palella 1998).

1.3 Metabolische und morphologische Fettstoffwechselstörungen

Mit der verbesserten Behandelbarkeit der HIV-Infektion sind neue Begleiterscheinungen aufgetreten. Erstmalig wurde 1996 bei einem Patienten in Atlanta/USA, der eine Kombinationstherapie bestehend aus Indinavir, Lamivudin und Zidovudin erhielt, die Entwickung eines Stiernackens beobachtet und im darauffolgenden Jahr publiziert (Hengel 1997). Im Jahre 1998 (Lo 1998, Carr 1998a, Carr 1998b) folgen weitere Berichte über morphologische und metabolische Fettverteilungsstörungen bei antiretroviral behandelten HIV-1 Patienten. Es handelt sich einerseits um Fettgewebshypertrophien, andererseits um Atrophien an bestimmten Körperregionen. Neben diesen morphologischen werden metabolische Veränderungen wie Hypertriglycerid- und Hypercholesterinämien sowie pathologische Erhöhungen der Insulinresistenz bis hin zur Manifestation eines Diabetes mellitus Typ 2 beobachtet.

Die diesen Veränderungen zugrundliegenden Pathomechanismen sind noch nicht ausreichend geklärt. Die Zusammenhänge zwischen den unterschiedlichen metabolischen und morphologischen Störungen zueinander und die Frage nach einem z.B. erhöhten Risiko des Auftretens kardiovaskulärer Erkrankungen sind ebenfalls noch nicht bekannt und damit Objekt ausgiebiger weltweiter Untersuchungen.

Eine einheitliche Terminologie existiert bisher nicht. Es werden Termini wie 'HIV-assoziiertes Lipodystrophie-Syndrom' (Walker 2001) - 'Metabolic-Morphologic-Abnormalities' (MMA) (Galli 2000) – 'HIV-Proteaseinhibitor related Lipodystrophy-Syndrom' (Carr 2000a) oder 'Fat Redistribution' (FR) (Gervasoni 1999) zur Beschreibung der verschiedenen Veränderungen benutzt. Als Oberbegriff für die unterschiedlichen morphologischen und metabolischen Veränderungen bei HIV-Patienten wird in dieser Arbeit der Begriff des 'HIV-Assoziierten Lipodystrophie-Syndromes' (HALS) verwendet.

1.3.1 Morphologische Veränderungen (morphologische Lipodystrophie)

Eine Zunahme des visceralen Fettes, wurde zuerst 1998 bei HIV-Patienten beschrieben, die eine Proteaseinhibitoren beinhaltende Kombinationstherapie erhielten. Entsprechend wurden in der Annahme einer Assoziation mit dieser Substanzgruppe Begriffe wie "crix-belly" oder "protease paunch" in der englischsprachigen Fachliteratur kreiert. Mittels CT-Scan wurde die VAT zu TAT Ratio (visceral adipose tissue/ total adipose tissue) auf der Umbilical-Ebene (entspricht der LWS 4 Höhe) ermittelt. Verglichen wurden drei Gruppen von je 10 HIV-Patienten miteinander: Zwei Gruppen von Patienten, die Indinavir (Crixivan®) über mindestens sechs Monate einnahmen, eine mit - eine ohne - klinischen Anhalt für abdominelle Fettakkumulation mit einer Gruppe, die kein Indinavir einnahm. Die Ratio für diese drei Gruppen betrug, entsprechend dieser Reihenfolge: 0,7 - 0,59 - 0,4 und erwies sich als hochsignifikant (p=0,004) für eine Korrelation von abdomineller Fettakkumulation und der Einnahme einer Indinavir beeinhaltenden Therapie (Miller 1998).

Weiterhin kommt es in der Nackenregion bei einigen Patienten zu einer pathologischen Fettakkumulation und der Bildung eines sogenannten Stiernackens (buffalo hump) (De Luca 1998, Roth 1998, Lo 1998). Vom Juni 1995 bis zum Oktober 1997 studierte Lo

mit ihrer Gruppe acht Patienten, die derartige nuchale morphologische Veränderungen aufwiesen. Lediglich vier von ihnen erhielten Proteaseinhibitoren (drei Indinavir, einer Nelfinavir). Im Cortisonstoffwechsel fand sie keine Anomalien.

Der ventrale Thorax ist die dritte Region in der es zu einer Hypertrophie kommen kann. Bei Männern und bei Frauen können sich Brustvergrößerungen entwickeln, die wahrscheinlich eher auf einer Hypertrophie des Brustgewebes, als auf einer reinen Fettgewebshypertrophie beruhen. Bei Frauen sind diese Veränderungen meistens symmetrisch, bei Männern zuweilen auch lediglich einseitig. In den wenigen vorliegenden Veröffentlichungen scheint eine Assoziation zu einer Proteaseinhibitorentherapie gegeben (Herry 1997, Lioni 1998, Gervasoni 1999).

Atrophe Veränderungen sind neben den beschriebenen hypertrophen Veränderungen eine weitere Ausdrucksform der morphologischen Lipodystrophie. Der Verlust von subcutanem Fettgewebe an den Extremitäten und am Rumpf führt zu einer markanten Vorwölbung der oberflächlich gelegenen venösen Gefäße. Im Gesicht führen diese Veränderungen zu einer Betonung der Nasolabialfalte infolge des Verlustes des buccalen Fettpropfes, sowie einer Betonung des Jochbeines und der Schläfenregion durch den Verlust des temporalen subcutanen Fettes (Carr 1998a). Die Fettatrophie am Gesäß führt zu einem Verlust der Form und einer Faltenbildung (Gervasoni 1999).

Mangels einer international einheitlichen Definition des HALS und festgelegter morphologischer bzw. metabolischer Kriterien ab wann von einer lipodystrophen Veränderung auszugehen ist, sind insbesondere die Dysmorphien in den unterschiedlichen Arbeiten mit unterschiedlichen Techniken beschrieben worden. Die Grenze zwischen noch normaler Fettverteilung und bereits pathologischer Dysproportion bleibt ungenau und läßt sich derzeit nicht exakter bestimmen. Alters- oder geschlechterspezifische Normalwerte sind nicht definiert.

Praktikable und reproduzierbare diagnostische Instrumente zur Beurteilung der Fettverteilung und Objektivierbarkeit von Fettverteilungsstörungen sind in der DEXA-Methode (Dual Energy X-Ray Absorptiometry) (Roubenoff 1993) und der Computer- bzw. Kernspintomographie (Saint-Marc 2000) zu sehen.

Zwei antropometrische Messungen sind in der Literatur erwähnt: einerseits die Hautfaltenmessung an einer vordefinierten Stelle mit einer sogenannten "Speckzange", welche von Untersucher zu Untersucher nicht sicher reproduzier- und dadurch nicht objektivierbar ist (Schwenk 1999a). Andererseits die Hüft-Taillen-Ratio (Waist-to-hip Ratio), die in der Adipositasforschung bereits verwandt wird (Molarius 1998). Mit der Körperimpedanzanalyse lassen sich regionale Unterschiede der Körperfette nicht differenzieren, so daß diese Methode in der Messung und Bewertung des HALS wenig hilfreich ist (Schwenk 1999b).

Die Erscheinung der HIV-assoziierten Lipodystrophie ist bei unterschiedlichen Patienten mannigfaltig. Es werden von Saint-Marc (2000) drei verschiedene Formen nach rein morphologischen Kriterien voneinander differenziert:
(1) ein gemischter Typ, der sowohl atrophe als auch hypertrophe Merkmale vereint, von einem
(2) rein hypertrophen Typ mit Fettakkumulation im Bereich des Bauches, des Nackens oder der Brüste, von einem
(3) rein atrophen Typ mit subcutanem Fettverlust im Bereich der Extremitäten, des Gesichtes oder auch des Gesäßes.

In den Publikationen zur Prävalenz der morphologischen lipodystrophen Veränderungen werden sehr unterschiedliche Angaben gemacht. Die Zahlen schwanken von 2-83% für den gemischten Typ (1), von 1-56% für den rein hypertrophen Typ (2) und von 1-24% für den rein atrophen Typ (3) (Safrin 1999). Diese Diskepanz liegt darin begründet, daß es keine einheitliche Falldefinition dieser HIV assoziierten Lipodystrophie gibt und in den verschiedenen Forschungsprojekten keine einheitlichen Kriterien oder Meßverfahren angewandt wurden.

1.3.2 Metabolische Veränderungen (metabolische Lipodystrophie)

Veränderungen im Fett- , Glukose- und Knochenstoffwechsel finden sich überdurchschnittlich bei HIV-Patienten, die eine antivirale Therapie ihrer HIV-Infektion erhalten. Es handelt sich um eine Kombination aus Triglyceriderhöhungen, Cholesterinerhöhungen, einer Zunahme der pathologischen Glukosetoleranz, sowie um Osteopenien.

Insbesondere die Dyslipidämien scheinen mit der Einnahme einer proteaseinhibitoren-haltigen Therapie vergesellschaftet zu sein (John 2001, Savès 2002).

I.

Hypertriglyceridämien sind bei fortgeschrittener HIV-Infektion ein bekanntes Phänomen und bereits lange vor dem Auftreten des HALS beschrieben. Sie traten insbesondere in Verbindung mit Hypocholesterinämien beim HIV-assoziierten Wasting-Syndrom auf (Constans 1994, Grunfeld 1989). Anders verhält es sich bei Triglyceriderhöhungen, die sich im Rahmen des HALS bei Patienten ohne Wasting-Syndrom manifestieren, also auch unabhängig vom Stadium und der Dauer der HIV-Infektion. Die Cholesterinwerte werden entweder ebenfalls erhöht oder im Normbereich gemessen, nicht jedoch erniedrigt. Die Triglyceridwerte überschreiten bisweilen Werte von 1000mg/dl. Eine Assoziation scheint eher mit Proteaseinhibitoren beinhaltenden Kombinationstherapien zu bestehen (Thiébaut 1999), doch auch bezüglich des NRTI Stavudin (Polo 1999) und des NNRTI Efavirenz (Moyle 1999) wird eine erhöhte Inzidenz von Hypertriglyzeriden diskutiert. Unter den Proteaseinhibitoren scheint Ritonavir die größte Potenz zur Induktion einer Hypertriglyceridämie zu haben, gefolgt von Indinavir, Nelfinavir, schließlich Amprenavir und Saquinavir (Bonnet 1998, Bernasconi 1998, Pedneault 1999, Polner 1998, Roge 1999).

II.

Cholesterinwerterhöhungen treten insbesondere bei HIV-Patienten auf, die mit einer Proteaseinhibitoren beinhaltenden antiviralen Kombinationstherapie behandelt werden, die Inzidenz behandelter HIV-Patienten, die keine Proteaseinhibitoren erhalten, ist deutlich geringer (Thiébaut 1999). Bei unbehandelten HIV-Patienten kommen Hypercholesterinämien nur sehr selten vor (Carr 1999). Das Gesamtcholesterin erreicht bei den antiviral behandelten Patienten nicht selten Werte von über 300mg/dl, es beruht im Wesentlichen auf einem Anstieg der VLDL- und der LDL-Fraktion (Behrens 1999a) bei gleichzeitiger Abnahme des HDL-Cholesterins. Das Apolipoprotein B ist ebenfalls erhöht (Christeff 1999, Schmitz 2001).

Diese Veränderungen des Lipidstatus unter antiviraler Therapie bei HIV-Patienten gehen mit einem erhöhten atherogenem Index einher. Immer mehr Studien beschäftigen

sich daher mit der Frage, ob bezüglich der Daten der Framingham-Studie bei diesen HIV-Patienten ein erhöhtes Risiko einer Gefäßkomplikation wie akutes koronares Syndrom, Apoplex oder periphere arterielle Verschlußkrankheit besteht. Entsprechend der langsamen Progression der arteriosklerotischen Veränderungen und der erst seit 1996 bekannten dyslipämischen Abweichungen bei HIV-Patienten, ergaben die ersten Untersuchungen bereits eine leichte Zunahme von Gefäßkomplikationen in dieser Patientengruppe, viele Einzelbeobachtungen wurden inzwischen veröffentlicht (Behrens 1998, Gallet 1998, Henry 1998, Flynn 1999, Karmochkine 1998, Friedl 2000, Eriksson 1998). In zwei Kohorten-Studien (Rickerts 2000, Juette 1999) wird von einer seit der Einführung der HAART stetigen Zunahme der Inzidenz von Herzinfarkten bei antiviral behandelten HIV-positiven Patienten berichtet. In der Frankfurter Kohorte sind 4993 HIV positive Patienten, die von Januar 1983 bis Dezember 1998 behandelt wurden bezüglich der Inzidenz von Myocardinfarkten retrospektiv ausgewertet worden. Insgesamt hatte 29 Patienten ein Infarktereignis. Die Inzidenz pro 1000 Patienten pro Jahr veränderte sich in den verschiedenen Zeiträumen: 0,86 (1983-1986), 1,14 (1987-1990), 0,59 (1991-1994) zu 3,41 (1995-1998). Der verbesserten Therapiemöglichkeit der HIV-Infektion scheint eine erhöhte Inzidenz von myocardialen Ischämien gegenüber zu stehen (p=0,002) (Rickerts 2000).

III.

Glukosestoffwechselstörungen wurden erstmalig 1997 vermehrt bei HIV Patienten im Zusammenhang mit einer Proteaseinhibitoren beinhaltenden antiretroviralen Therapie beobachtet (Ault 1997, Dube 1997, Eastone 1997, Visnegarwala 1997). Phänotypisch entspricht diese Störung am ehesten dem insulinpflichtigen Diabetes mellitus Typ 2. Ketoazidosen sind sehr selten, eine Insulinresistenz kann vermehrt nachgewiesen werden (Walli 1998). Die australische Arbeitsgruppe von Andrew Carr hat in einer großen prospektiven Studie gezeigt, daß sich die Insulinresistenz unter der Proteaseinhibitorentherapie allmählich entwickelt. Nach einjähriger Therapie besitzt sie nach seinen Daten bereits eine Häufigkeit von 80% (Carr 1998b, Carr 1999). Nach einem Wechsel der antiretroviralen Therapie von einer Proteaseinhibitoren beinhaltenden zu einer proteaseinhibitorenfreien Therapie, kommt es bei der überwiegenden Anzahl von Patienten zu einer Verbesserung der Insulinsensitivität (Martinez 1999). Vergleicht man Patienten, die ausschließlich NRTI erhielten mit Patienten, die zusätzlich Protease-

inhibitoren zu sich nahmen, so ist die Prävalenz bei der ersten Gruppe mit lediglich 25% deutlich geringer (Goebel 2000).

1.4 Grundzüge des Fettstoffwechsels

1.4.1 Transportsysteme der Plasmalipoproteine

Im Stoffwechsel der Plasmalipoproteine werden drei Transportsysteme unterschieden:

- durch den exogenen Weg werden Nahrungslipide
- durch den endogenen Weg werden Lipoproteine hepatischen Ursprungs
- und durch den reversen Cholesterintransport wird selbiges zur Leber transportiert.

Fettmoleküle wie Triglyceride und Cholesterol sind hydrophob und bedürfen daher im Plasma einer besonderen Form des Transportmechanismus, der durch die Lipoproteinkomplexe ermöglicht wird. Die über die Nahrung (exogen) aufgenommenen Triglyceride werden zu 90% und die Cholesterine zu ca. 40% in der Dünndarmwand zu

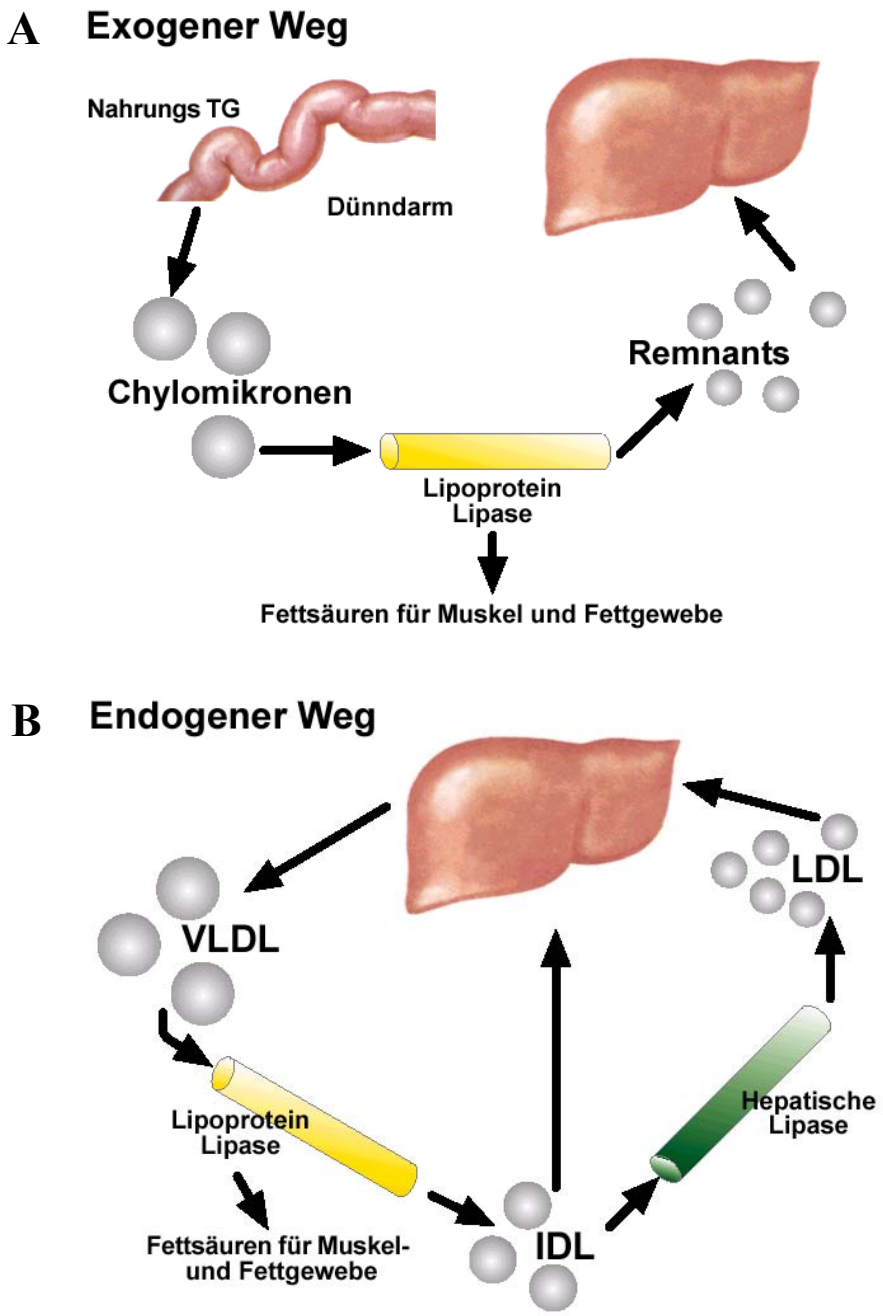
Tabelle 4: Physikalische Eigenschaften und Cholesterin/Triglyceridanteil der humanen Plasmalipoproteinklassen (Illingworth 1993). Die Chylomikronen und das VLDL (very low density lipoprotein) sind besonders triglyceridreich, das LDL (low density lipoprotein) und das HDL (high density lipoprotein) besonders cholesterinreich.

	Chylomikronen	**VLDL**	**LDL**	**HDL**
Dichte (g/ml)	~0,095	<1,006	1,019-1,063	1,063-1,21
Serumelektrophorese	Auftragstelle	Präe-Beta	Beta	Alpha
Cholesterol	2	7	8	4
Cholesterolester	5	13	**37**	**18**
Triglyceride	**84**	**51**	11	4
freie Fettsäuren	0	2	1	1

Chylomikronen synthetisiert und über das Lymphsystem (ductus thoracicus) in den Blutkreislauf transportiert. Das Enzym der Lipoproteinlipase befindet sich vor allem in den Endothelien der kleinen Blutgefäße von Fettgewebe und Muskulatur und hydro-

lisiert die Triglyceride der Chylomikronen. Die dabei freigesetzten Fettsäuren werden dem peripheren Gewebe als Energiequelle zur Verfügung gestellt. Die Chylomikronenreste (chylomikron remnant) werden unter Zuhilfenahme des Apolipoprotein E durch die Leber aus der Zirkulation entfernt. Täglich werden 70-100g Nahrungstriglyceride durch die Lipoproteinlipase verstoffwechselt. Ein Mangel (genetisch) oder eine verminderte Syntheseleistung (sekundär) würde zu einer Hypertriglyceridämie führen.

Graphik 2 A+B: Exogener und Endogener Stoffwechsel der Plasmalipoproteine und Lipide.



Die Verstoffwechselung des von den Hepatozyten gebildeten triglyceridreichen VLDL (endogen) erfolgt ebenfalls durch die endotheliale Lipoproteinlipase, dadurch wird der größte Teil der Triglyceride zu freien Fettsäuren abgebaut, es resultieren die kleineren und dichteren IDL-Partikel. Mittels der hepatischen Lipase werden diese Partikel zu dem cholesterolreichen LDL konvertiert. Sowohl die IDL- als auch die LDL-Partikel können durch den ApoE/ApoB100 Rezeptor (der wohl dem LPR-Rezeptor entspricht – siehe nächstes Kapitel) in der Leber oder auch in extrahepatischem Gewebe mit einem hohen Cholesterolbedarf aufgenommen werden. Das Cholesterin ist ein wichtiger Membranbestandteil und Ausgangssubstanz für die Synthese von Steroidhormonen (in der Nebenniere und den Ovarien) und von Vitamin D. Den größten Anteil an der Elimination des LDL leistet die Leber.

Das drittes Transportsystem ist der reverse Cholesterintransport über das das Cholesterin vom peripheren Gewebe zur Leber gelangt. Neben der Haut, über die durch Abschilferung circa 100mg Cholesterin pro Tag abgegeben werden, ist lediglich die Leber direkt über den Abbau oder indirekt über das Gallesystem in der Lage Cholesterin auszuscheiden. Zunächst wird das Cholesterin auf HDL übertragen. Mit verschiedenen cholesterinreichen und kompakten HDL-Partikel werden über die Lezithin-Cholesterol-Azyl-Transferase (LCAT) Komplexe gebildet. Ein Teil reichert Apo E an und gelangt so zur Leber, ein anderer Teil wird an das Cholesterolester-Transferprotein (CETP) gebunden, wird auf LDL geladen und über die Blutzirkulation zur Leber befördert (Kostner 1995).

Eine in dieser Arbeit hypothetisch angenommene hemmende Interaktion zwischen HIV-Medikamenten und der Lipoproteinlipase oder der hepatischen Lipase würde zu einer Hyperlipidaemie mit insbesondere führender Hypertriglyceridaemie führen.

1.4.2 Apolipoprotein E (Apo E)

Das Apo E ist ein polymorphes Protein, welches in nahezu allen Geweben des Säugetierorganismus synthetisiert werden kann. Es ist unter anderem ein Ligand des LDL-Rezeptors (Apo-B100/E-Rezeptor) und entspricht wohl dem 1988 erstmals beschriebenen und postulierten Rezeptor LRP (LDL-Rezeptor ähnliches Protein) (Mahley 1988). Über Apo E wird der Katabolismus von Chylomikronen, VLDL-

Remnants und den Apo E reichen HDL reguliert. Es sind drei Allele am Apo E Locus bekannt, die ϵ2, ϵ3 und ϵ4 genannt werden. Phänotypisch lassen sich drei homozygote – nämlich E 2/2, E 3/3 und E 4/4 - und drei heterozygote – E 2/3, E 3/4 und E 2/4 – Formen unterscheiden. Die Kombination E 3/3 kommt mit ca. 55% in der Bevölkerung am häufigsten vor und gilt dadurch als Normaltyp (Schmitz 1995). Die Allele ϵ3 wird als der Wildtyp bezeichnet aus dem die Allelen ϵ2 und ϵ4 durch die Substitution von Arginin durch Cystein in der Position 158 bzw. umgekehrt in Position 112 entstehen. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Nettoladungen ist der Polymorphismus des Apo E anhand der isoelektrischen Fokussierung zu analysieren (März 1991, Havekes 1987). Der Apo E Polymorphismus beeinflußt sowohl den exogenen als auch den endogenen Cholesterintransport, durch eine veränderte Affinität zum Rezeptor bei vorhandener Mutation. Der Apo E2 Phänotyp führt zu erhöhten Spiegeln von Chylomikronen und VLDL-Remnants, der Apo E4 Phänotyp ist mit einem erhöhten LDL-Cholesterin vergesellschaftet. Die Verstoffwechselung der Fette ist reduziert, was eine Hyperlipidämie, insbesondere zu Lasten der Cholesterine, zur Folge hat (Kostner 1995).

1.5 Erfassung des wissenschaftlichen Umfeldes

1.5.1 Hypothese der Sequenzhomologie

Carr (1998a und 2000a) stellt als Erklärungsmodell der Entwicklung des Lipodystrophie-Syndromes folgende Hypothese zur Diskussion: Durch die hohe Affinität der HIV-Proteaseinhibitoren zu dem katalytischen Zentrum der HIV Proteasen, komme es neben der Hemmung der HIV-Protease ebenfalls zu einer Hemmung homologer Proteine des Lipidmetabolismus. Eine 12-Aminosäuresequenz, die das katalytische Zentrum der HIV Protease umspanne, habe einerseits eine 63% Homologie in der Region der lipidbindenden Domäne in dem LRP (LDL-receptor-related protein) und andererseits eine 58% Homologie mit der C-Terminalen Region des CRABP-1 (cytoplasmatic retinoic acid binding protein type I).

Das LRP (bzw. der Apo-B100/E-Rezeptor) - von dem bereits in dem vorherigen Kapitel (1.4.2) die Rede war – sei bekannt als ein wichtiger hepatischer Rezeptor, der eine entscheidende Rolle bei der postprandialen Clearance der Chylomikronen spiele,

außerdem befinde er sich gemeinsam mit der Lipoprotein-Lipase (LPL) auf dem kapillaren Endothel. Der LPL/LRP Komplex spalte Fettsäuren von zirkulierenden Triglyceriden, wodurch diesen die Aufnahme in den Adipozyten und die Speicherung in Fettzellen (Adipozyten) ermöglicht werde. Die postulierte Hemmung des LRP durch die Proteaseinhibitoren würde erstens zu einer verminderten postprandialen Clearance und entsprechend zu einer Hypertriglyceridämie führen, zweitens durch die verminderte Spaltung der Fette und verminderte Speicherung in Adipozyten zu einer zusätzlichen Hyperlipidämie und einer Lipoatrophie.

Das CRABP-1 sei ein ubiquitär vorkommendes Protein, welches über den PPARγ (Peroxisome proliferator activated receptor typ γ) sowohl die Apoptosis als auch die Diffenzierung und Proliferation von Fettzellen und die Insulinsensitivität reguliere. Die angenommene Hemmung dieses Proteins durch Proteaseinhibitoren führe, so Carr – insbesondere im subcutanen Fettgewebe, wo die Dichte des PPARγ höher sei als in den anderen Regionen des Fettgewebes – zu einer vermehrten Apoptosis, dadurch auch zu einer Hyperlipidämie und einer erhöhten Insulinresistenz. Weil die zentralen Adipozyten metabolisch aktiver seien als die peripheren, komme es zu einer vermehrten zentralen Fettakkumulation. Die Anwesenheit von Östrogen führe zusätzlich zu einer vermehrten Fettanlagerung in der weiblichen Brust.

1.5.2 Hypothese der mitochondrialen Dysfunktion

Brinkman (1999) beruft sich in seiner Hypothese zur Pathogenese des HALS, die er als alternativen oder zumindest zusätzlichen Mechanismus zu dem zuvor von Carr aufgestellten Erklärungsmodell sehen möchte, auf Beobachtungen von Teplitzky (1999) und Hengel (1997), die eine Ähnlichkeit zwischen dem HALS und der benignen bzw. multiplen symmetrischen Lipomatosis (MSL) oder auch Madelungs Erkrankung genannt, beobachteten.

Als Ursache für die MSL wird eine Punktmutation der Nukleotid-Position 8344 der mitochondrialen DNA (mtDNA) angenommen, die eine Störung der oxidativen Phosphorylierung verursache. Insbesondere das braune Fettgewebe habe die höchste Konzentration von Mitochondrien, was bei einer Störung eines Enzymes der Atmungs-

kette zu einer verringerten Fettverstoffwechselung und dadurch zu einer Fettakkumulation in Form von Lipomen insbesondere in diesem Gewebe führe.

Die Verbindung zwischen der MSL und dem HALS sieht Brinkman in dem gemeinsamen - einerseits (MSL) genetisch bedingten und andererseits (HALS) erworbenen - mitochondrialen DNA Defekt. Patienten mit der erworbenen Fettstoffwechselstörung nehmen Medikamente aus der Klasse der NRTI ein, die als Nebeneffekt die DNA-Polymerase γ zu hemmen vermögen. Diese Hemmung führe zu einer vorzeitigen Erschöpfung der mitochondrialen DNA, bis hin zu einer mitochondrialen Dysfunktion. Die bekannten unerwünschten Wirkungen der Medikamente aus der Klasse der NRTI wie Polyneuropathie, Myopathie, Kardiomyopathie, Pankreatitis, Knochenmarkssuppression und Laktatazidose erklärt Brinkman mit dieser erworbenen mitochondrialen Dysfunktion.

Seine Hypothese besagt, daß die mitochondriale Dysfunktion, die durch die NRTI verursacht werde, verantwortlich für den Mechanismus sei, der letztlich zur HALS führe. Diese metabolische Störung ähnelt – nach seiner Ansicht - der vererbbaren MSL. Insgesamt sei von einem multifaktoriellen Geschehen auszugehen, in dem auch die Proteaseinhibitoren eine schädigende Rolle mitspielen, als führend in der Entstehung des HALS sei nach Brinkman jedoch der Mechanismus der erworbenen mitochondrialen Dysfunktion zu sehen.

C – Material und Methoden

2.1 Patientengruppe

In dieser Pilotstudie wurden in der Zeit vom 19. Oktober 1999 bis zum 9. März 2001 insgesamt 40 Patienten (37 männliche und 3 weibliche) untersucht.

Einschlußkriterien:
HIV positiver Test, Einnahme einer antiretroviralen Kombinationstherapie seit mindestens drei Monaten und entweder Anhalt für eine metabolische (Nüchtern-Hypertriglyceridämie > 300mg/dl oder Nüchterncholesterinämie >300mg/dl) oder eine morphologische Anomalie (faziale Atrophie, Stiernacken oder abdominelle Hypertrophie).

Jeder der Probanden wurde zuvor über diese Untersuchung aufgeklärt, die als Studie bei der Ärztekammer Hamburg angemeldet und akzeptiert wurde. Zur Bestimmung der Lipoprotein- und hepatischen Lipase Aktivitäten wurde jedem Probanden gewichtsadaptiert Heparin appliziert, über die möglichen unerwünschten Wirkungen wurde jeder Proband aufgeklärt und er hat schriftlich sein Einverständnis gegeben.

2.2 Serum

Das den Probanden entnommene Blut wurde bei 2500 Upm in einer Varifuge über 10 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Das Serum wurde abpipettiert und bis zur Weiterverarbeitung bei –80°C tiefgefroren.

2.3 Lipidbestimmung

Cholesterinbestimmung: Die Bestimmung des Cholesterinsgehaltes der Seren wurde mit der ‚Monotest-Cholesterin-CHOP-PAP-Methode (Firma Boehringer Mannheim) durchgeführt. Unter Zuhilfenahme des Eppendorfer Diluters wurden 10µl Probe und 1 ml Reagenzlösung gemischt und 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die Extinktion der Probe wurde bei einer Meßwellenlänge von 546nm gegen den Reagenzienleerwert in einem Photometer (Firma Eppendorf) gemessen. Die Multiplikation des so ermittelten Wertes mit 853 ergab die Cholesterinkonzentration in mg/dl.

Triglyceridbestimmung: Zur Bestimmung der Triglyceridkonzentration der Seren wurde die Testkombination „Triglyceride GPO-PAP“ (Firma Boehringer Mannheim) verwendet. Mit Hilfe des Eppendorf Diluters wurden 10µl Probe und 1 ml Reagenzlösung gemischt und 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die Extinktion der Probe wurde bei einer Meßlänge von 546nm gegen den Reagenzienleerwert in einem Photometer (Firma Eppendorf) gemessen. Nach Multiplikation des ermittelten Wertes mit 1040 wurde die Triglyceridkonzentration in mg/dl ermittelt.

2.4 Aktivitätsassay der Lipoproteinlipase

A. Reagenzien und Lösungen:

1.) Lysophosphatidylcholin (Sigma)

9mg/1,5ml Chloroform/Methanol (1:1, V:V)

2.) Triolein (Sigma, Fluka)

3.) Tris-HCL Puffer 0,2 M pH8 (4,85/200ml)

4.) Albumin (Sigma)

5g/100ml Tris-Puffer, Aliquots wurden bei –20°C eingefroren

5.) Radioaktives Triolein (Amersham CFA 258)

6.) Extraktionslösungen

Methanol 141ml, Chloroform 125ml, n-Heptan 100ml (Stopplösung)

Tetraboratpuffer:

Kaliumtetraborat 30,55g/l pH 10,5

Kaliumcarbonat 13,82 g/l

B. Substrat

Das Substrat wird aliquotiert und bei –20°C eingefroren.

Pro Röhrchen: 50µl Triolein

50µl Lysophosphatidylcholin

20-50µl ^{14}C Triolein (150.000 oder 300.000 cpm)

C. Herstellung der Substratemulsion

Ein Röhrchen Substrat wird in ein Zentrifugenglas (98x170mm) überführt und unter Stickstoff vorsichtig abgedampft. Anschließend wird der Rückstand in 2,4ml Tris Puffer

aufgenommen und unter Eiskühlung bei 2 Watt und einer konstanten Amplitude, 3 mal 60 Sekunden beschallt. Die Spitze des Schallkopfes taucht dabei ca. 1cm in die Lösung. Nach der Beschallung werden zu der Emulsion 0,3 ml Albumin in Tris-Puffer und 0,3 ml hitzeinaktives Serum (1 Stunde, 56°C) gegeben.

Endkonzentration der Emulsion:
Triolein 1,33 mM, LPC 0,2%, BSA 0,5%

D. Assay Durchführung

1.) Lösungen und Plasma auftauen und auf Eis stellen
2.) Probengefäße vorkühlen
3.) je 1µl postheparin Plasma (vorverdünnt 1:10) bzw. 1µl Kontrollseren pipettieren (Blindwert).
4.) Probanden Probe 7µl anti Hl Antikörper pipettieren
5.) 100µl Emulsion dazugeben (Endvolumen 200µl), Röhrchen verschließen, kurz vortexen
6.) 2 Stunden bei 30°C im Wasserbad inkubieren (schütteln)
7.) stoppen durch Zugabe von 3,25 Stopplösung und 1,0 ml Tetraboratpuffer, danach kurz vortexen
8.) 2 min auf Schüttelmaschine
9.) zentrifugieren bei 3000 rpm 15 min
10.) 1ml der Oberphase mit 4-5 ml Scintillationsflüssigkeit zählen
11.) zur Berechnung der spezifischen Aktivität 20-100µl Emulsion in 4-5 ml Scintillationsflüssigkeit mitzählen

E. Berechnung

Spezifische Aktivität der Emulsion = AS

AS =(cpm der Emulsion x 3 x 885 x 10^{-7})/ (0,1 x 7) (cpm/nmol)

0,1 = Volumen der gezählten Emulsionen in ml

7 = mg Triolein in 3ml Emulsion

3 = Volumen der hergestellten Emulsion

885= MW von Triolein

LPL Aktivität = (cpm der Probe x 2,45 x 3) / (AS x 1 x 0,76 x Inkubation in min)

(nmol FFA/min/Röhrchen)

2,45 = Volumen der gesamten wässrigen Extraktionsphase in ml

3 = Fettsäuren die pro Molekül Triolein frei werden

1 = Volumen der Extraktionsphase, in der die Radioaktivität gemessen wird

0,76 = Extraktionskoeffizient der freien Fettsäuren

$$\text{Aktivität} \quad \frac{\text{nmol FFA/ml/Röhrchen}}{\text{Probenvolumen (ml)}}$$

mU = nmol freier Fettsäuren/min/ml Probe

2.5 Aktivitätsassay der hepatischen Lipase (postheparin Plasma)

A. Reagenzien und Lösungen

1.) Lysophosphatidylcholin (Sigma)

9mg/1,5ml Chloroform/Methanol (1:1, V:V)

2.) Triolein (Sigma, Fluka)

3.) Tris-HCL Puffer 0,2 M pH9 (4,85/200ml)

4.) Albumin (Sigma)

5g/100ml Tris-Puffer, Aliquots wurden bei –20°C eingefroren

5.) Radioaktives Triolein (Amersham CFA 258)

6.) Extraktionslösungen

Methanol 141ml, Chloroform 125ml, n-Heptan 100ml (Stopplösung)

Tetraboratpuffer:

Kaliumtetraborat 30,55g/l pH 10,5

Kaliumcarbonat 13,82 g/l

B. Substrat

Das Substrat wird aliquotiert und bei –20°C eingefroren.

Pro Röhrchen: 50µl Triolein

50µl Lysophosphatidylcholin

20-50µl ^{14}C Triolein (150.000 oder 300.000 cpm)

C. Herstellung der Substratemulsion

Ein Röhrchen Substrat wird in ein Zentrifugenglas (98x170mm) überführt und unter Stickstoff vorsichtig abgedampft. Anschließend wird der Rückstand in 1,8 ml Tris Puffer und 1,2 ml Albumin aufgenommen und unter Eiskühlung bei 2 Watt und einer konstanten Amplitude, 3 mal 60 Sekunden beschallt. Die Spitze des Schallkopfes taucht dabei ca. 1cm in die Lösung.

Endkonzentration der Emulsion:

Triolein 1,33 mM, LPC 0,2%, BSA 0,5%

D. Assay Durchführung

1.) Lösungen und Plasma auftauen und auf Eis stellen

2.) Probengefäße vorkühlen

3.) je 1µl postheparin Plasma (vorverdünnt 1:10) bzw. 1µl Kontrollseren pipettieren (Blindwert).

4.) Pro Probe 20µl 2M NaCl pipettieren (inhibiert LPL - aber nicht HL)

5.) 100µl Emulsion dazugeben (Endvolumen 200µl), Röhrchen verschließen, kurz vortexen

6.) 2 Stunden bei 30°C im Wasserbad inkubieren (schütteln)

7.) stoppen durch Zugabe von 3,25 Stopplösung und 1,0 ml Tetraboratpuffer, danach kurz vortexen

8.) 2 min auf Schüttelmaschine

9.) zentrifugieren bei 3000 rpm 15 min

10.) 1ml der Oberphase mit 4-5 ml Scintillationsflüssigkeit zählen

11.) zur Berechnung der spezifischen Aktivität 20-100µl Emulsion in 4-5 ml Scintillationsflüssigkeit mitzählen

E. Berechnung

Spezifische Aktivität der Emulsion = AS

AS = (cpm der Emulsion x 3 x 885 x 10^{-7})/ (0,1 x 7) (cpm/nmol)

0,1 = Volumen der gezählten Emulsionen in ml

7 = mg Triolein in 3ml Emulsion

3 = Volumen der hergestellten Emulsion

885= MW von Triolein

HL Aktivität = (cpm der Probe x 2,45 x 3) / (AS x 1 x 0,76 x Inkubation in min)
(nmol FFA/min/Röhrchen)

2,45 = Volumen der gesamten wässrigen Extraktionsphase in ml
3 = Fettsäuren die pro Molekül Triolein frei werden
1 = Volumen der Extraktionsphase, in der die Radioaktivität gemessen wird
0,76 = Extraktionskoeffizient der freien Fettsäuren

$$\text{Aktivität } \frac{\text{nmol FFA/ml/Röhrchen}}{\text{Probenvolumen (ml)}}$$

mU = nmol freier Fettsäuren/min/ml Probe

2.6 Apolipoprotein E

Die Apolipoprotein E-Isoform wurde mittels der isoelektrischen Fokussierung (Havekes 1987) aus dem Patientenserum bestimmt. 10µl Patientenserum wurden mit 10ml eines Chloroform/Methanol-Gemisches in ein Eppendorf- Reagenzgefäß bzw. in ein Reagenzglas mit Schrauberschluß pipettiert. Das Choroform und das Methanol wurden zuvor im Verhältnis 8 zu 5 gemischt. Das Plasmareaktionsgemisch wurde 5 Minuten geschüttelt und daraufhin in einer Biofuge (Firma Heraeus Christ) 5 Minuten bei 1300 Upm zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Dieser Vorgang wurde zweimal durchgeführt. Nach der Delipidierung wurden die Proben im offenen Reaktionsgefäß über eine Zeit von 60 Minuten bei 4°C getrocknet. Daraufhin erfolgte die Auftrennung der Serumproteine durch die isoelektrische Fokussierung (IEF), dessen Prinzip auf der unterschiedlichen Mobilität der Proteine im elektrischen Feld beruht. Durch die unterschiedlichen Ladungen wandern sie zu ihrem jeweiligen isoelektrischen Punkt.

2.7 Statistik und Auswertung

Die Datenerfassung und –Verwaltung erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Excel®, Version 2000, der Firma Microsoft© unter Einhaltung der aktuell gültigen Maßgaben des Datenschutzbeauftragten der Hansestadt Hamburg.

Die statistischen Analysen wurden mit Hilfe des Statistikprogrammes SPSS für Windows®, release 10.1, der Firma SPSS Inc.© erstellt. Es wurde der nonparametrische Mann-Whitney U Test zur Berechnung der statistischen Signifikanz angewandt. Die Scatterblot Darstellung wurde angewandt zur Berechnung des Korrelationsindex.

Für die nominalen Werte wurden absolute und relative Häufigkeiten, für die steigenden Merkmale Minimum und Maximum bestimmt und Mittelwert, Median und Standard-abweichung berechnet.

3. Darstellung der Ergebnisse

3.1 Die Resultate des Gesamtkollektives

3.1.1 Epidemiologische Daten

In dieser Pilotstudie wurden in der Zeit vom 19. Oktober 1999 bis zum 9. März 2001 insgesamt 40 Patienten (37 männliche und 3 weibliche) untersucht. Gemeinsam ist diesem Kollektiv, daß sie alle

- in der serologischen Untersuchung HIV-positiv gemessen wurden
- über mindestens drei Monate eine antiretrovirale Kombinationstherapie erhielten
- Kriterien einer metabolischen oder morphologischen Lipodystrophie erfüllen.

Das Durchschnittsalter beträgt 46,6 (Spanne: 28-70) Jahre. Jeder Proband nimmt zum Zeitpunkt der Untersuchung seit mindestens einem halben Jahr (exaktes Minimum 203 Tage) eine antiretrovirale HIV-Therapie ein, die aktuelle Therapie seit mindestens einem Monat (exaktes Minimum 36 Tage). Die zeitliche Spanne jeglicher antiretroviraler gegen HIV gerichteter Medikamente liegt zwischen einem halben Jahr und zwölfeinhalb Jahren (exakt 0,6 bis 12,7 Jahren). Die HIV-Infektion ist in diesem Patientenkollektiv in der Spanne zwischen einem halben Jahr und seit etwas über 15 Jahren (exakt 0,6 - 15,2 Jahren) bekannt.

Tabelle 5: Dauer der HIV-Infektion sowie der Einnahme der aktuellen und er je eingenommenen antiretroviralen Therapie

	N	Mean	Minimum	Maximum	Range
Jahre der HIV-Infektion	40	8,0	,6	15,2	14,7
Jahre der ART	40	5,2	,6	12,7	12,1
Monate der aktuellen ART	40	12,6	1,2	41,6	40,4

Eine divergente antiretrovirale Therapie erhielten 29 der 40 Probanden (72,5%), entsprechend wurden 11 der 40 Probanden (27,5%) mit einer konvergenten antiretroviralen Therapie behandelt.

Fünf Probanden wurden im Verlauf - erst unter der Einnahme einer divergenten, dann unter der Einnahme einer konvergenten Therapie beobachtet und ausgewertet.

3.1.2 Lipide

Die Nüchternwerte der Cholesterine und insbesondere der Triglyceride weisen große Schwankungen auf. Die Spanne für die Cholesterine liegt bei 411mg/dl mit einer Standardabweichung von 77 und die Spanne für die Triglyceride liegt sogar bei 2372 mg/dl (Standardabweichung 564). Die Mittelwerte des Gesamtkollektives sind jeweils erhöht, er liegt für die Cholesterine bei 259mg/dl und für die Triglyceride bei 463mg/dl, dagegen ist der Mittelwert des HDL mit 37mg/dl leicht erniedrigt. Das LDL-Cholesterin konnte bei 11 Probanden - jeweils wegen erhöhter Triglyceridwerte - nicht bestimmt werden. Bei den übrigen 29 Probanden wurden Werte zwischen 96 und 255 mg/dl ermittelt. Der Mittelwert liegt mit 159mg/dl leicht über dem Normwert.

Tabelle 6: Mittelwerte, Standardabweichungen, Minimum- und Maximumwerte einiger Lipide, Lipoproteine und der Lipoproteinlipase und der hepatischen Lipase

	N	Mean + Std. Abw.	Minimum	Maximum
Nüchterntriglyceride (mg/dl)	40	463 ± 564	76	2448
Nüchterncholesterin (mg/dl)	40	259 ± 77	166	577
HDL (mg/dl)	40	37 ± 15	15	81
LDL (mg/dl)	29	159 ± 42	96	255
Lipoproteinlipase Aktivität (%)	39	81 ± 42	21	180
Hepatische Lipase Aktivität (%)	39	102 ± 65	2	326

Bei 39 der 40 Probanden konnten die jeweiligen Aktivitäten der Lipoproteinlipase und der hepatische Lipase ermittelt werden. Bei einem der Probanden (HP29) konnten keine blanks nachgewiesen und entsprechend keine Aktivitäten bestimmt werden, er wurde bei der Auswertung, die diese Enzymaktivitäten betreffen nicht berücksichtigt.

Die Enymaktivitäten der Lipoproteinlipase liegen zwischen 21 und 180 %, der Mittelwert beträgt für das Gesamtkollektiv 81,1 %, der Median lediglich 70 %, so daß die an dieser Studie teilnehmenden Probanden mit ihrer Lipoproteinlipase-Aktivität im Durchschnitt in einem erniedrigten Bereich liegen.

Die Spannweite der hepatischen Lipaseaktivität dieses Kollektives liegt bei 324, mit einem gemessenen Minimumwert von 2% und einem Maximumwert von 326%. Der Mittelwert aller gemessenen Aktivitäten der hepatische Lipase beträgt 102,1 %, der Median lediglich 83%, so daß die im Rahmen dieser Untersuchung gemessenen hepatische Lipaseaktivitäten insgesamt in einem mittleren Bereich liegen. Die auffällige Diskrepanz zwischen dem Mittelwert und dem Median von über 20 Prozentpunkten ist durch die zwei Ausreißer mit den recht hohen Aktivitätsmessungen von 326% (FP47) und 282% (US34) zu erklären.

3.1.3 Apolipoprotein E

Bei 55% der Probanden wurde ein Apolipoprotein E vom phänotypischen Normaltyp 3/3 nachgewiesen, was der Verteilung in der Normalbevölkerung entspricht (siehe Kapitel 1.4.2), 45% hatten die übrigen bekannten Apolipoprotein E Phänotypen 2/2 - 4/4 - 2/3 - 2/4 - 3/4, die im folgenden zusammengefaßt als ‚non 3/3' bezeichnet werden. Die Nüchterncholesterin- und -triglyceridwerte differieren, wenn sie nach der Eigenschaft Apolipoprotein E 3/3 oder ‚non 3/3' unterschieden werden. Sie haben in letzterem Falle eine größere Streubreite und deutlich höhere Mittel- und Maximumwerte. Eine auffällig große Differenz besteht bezüglich der Mittelwerte und dem Median der Nüchterntriglyceride (Tabelle 7A), so ist einerseits der Mittelwert in der Gruppe derjenigen Probanden mit einem Apolipoprotein E ‚non 3/3' deutlich erhöht (547 versus 395 mg/dl), andererseits ist der Median invers zum Mittelwert (251 versus 270mg/dl). Diese große Diskrepanz wird durch die Ausreißer in der ‚non 3/3' Gruppe erklärt, die den Mittelwert erheblich anheben und andererseits durch den großen Anteil von über 50 % der Probanden mit einem Nüchterntriglyceridwert von kleiner als 251mg/dl, so daß der moderate Median zu errechnen ist.

Tabelle 7A+B: Lipide differenziert nach dem Apolipoprotein Phänotyp E

A

		N	%	Mean + Std.Abw.	Minimum	Maximum	Median
Apo E 3/3	Nüchterncholesterin (mg/dl)	22	55	238± 45	166	327	231
	Nüchterntriglycerid (mg/dl)	22	55	395±323	77	1374	270
	HDL (mg/dl)	22	55	37± 15	18	77	
	LDL (mg/dl)	14		146± 33	96	202	
Apo E 'non 3/3'	Nüchterncholesterin (mg/dl)	18	45	285± 98	167	577	263
	Nüchterntriglycerid (mg/dl)	18	45	547±766	76	2448	251
	HDL (mg/dl)	18	45	38± 17	15	81	
	LDL (mg/dl)	15		170± 47	108	255	

B

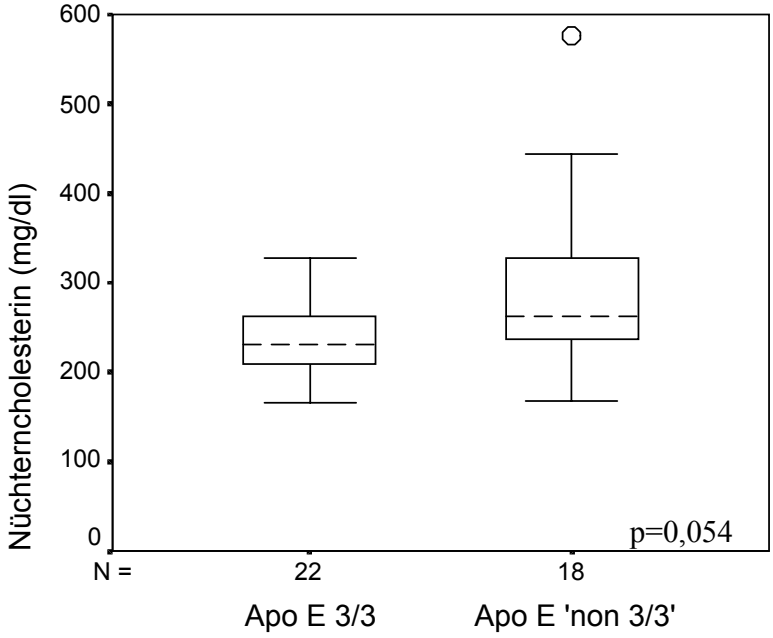
		N	%	Mean + Std.Abw.	Minimum	Maximum	Median
Apo E 3/4	Nüchterncholesterin (mg/dl)	9	22,5	243± 46	173	328	250
	Nüchterntriglyceride (mg/dl)	9	22,5	409±531	76	1794	251
Apo E 4/4	Nüchterncholesterin (mg/dl)	3	7,5	285± 47	249	339	268
	Nüchterntriglyceride (mg/dl)	3	7,5	165± 74	117	250	129
Apo E 2/3	Nüchterncholesterin (mg/dl)	5	12,5	301±100	167	444	292
	Nüchterntriglyceride (mg/dl)	5	12,5	643±928	153	2298	281
Apo E 2/2	Nüchterncholesterin (mg/dl)	1	2,5	(577)			
	Nüchterntriglyceride (mg/dl)	1	2,5	(2448)			

Die Verteilung der unterschiedlichen Apolipoprotein E ‚non 3/3' (=45%) Phänotypen in diesem Probandenkollektiv sieht folgendermaßen aus (Tabelle 7B): bei 22,5% (n=9) wird der Phänotyp 3/4, bei 7,5% (n=3) der Phänotyp 4/4, bei 12,5% (n=5) der Phänotyp 2/3 und bei einem Probanden der Phänotyp Apolipoprotein E 2/2 nachgewiesen. In der Betrachtung der Nüchterntriglyceride und Nüchterncholesterine unterschieden nach dem jeweiligen Apolipoprotein E Phänotyp fällt auf, daß bei den drei Probanden mit dem Phänotyp 4/4 mehr unauffällige Nüchterntriglyceridwerte [165mg/dl (mean) und 129mg/dl (median)] gemessen wurden als bei den anderen Gruppen. Die Nüchterncholesterinwerte allerdings sind mit 285mg/dl (mean) und 268 mg/dl (median) überdurchschnittlich hoch. Die Triglycerid- und Cholesterinwerte der Probanden mit dem Phänotyp 3/4 sind vergleichbar zu den der Probanden mit einem Apolipoprotein E 3/3. Die Lipide der sechs Probanden mit einem Apolipoprotein E von 2/3 oder 2/2 fallen deutlich durch insbesondere erhöhte Nüchterntriglycerid- aber auch -cholesterinwerte auf.

In der Gesamtbetrachtung aller Probanden lediglich gesplittet nach dem Apolipoprotein E 3/3 oder ‚non 3/3' ergibt sich für die Nüchterncholesterine ein Trend in Richtung einer Zunahme der Hypercholesterinämie bei der Gruppe mit einem Apolipoprotein E 'non 3/3' (p=0,054). Für die Nüchterntriglyceride (p=0,605) oder das HDL-Cholesterin

(p=0,713) wurde bezüglich des Apolipoprotein E 3/3 versus ‚non 3/3' kein Trend gefunden.

Graphik 3: Nüchterncholesterinwerte differenziert nach dem phänotypischen Apolipoprotein E 3/3 versus ‚non 3/3'



3.2 Immunologie und Fettstoffwechsel

3.2.1 Viruslastbestimmungen (PCR)

Die an dieser Studie teilnehmenden Probanden hatten überwiegend eine Viruslast unter der Nachweisbarkeitsgrenze von 7 Kopien/ml (n=24), von den Probanden (n=16) mit einer nachweisbaren Viruslast von >7 Kopien/ml hatte lediglich einer eine Viruslast von

Tabelle 8: Verteilung der HIV-Viruslast

HIV-Viruslast (PCR)	N	%
0-7 Kopien/ml	24	60,0
8-100 Kopien/ml	5	12,5
101-1000 Kopien/ml	4	10,0
1001-10000 Kopien /ml	6	15,0
> 10000 Kopien/ml	1	2,5
Total	40	100,0

größer als 10.000/ml (exakt 50.000/ml), die übrigen Werte lagen zwischen 10 und 6.130 Kopien/ml. Korreliert man die Nüchterncholesterin- und -triglyceridwerte oder auch die Lipoproteinlipase- und die hepatische Lipaseaktivität mit der Viruslast, ergeben sich bei diesem Probandenkollektiv keine statistisch signifikanten Trends bezüglich eines vermehrten Auftretens einer metabolischen Fettstoffwechselstörung, weder eine für die Gruppe mit gut supprimierter Viruslast, noch eine für die Probanden mit nachweisbaren HI-Viruspartikeln. Die beiden durch das Kriterium der Viruslast differenzierten Gruppen scheinen anhand der Parameter der in der folgenden Tabelle genannten Lipide und Enzymaktivitäten vergleichbar zu sein.

Tabelle 9: Cholesterine, Triglyceride, LpL und HL in Abhängigkeit zur HIV-Viruslast

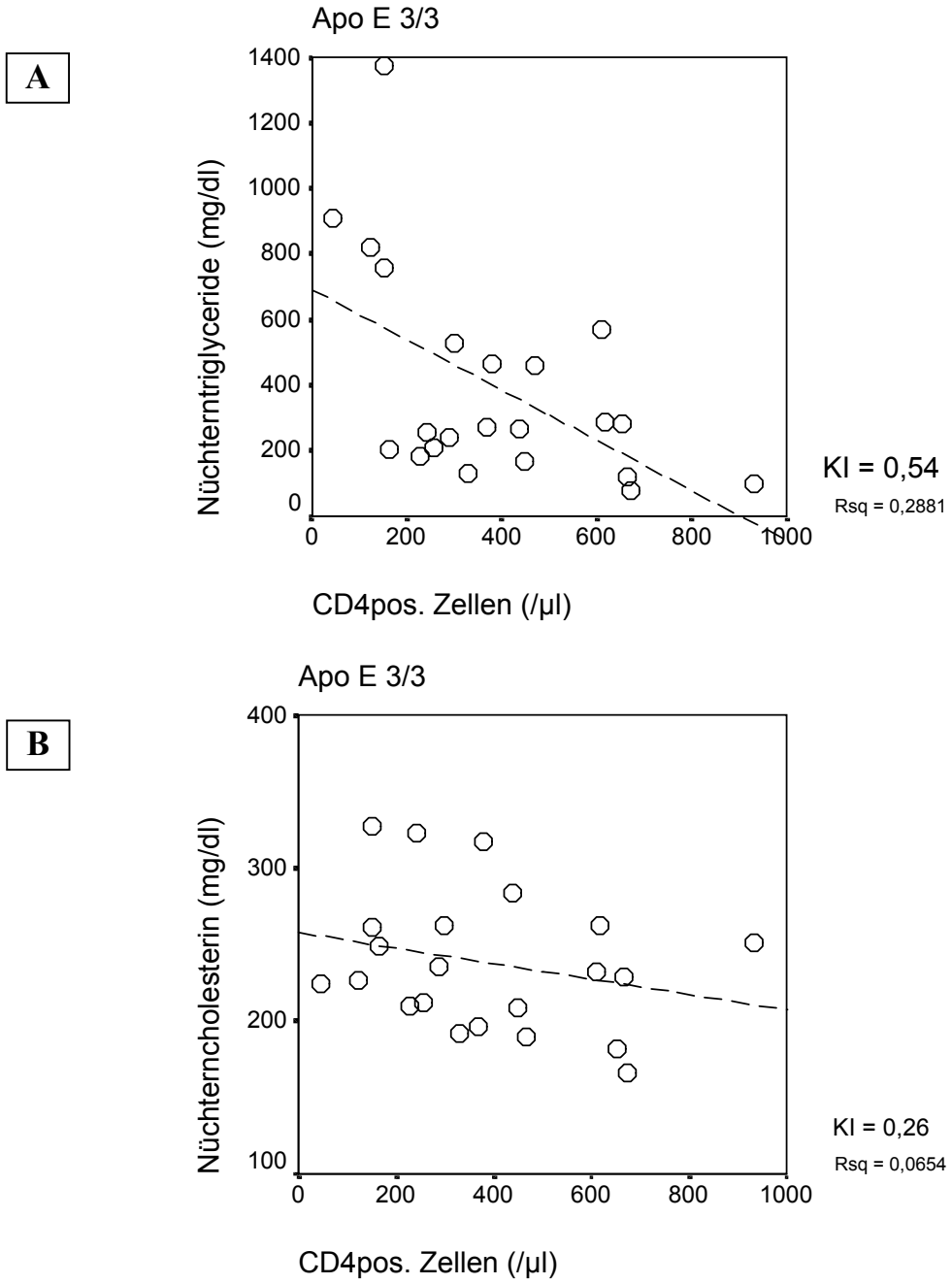
HIV-Viruslast (PCR)		N	Mean + Std.Abw.	Minimum	Maximum
<8 Kop./ml	Nüchterncholesterin (mg/dl)	24	258± 63	166	444
	Nüchterntriglyceride (mg/dl)	24	410±509	76	2298
	Lipoproteinlipase (%)	23	79± 38	21	179
	Hep. Lipase Aktivität (%)	23	111± 78	2	326
>7 Kop./ml	Nüchterncholesterin (mg/dl)	16	261± 96	167	577
	Nüchterntriglyceride (mg/dl)	16	542±647	117	2448
	Lipoproteinlipase (%)	16	84± 48	34	180
	Hep. Lipase Aktivität (%)	16	89± 38	22	149

3.2.2 Lymphozytensubpopulationen

Die CD4 positiven Zellen lagen zu der jeweiligen Untersuchung in einem Bereich zwischen 45 und 951/µl, was einem Mittelwert von 386/µl (Standardabweichung 216) entspricht. Damit ist das Untersuchungskollektiv in einem Bereich, in dem eine ausreichende zelluläre Immunität angenommen werden kann. Lediglich drei Probanden hatten eine CD4-Zellzahl von <150/µl.

Setzt man die CD4-positiven Zellen in Bezug zu den Nüchterntriglycerid- oder -cholesterinwerten, so ergibt sich in der Gesamtbetrachtung kein Trend, dies ändert sich in der Einzelauswertung lediglich der Probanden mit einem phänotypischen Apolipoprotein E vom Normaltyp (Apo E 3/3). In den beiden folgenden Scatterblotgraphiken wird dieser Trend dargestellt. Niedrige CD4 positive Zellen korrelieren mit hohen Triglyceridwerten (KI= 0,54) und mit hohen Cholesterinwerte (KI = 0,26).

Graphik 4: Nüchterntriglyceride und –cholesterine in Relation zu den CD4pos. Zellen bei allen Probanden mit einem Apolipoprotein E 3/3



Betrachtet man diese Probanden mit dem Apolipoprotein E vom Normaltyp, differenziert nach CD4-positive Zellen kleiner als 300/µl und größer als 300/µl, so lassen sich in der Gruppe mit den niedrigen CD4pos. Zellen relativ hohe Nüchtern-triglyceride als Mittelwert errechnen (548mg/dl versus 267mg/dl). Der p-value nach dem Mann-Whitney U Test beträgt 0,114. Für die Nüchterncholesterine betragen die

Mittelwerte 252,9 versus 225,8 mg/dl, der p-value liegt bei 0,138. Entsprechend dieses p-value lassen sich zwar keine statistisch signifikanten Ergebnisse errechnen, doch ist ein Trend zu beschreiben, der aussagt, daß eine fortgeschrittene zelluläre Immundefizienz insbesondere mit höheren Triglycerid- aber auch mit höheren Cholesterinwerten einhergeht.

Graphik 5: Nüchterntriglyceride und -cholesterine in Relation der CD4pos. Zellen bei Probanden mit einem ApoE 3/3

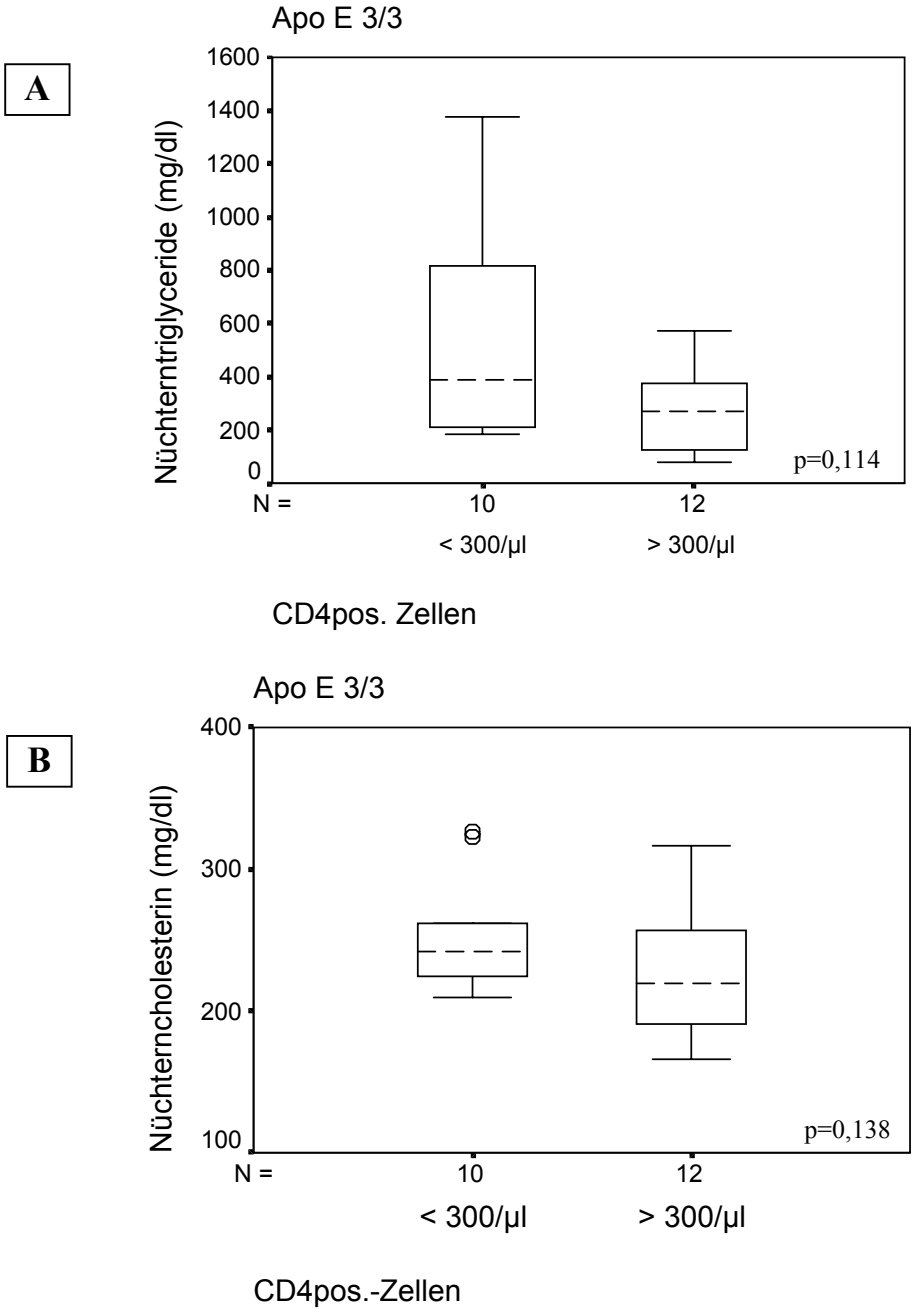


Tabelle 10: Nüchterntriglyceride und -cholesterine in Relation der CD4pos.Zellen bei Probanden mit einem phänotypischen Apolipoprotein E 3/3

Apo E 3/3		N	Mean	Minimum	Maximum
CD4pos.<300/µl	Nüchterntriglyceride (mg/dl)	10	548	182	1374
	Nüchterncholesterin (mg/dl)	10	253	210	327
CD4pos.>300/µl	Nüchterntriglyceride (mg/dl)	12	267	77	571
	Nüchterncholesterin (mg/dl)	12	226	166	317

3.3 Fettstoffwechsel bei di- und konvergenter antiretroviraler Therapie

3.3.1 Triglyceride und Cholesterine

Die Cholesterinnüchternwerte aller Probanden unterschieden nach proteaseinhibitoren-freier (=konvergenter, n=11) und -haltiger (=divergenter, n=29) Therapie sind in beiden Gruppen vergleichbar. Lediglich der Maximum-Bereich und die Standard-abweichung sind in der zweiten Gruppe etwas größer, ohne das sich daraus eine statistische Signifikanz berechnen läßt.

Tabelle 11: Lipide differenziert nach einer konvergenten oder divergenten Therapie (HAART = high active antiretroviral therapy)

HAART		N	Mean + Std.Abw.	Minimum	Maximum
konvergent (ohne PI)	Nüchterntriglyceride (mg/dl)	11	471±643	76	2298
	Nüchterncholesterin (mg/dl)	11	251± 72	173	444
	HDL (mg/dl)	11	37± 13	15	56
	LDL (mg/dl)	8	148± 37	96	202
divergent (mit PI)	Nüchterntriglyceride (mg/dl)	29	460±543	77	2448
	Nüchterncholesterin (mg/dl)	29	262± 79	166	577
	HDL (mg/dl)	29	38± 16	18	81
	LDL (mg/dl)	21	162± 44	108	255

Nimmt man diejenigen Probanden aus der Analyse, die ein Apolipoprotein E 'non 3/3' aufweisen, so bleiben 22 Probanden übrig, davon sind 9 ohne eine proteaseinhibitoren-haltige und 13 unter einer ebensolchen Therapie. Die Mittelwerte beider Gruppen sind - bis auf die der Triglyceridwerte - vergleichbar. Die Standardabweichung und der Maximumwert sind in der PI-Gruppe weiterhin vergrößert – jedoch bei den Triglycerid-

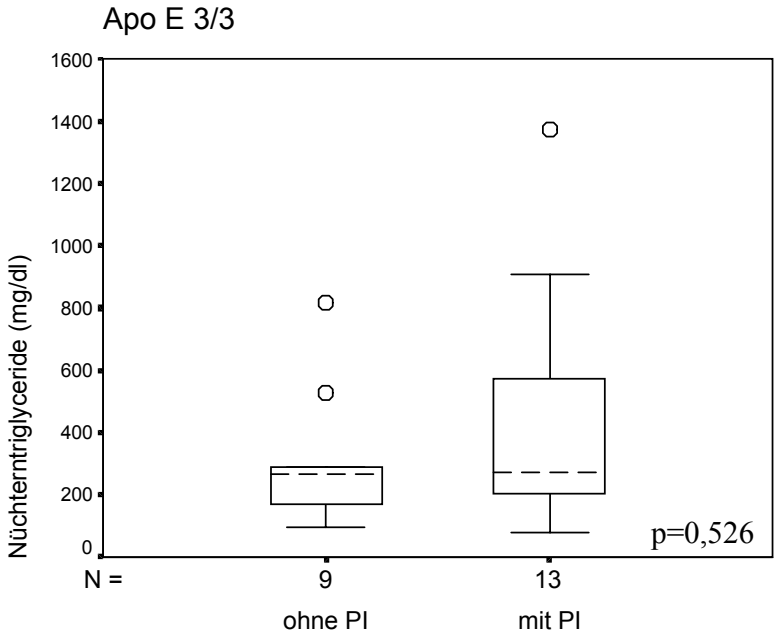
Tabelle 12: Lipide differenziert nach einer konvergenten oder divergenten antiviralen Therapie bei Probanden mit einem Apolipoprotein E vom Normaltyp

Apo E 3/3	HAART		N	Mean + Std.Abw.	Minimum	Maximum
	ohne PI	Nüchterntriglyceride (mg/dl)	9	312±227	99	818
		Nüchterncholesterin (mg/dl)	9	238± 31	182	284
		HDL (mg/dl)	9	39± 12	26	56
		LDL (mg/dl)	7	153± 38	96	202
	mit PI	Nüchterntriglyceride (mg/dl)	13	452±373	77	1374
		Nüchterncholesterin (mg/dl)	13	238± 54	166	327
		HDL (mg/dl)	13	35± 16	18	77
		LDL (mg/dl)	7	140± 29	110	195

und den Cholesterinwerten geringer als in der eben erfolgten Betrachtung unabhängig vom Apolipoprotein Phänotyp.

Bei den Nüchterntriglyceridwerten der Probanden mit einem Apolipoprotein E ‚non 3/3' verkleinern sich die Mittelwerte und die Standardabweichung in beiden Gruppen, insbesondere jedoch in der konvergenten Therapiegruppe, so daß in dieser Untergruppe

Graphik 6: Nüchterntriglyceride der Probanden mit einem phänotypischen Apolipoprotein E von 3/3 getrennt nach di- und konvergenter Therapie



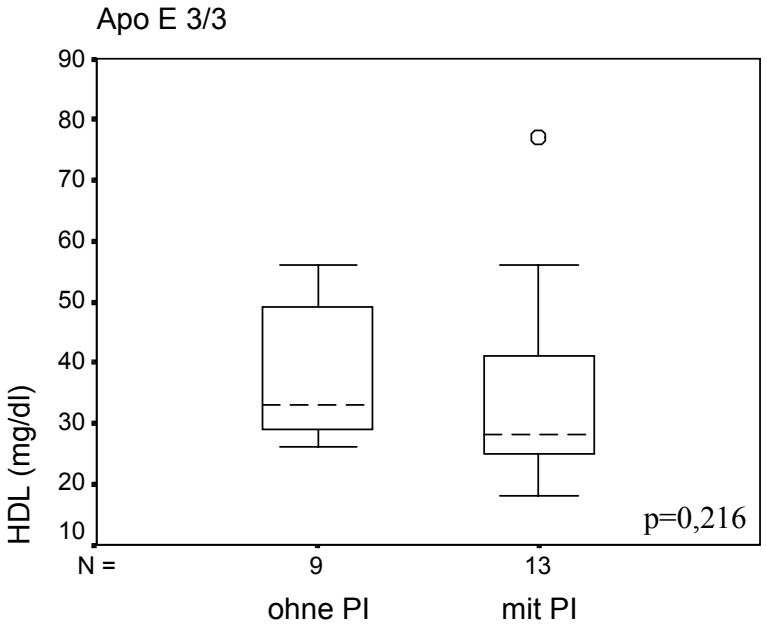
die Nüchterntriglyceridwerte zuungunsten der divergenten Gruppe erhöht gemessen wurden (452 versus 312mg/dl). Die Medianwerte, die durch die gestrichelten Linien in

dem folgenden Scatterplott dargestellt sind, bleiben vergleichbar [267 (konvergent) versus 273 (divergent)], der p-value ohne statistische Signifikanz.

3.3.2 HDL- Cholesterin

Differenziert man die Gruppe, die eine antiretrovirale Therapie einnahm, nach einem konvergenten und einem divergenten antiretroviralen Therapieregime, so bleiben die beiden Gruppen bezüglich des HDL-Cholesterins vergleichbar (Tabelle 11). Weder im Median- noch im Mean-Wert ergeben sich große Unterschiede. In beiden Gruppen ist der HDL-Mittelwert niedrig gemessen worden (37 bzw. 38 mg/dl), die Streubreite und die Standardabweichung bleiben vergleichbar und ohne einen auswertbaren Trend.
Die weitere Analyse dieser beiden Gruppen bezüglich der Verteilung des HDL-Cholesterins lediglich der Probanden mit einem Apolipoprotein E 3/3 (Tabelle 12), ergibt einen Trend dahingehend, daß diejenigen Probanden, die eine divergente antiretrovirale Kombinationstherapie erhalten eher noch niedrigere HDL-Cholesterinwerte aufweisen. Die Minimum-, Median- und Mittelwerte sind in dieser Gruppe erniedrigt. Die folgende Boxplot-Darstellung macht die Erniedrigung dieser HDL- Cholesterinwerte bei allen

Graphik 7: HDL-Cholesterinwerte der Probanden mit einem phänotypischen Apolipoprotein E vom Normaltyp differenziert nach einer di- und konvergenten antiretroviralen Therapie



Patienten mit einem Apolipoprotein E 3/3 unter einer Proteaseinhibitorentherapie graphisch sichtbar. Der p-value nach dem Mann-Whitney U Test bleibt mit 0,216 allerdings größer als 0,05, so daß hier lediglich von einem Trend, nicht aber von einer statistischen Signifikanz geschrieben werden kann.

3.3.3 Lipoproteinlipaseaktivität und antiretrovirale Therapie

Bei 39 von 40 Probanden konnte eine Aktivitätsmessung der Lipoproteinlipase erfolgen, nur das Assay eines der Probanden (HP 29) wies keine blanks auf und konnte daher nicht berücksichtigt werden. Die Lipoproteinlipase-Aktivitäten der HIV-positiven Patienten mit nachgewiesener metabolischer und/oder morphologischer Lipodystrophie wurde sowohl bei allen Patienten (n=39), wie auch in der Aufsplitterung nach normalem (n=21) und nicht normalem (n=18) Apo E Phänotyp mit vergleichbaren Parametern gemessen.

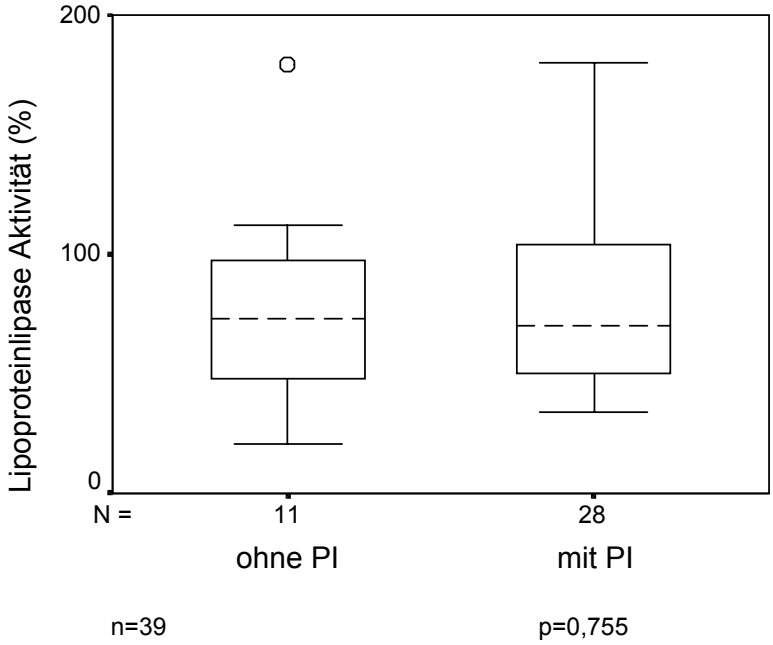
Tabelle 13: Lipoproteinlipaseaktivitäten (%) des Gesamtkollektives und aufgeschlüsselt nach dem Apolipoprotein E Phänotyp

	N	Mean	Minimum	Maximum
LpL Aktivität aller Probanden (%)	39	81,05	21	180
LpL (%) aller mit Apo E 3/3	21	81,52	21	179
LpL (%) aller mit Apo E 'non 3/3'	18	80,50	36	180

Nach der Splittung des Kollektives in eine Gruppe ohne aktuelle Proteaseinhibitoren-Einnahme (n=11) und eine Gruppe von Patienten, die zum Zeitpunkt der Untersuchung Proteaseinhibitoren erhielten (n=28), ergibt sich im Vergleich dieser beiden Gruppen kein nennbarer Unterschied in der gemessenen Lipoproteinlipase-Aktivität (Graphik 8). Im Vergleichstest zweier unabhängiger Stichproben (U-Test nach Mann und Whitney) bestätigt sich die Indifferenz dieser beiden Gruppen bezüglich der Lipoproteinlipase-Aktivität (p=0,755).

In der Unterauswertung differenziert nach dem Apolipoprotein E Phänotyp 3/3 versus ‚non 3/3' läßt sich ebenfalls kein Unterschied in der Messung der Lipoproteinlipase-Aktivität feststellen. Auf eine graphische Darstellung wurde hier verzichtet.

Graphik 8: Lipoproteinlipaseaktivität bei di – und konvergenter antiretroviraler Therapie



Einerseits läßt sich weder in der Analyse der beiden Gruppen (mit und ohne Proteaseinhibitoren) noch in der Unterauswertung, in der nach ApoE 3/3 und ‚non 3/3' differenziert wird, ein Trend ausmachen, andererseits läßt die Unterscheidung mit oder ohne Proteaseinhibitoren, sowohl den jeweiligen Wirkspiegel wie auch die Proteaseinhibitorensubstanz unberücksichtigt, so daß diesbezüglich eine weitergehende Analyse erfolgen wird (Kapitel 3.6.2+3).

3.3.4 Hepatische Lipaseaktivität und antiretrovirale Therapie

Die hepatische Lipaseaktivität konnte bei 39 von 40 Patienten gemessen werden. Bei einem Probanden (HP 29) wurden keine blanks nachgewiesen, so daß dieser Patient – wie bereits bezüglich der Lipoproteinlipase – in diesen Berechnungen nicht berücksichtigt werden konnte. Die Aktivitätsmessungen wurden in einem Bereich von 2 bis 326 % - mit einem Mittelwert von 102,1 % - gemessen. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit einem normalen und einem ‚non 3/3' ApoE Phänotyp ergab sich auch hier nicht (Mittelwert 106,1 vs. 97,4).

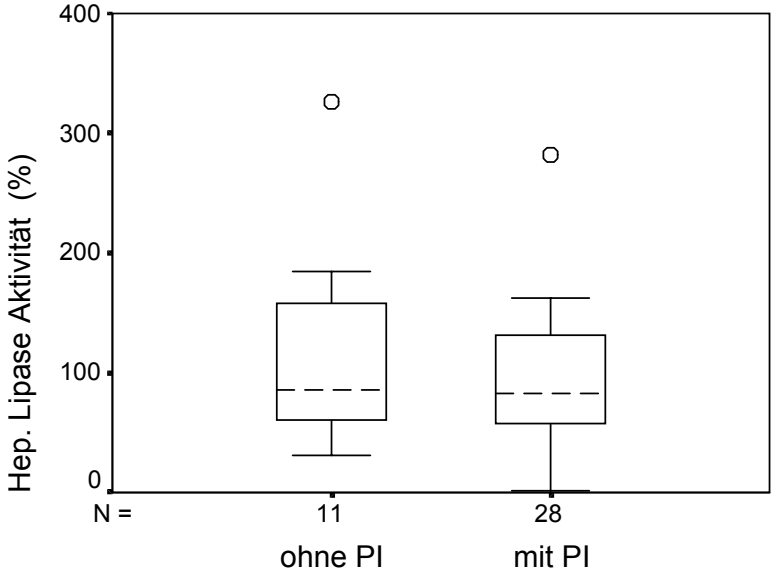
Tabelle 14: Hepatische Lipaseaktivitäten (HL) (%) des Gesamtkollektives und aufgeschlüsselt nach dem Apolipoprotein E Phänotyp

	N	Mean	Minimum	Maximum
HL Aktivität aller Probanden (%)	39	102,1	2	326
HL (%) aller mit Apo E 3/3	21	106,1	2	326
HL (%) aller mit Apo E 'non 3/3'	18	97,4	22	282

Im Vergleich der zu untersuchenden Gruppen von Probanden mit (n=28) und ohne (n=11) aktueller Proteaseinhibitorentherapie läßt sich ein Trend erkennen, daß die hepatische Lipaseaktivität bei den Probanden, die Proteaseinhibitoren einnehmen erniedrigt gemessen wurde. Der Mittelwert der Gruppe mit Proteaseinhibitoren (n=28) beträgt 96,2 % (median 82,0 %), der der Gruppe ohne Proteaseinhibitoren (n=11) 117,3 % (median 85,0 %). In der Unterauswertung lediglich der Patienten mit einem phänotypischen ApoE 3/3, ergibt sich für die Gruppe mit Proteaseinhibitoren (n=12) ein Mittelwert von 88,4 % (median 84%) und in der Gruppe ohne Proteaseinhibitoren (n=9) ein Mittelwert von 129,8 % (median 105 %). Die p-values (U-Test nach Mann und

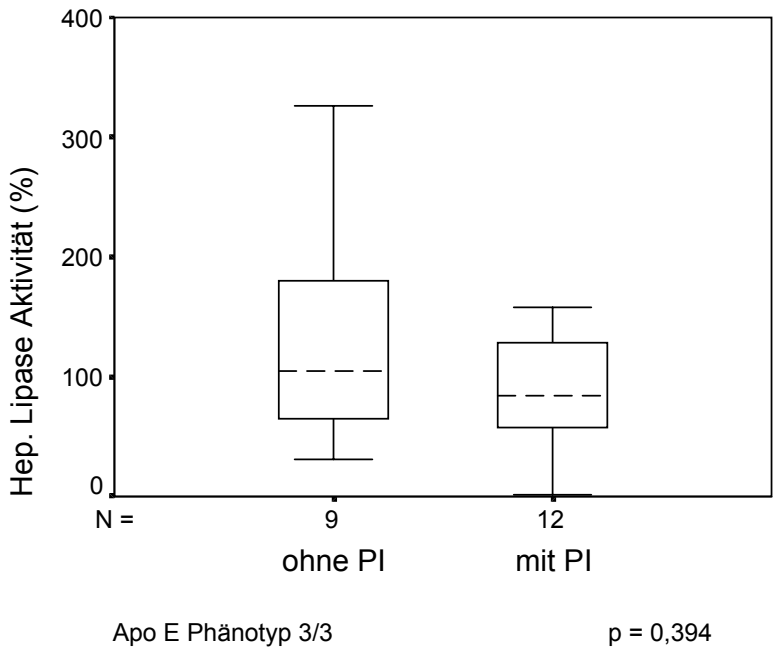
Graphik 9: Hepatische Lipaseaktivität (%) differenziert nach der aktuellen anti-retroviralen Therapie: konvergent versus divergent (A) und zusätzlich differenziert nach dem Apolipoprotein Phänotyp 3/3 versus ‚non 3/3' (B)

A



p=0,673

B



Whitney) bleiben zwar größer als 0,05, ein Trend läßt sich jedoch beschreiben und in den folgenden beiden Graphiken darstellen: die hepatische Lipaseaktivität in der Proteaseinhibitoren beinhaltenden Gruppe ist erniedrigt. Dieser Trend ist nach Ausschluß der Probanden mit einem phänotypischen Apo E non 3/3 deutlicher.

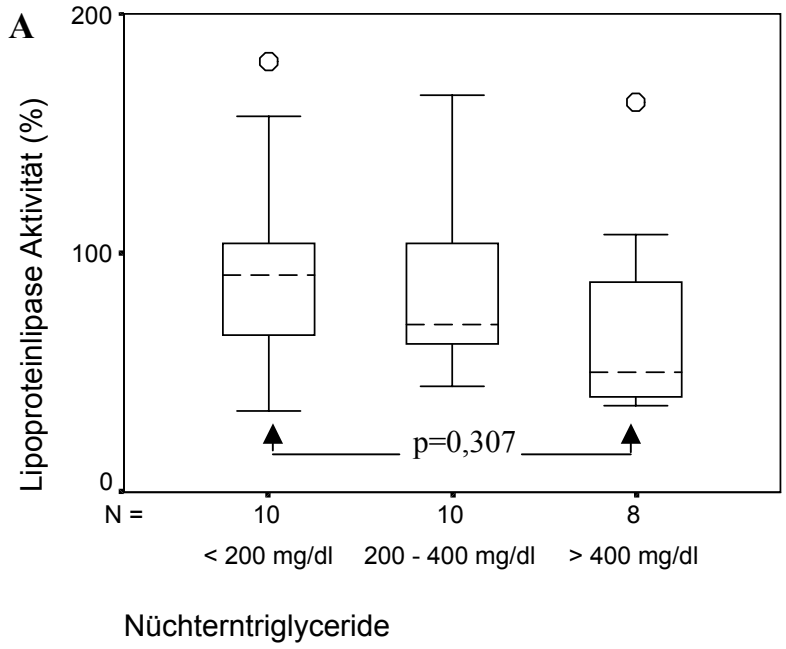
3.4. Nüchterntriglyceride und Lipoprotein- und hepatische Lipase Aktivität

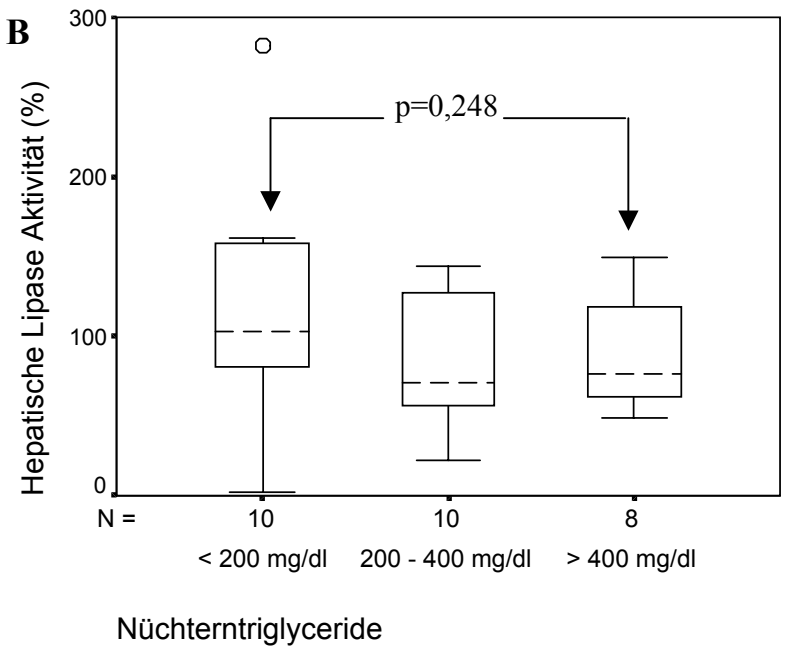
Die Hypothese überprüfend, ob Proteaseinhibitoren einen Einfluß auf die Lipoprotein- oder hepatische Lipase bzw. auf die Triglyceridspiegel haben, werden in diesem Teil lediglich die Probanden, die eine divergente antiretrovirale Therapie erhielten, berücksichtigt (n=28). Die Enzymaktivitäten dieser Probanden wurden in Relation zu den Nüchterntriglyceriden gesetzt. Es ergibt sich ein Zusammenhang, daß bei diesen Probanden, die hohe Nüchterntriglyceridwerte aufweisen jeweils niedrigere Enzymaktivitäten gemessen werden. Die p-values blieben allerdings in einem statistisch nicht signifikanten Bereich, so daß dies nur als Trend gewertet werden kann.

Tabelle 15: Lipoprotein- und hepatische Lipase der Probanden mit einer divergenten antiretroviralen Therapie, differenziert nach der Höhe der Nüchterntriglyceride

Triglyceride		N	Mean + Std.Abw.	Minimum	Maximum
< 200 mg/dl	LpL Aktivität (%)	10	95± 46	34	180
	HL Aktivität (%)	10	115± 75	2	282
	TG (mg/dl)	10	145± 37	77	197
	Chol (mg/dl)	10	247± 62	166	339
200 - 400 mg/dl	LpL Aktivität (%)	10	82± 36	44	166
	HL Aktivität (%)	10	83± 40	22	144
	TG (mg/dl)	10	269± 48	206	370
	Chol (mg/dl)	10	251± 49	183	329
> 400 mg/dl	LpL Aktivität (%)	8	69± 44	36	163
	HL Aktivität (%)	8	89± 38	49	149
	TG (mg/dl)	8	1036±757	418	2448
	Chol (mg/dl)	8	300±121	190	577

Graphik 10: Lipoproteinlipaseaktivitäten (A) und hepatische Lipaseaktivitäten (B) der Probanden unter einer divergenten antiretroviralen Therapie aufgeschlüsselt nach der Höhe der Nüchterntriglyceride





3.5. Korrelation der Cholesterin- und Triglyceridnüchternwerte mit der Dauer der antiretroviralen Therapie

Die an dieser Studie teilnehmenden Probanden haben von einem halben Jahr bis zu 12,7 Jahren unterschiedliche antiretrovirale Medikamentenkombinationen eingenommen. Im Mittel sind dies 5,2 Jahre.

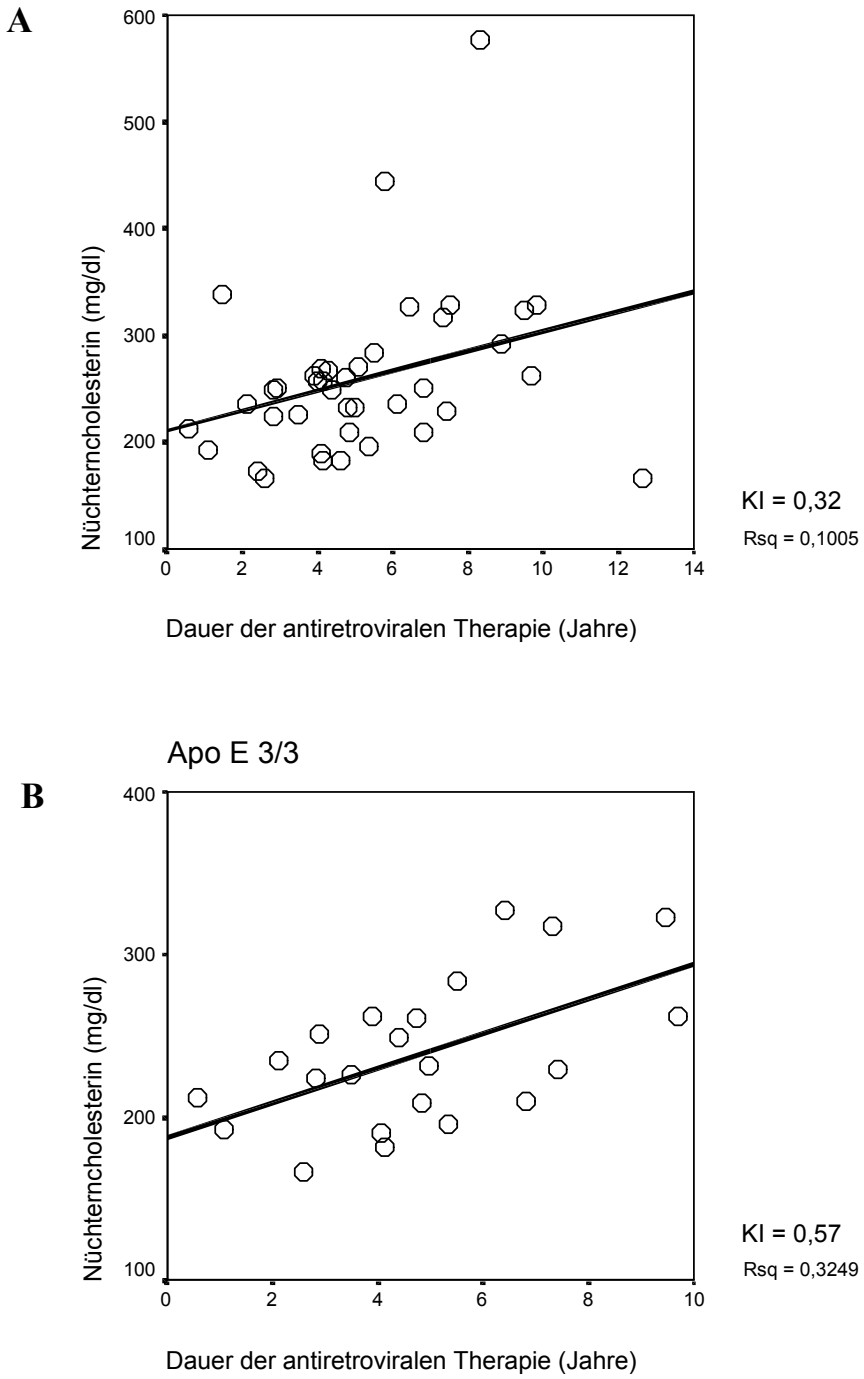
Tabelle 16: Übersicht der Dauer (Jahre) der je eingenommenen antiretroviralen Therapie

	N	Mean	Minimum	Maximum
Dauer der ART (Jahre)	40	5,2	,6	12,7

Im Folgenden werden die Nüchterncholesterinwerte, Nüchterntriglyceridwerte und die Enzymaktivtäten (LpL und HL) im Scatterblot zu der Zeitdauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie in Relation gesetzt.

Für die Nüchterncholesterine läßt sich eine zeitliche Korrelation mit der Dauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie gut erkennen (Korrelationsindex 0,32).

Graphik 11 Korrelation der Dauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie zu den gemessenen Nüchterntriglyceriden



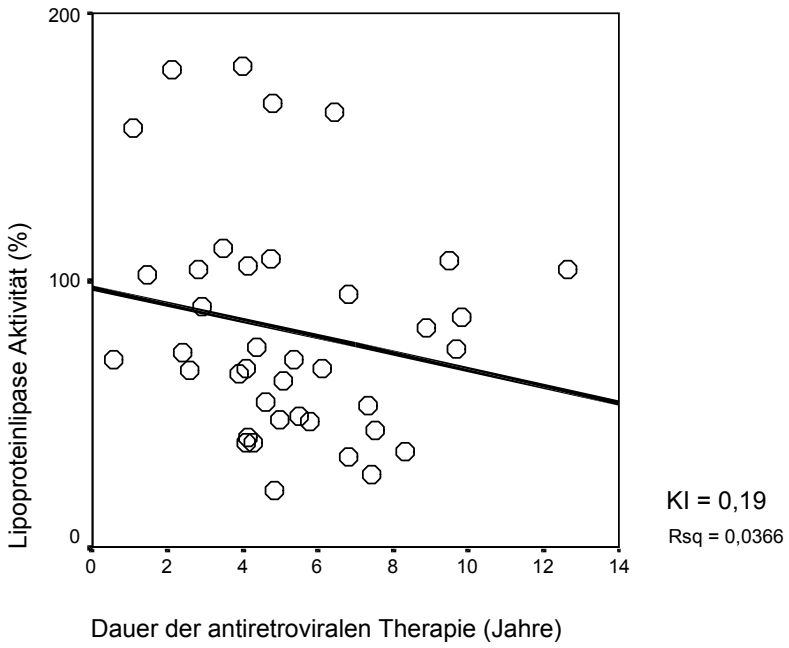
Nach der Herausfilterung derjenigen Nüchterncholesterinwerte von Patienten mit einem Apo E non 3/3 festigt sich die Zunahme dieser Korrelation (Korrelationsindex 0,57), die darauf hinweist, daß mit der zunehmenden Dauer der antiretroviralen Therapie die Cholesterinwerte im Plasma erhöht gemessen werden. Eine Differenzierung der

antiretroviralen Therapie nach einer divergenten oder konvergenten Therapie ist wegen der mannigfaltigen Vorbehandlung der Probanden in diesem Fall nicht möglich.

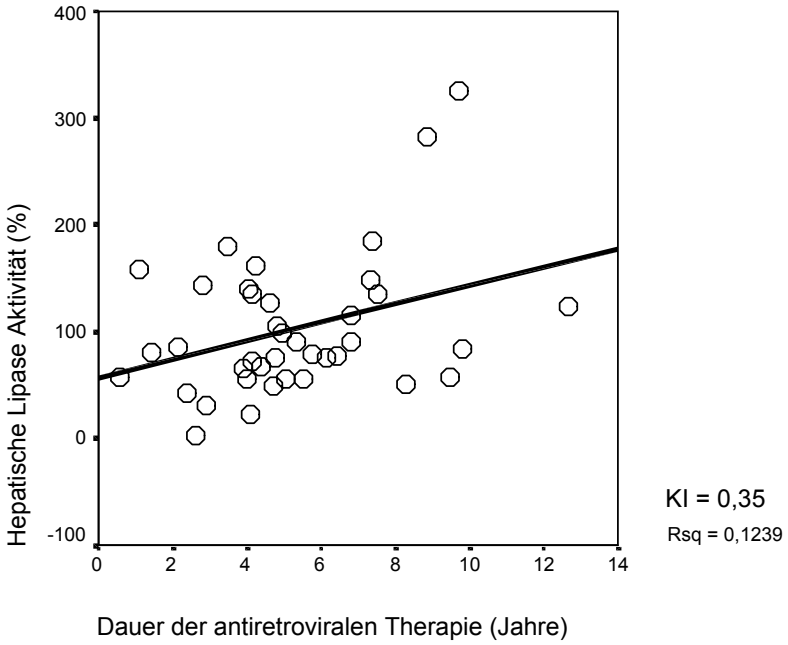
Hier nicht dargestellte Korrelationen der Nüchterntriglyceridwerte zur bekannten Dauer der HIV-Infektion (KI = 0,107) – oder zum höheren Lebensalter (KI = 0,01) – blieben ohne richtungsweisende Trends.

Für die Nüchterntriglyceridwerte ergeben sich in der Gegenüberstellung zur Zeitdauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie, der Dauer der bekannten HIV-Infektion und zum Lebensalter weder in der Gesamtauswertung noch in der Differenzierung nach einem phänotypischen Apo E von 3/3 oder ‚non 3/3' richtungsweisende Relationen. Auf eine graphische Darstellung wurde an dieser Stelle verzichtet. Bezüglich der Lipoproteinlipaseaktivität zeigt sich ein leichter aber statistisch nicht relevanter Trend (KI = 0,19) hin zu einer niedrigeren Aktivität, je länger jeweils eine antiretrovirale Therapie eingenommen wurde. Dieser Trend bestärkt sich in der Betrachtung lediglich der Probanden mit einem phänotypischen Apolipoprotein E von 3/3 auf einen KI von 0,29 (graphisch nicht dargestellt).

Graphik 12: Korrelation der Dauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie zu der gemessenen Lipoproteinlipase Aktivität



Graphik 13: Korrelation der Dauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie zu der gemessenen Lipoproteinlipase Aktivität



Korreliert man dagegen die hepatische Lipase mit der Dauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie (Graphik 13), so ergibt sich ein gegenläufiger Trend verglichen zur Lipoproteinlipase. Nämlich je länger eine antiretrovirale Therapie eingenommen wurde, desto höher wurde die Aktivität gemessen. Die Korrelationsindices für das Gesamtkollektiv (KI = 0,35) und in der Betrachtung lediglich der Probanden mit einem normalen phänotypischen Apolipoprotein E von 3/3 (KI = 0,43) sind deutlich höher als die für die Lipoproteinlipase.

3.6. Fettstoffwechsel und Proteaseinhibitoren

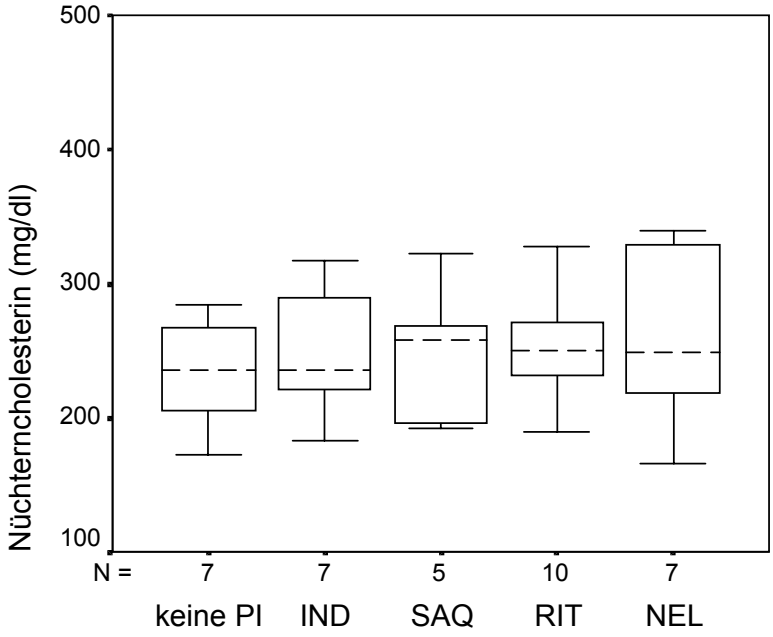
3.6.1 Cholesterin- und Triglyceridwerte, Lipoprotein- und hepatische Lipase Aktivitäten

Unterschieden nach den einzelnen Proteaseinhibitoren (Indinavir, Saquinavir, Ritonavir und Nelfinavir) und der Gruppe von Probanden, die eine proteaseinhibitorenfreie Kombinationstherapie einnahmen werden in den folgenden Auswertungen die Nüchterntriglyceride, -cholesterine und die Lipoprotein- und hepatische Lipase Aktivität dargestellt. Die übrigen antiretroviralen Medikamente die in Addition dazu genommen

wurden bleiben bei dieser Auswertung unberücksichtigt. Wenn Probanden zwei Proteaseinhibitoren einnahmen, so wurden sie in der Proteaseinhibitoren Gruppe berücksichtigt, dessen prozentualer Spiegel in Relation zu Cmax am höchsten war.

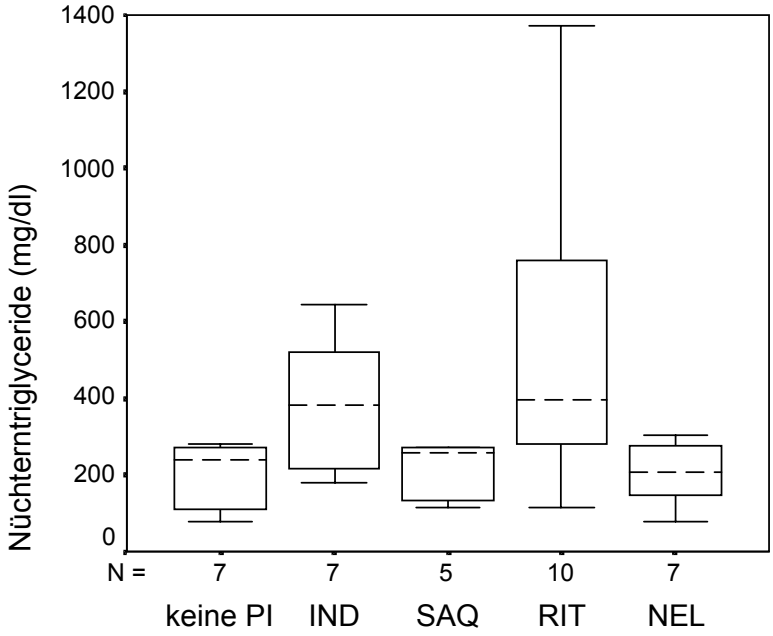
Die Nüchterncholesterine (Graphik 14) sind in allen fünf Gruppen vergleichbar erhöht, die Mittelwerte liegen bei 250mg/dl. Nennbare Differenzen konnten nicht differenziert werden. Insbesondere sind die Nüchterncholesterine der proteaseinhibitorenfreien mit den übrigen proteaseinhibitorenhaltigen Gruppen übereinstimmend. Für eine weitere Differenzierung nach dem Apolipoprotein E ist die Fallzahl zu klein und daher nicht sinnvoll.

Graphik 14: Nüchterncholesterinwerte differenziert nach dem jeweiligen aktuell eingenommenen Proteaseinhibitoren



Anders sieht die Auswertung bezüglich der Nüchterntriglyceride aus. Es ist auffällig, daß insbesondere in der Indinavir- und der Ritonavirgruppe die Nüchterntriglycerid-werte außerordentlich erhöht sind, in den übrigen drei Gruppen die Verteilung der proteaseinhibitorenfreien Gruppe ähnelt. In der Ritonavirgruppe fällt eine enorm große Streubreite (von 117-1374mg/dl) auf.

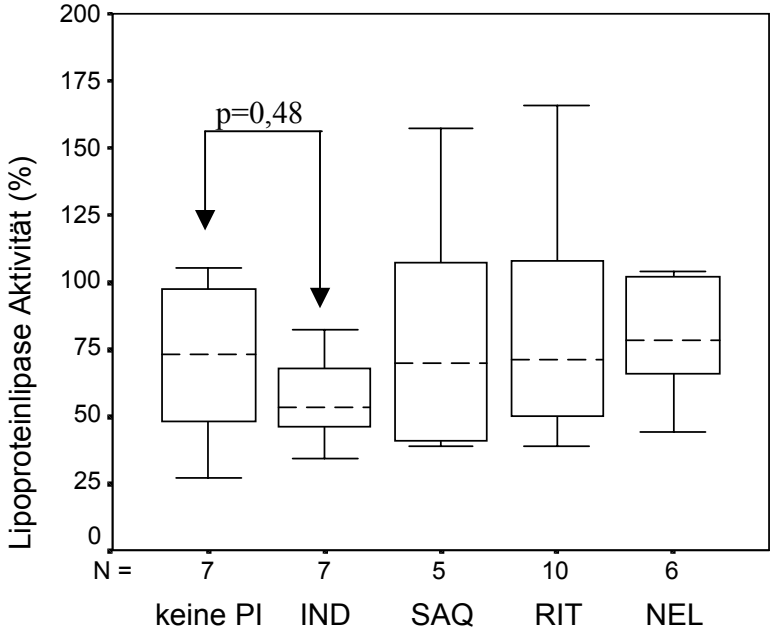
Graphik 15: Nüchterntriglyceridwerte differenziert nach dem jeweiligen aktuell eingenommenen Proteaseinhibitoren



Die Aktivitäten der Lipoproteinlipase (Graphik 16A) fallen allesamt niedrig aus. Lediglich in der Indinavirgruppe ist sie überproportional erniedrigt (60%). Eine

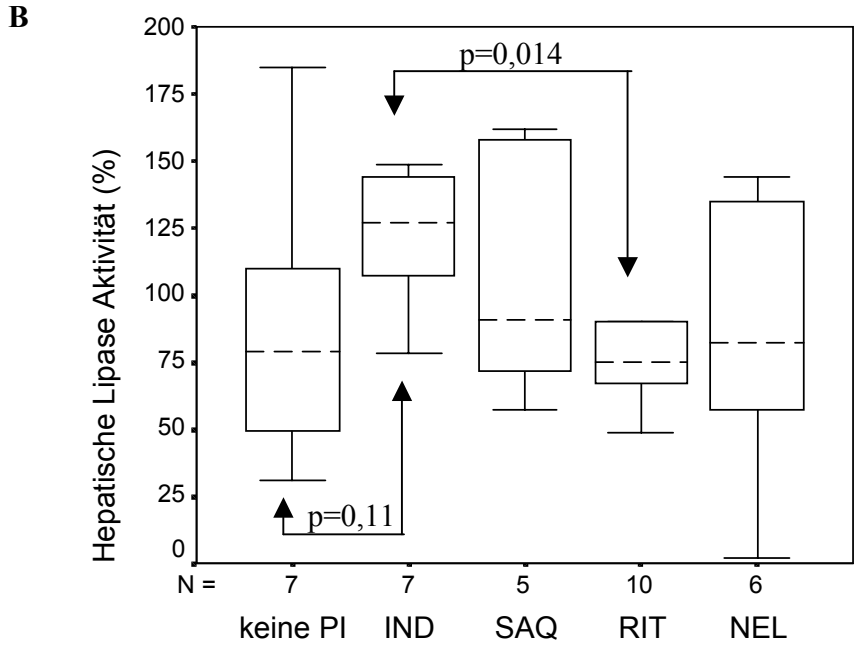
Graphik 16: Lipoproteinlipase (A) und hepatische Lipase (B) Aktivitäten differenziert nach den jeweiligen aktuell eingenommenen Proteaseinhibitoren

A



statistische Signifikanz im Vergleich zur Kontrollgruppe (ohne Proteaseinhibitoreneinnahme) ließ sich jedoch nicht berechnen (p=0,48).

In Bezug auf die hepatische Lipaseaktivität (Graphik 16B) fällt erneut insbesondere für die Indinavirgruppe eine Sonderrolle auf; während die Medianwerte (gestrichelte Balken) der Kontrollgruppe und der übrigen Gruppen zwischen 75 und 91% liegen, die Mittelwerte zwischen 83 und 108%, fällt die Indinavirgruppe mit einem Medianwert von 127% und einem Mittelwert von 141% auf. Im Vergleich zur Kontrollgruppe ist diese Differenz noch nicht statistisch signifikant (p=0,11).



3.6.2. Lipoprotein-, hepatische Lipase und Proteaseinhibitoren-Spiegel - nicht differenziert nach den einzelnen Substanzen

In diesem Kapitel werden die gemessenen Medikamentenspiegel in Relation zu den Aktivitätsmessungen der Lipoproteinlipase und der hepatische Lipase gesetzt. Zuerst erfolgt anhand des Cmax-Spiegels der unterschiedlichen Proteaseinhibitoren (Indinavir: 7700 ng/ml, Saquinavir: 2181 ng/ml, Ritonavir: 11200 ng/ml, Nelfinavir: 3500 ng/ml) die Untersuchung auf einen möglicherweise bestehenden Einfluß auf die Enzymaktivitäten der Lipoproteinlipase und der hepatische Lipase.

In den weiteren Abschnitten dieses Kapitels werden die Medikamentenspiegel aufgeteilt nach den einzelnen Substanzen jeweils in Beziehung zu diesen beiden Enzymen gesetzt.

Lipoproteinlipase Aktivität und PI-Spiegel

28 Probanden mit einer aktuell eingenommenen divergenten antiretroviralen Therapie werden 7 Probanden mit einer konvergenten antiretroviralen Therapie gegenübergestellt. Die 28 Probanden wurden nach den ermittelten Cmax-Bestimmungen ihrer Proteaseinhibitorenspiegel in die Gruppen A bis C verteilt. 7 Probanden mit einem gemessenen Spiegel von <5% des Cmax-Spiegel wurden der Gruppe A zugeteilt. 10 Probanden mit einem Cmax-Spiegel von 5 – 45% der Gruppe B und die 11 Probanden mit einem Cmax-Spiegel von >45% der Gruppe C. Die Gruppe D umfaßt die 7 Probanden mit der konvergenten (also proteaseinhibitorenfreien) Therapie.

In der Gruppe A wurde die Lipoproteinlipase lediglich in einer verminderten Aktivität gemessen (Mittelwert 69%, Median 50%). In der Gruppe B liegt der Mittelwert der Lipoproteinlipase-Aktivität bei 75% und der mediane Wert bei 65%. In der Gruppe C, in der die höchsten Medikamentenspiegel ermittelt wurden, ist auch die Lipoproteinlipase-Aktivität im Mittel bei 85% und im Median bei 75% - also höher als in den beiden

Tabelle 17: Lipoproteinlipaseaktivitäten differenziert nach den gemessenen Medikamentenspiegeln (in Relation zu Cmax) der unterschiedlichen Proteaseinhibitoren

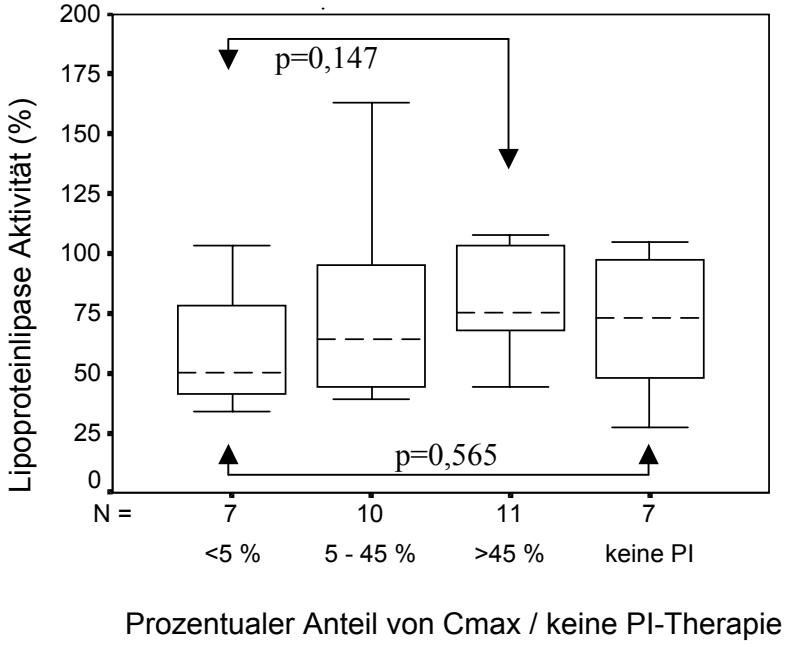
Cmax Anteil/Gruppe		N	Mean + Std.Abw.	Median	Minimum	Maximum
<5 % **A**	Lipoproteinlipase Aktivität (%)	7	69±45	50	34	157
5 - 45 % **B**	Lipoproteinlipase Aktivität (%)	10	75±39	65	39	163
>45 % **C**	Lipoproteinlipase Aktivität (%)	11	85±34	75	44	166
keine PI **D**	Lipoproteinlipase Aktivität (%)	7	81±51	73	27	179

vorherigen Gruppen – gemessen worden. Die Gruppe D, in der diejenigen Probanden zusammengefaßt wurden, die zwar eine antiretrovirale Therapie erhielten, jedoch ohne Proteaseinhibitoren, wies Aktivitätswerte der Lipoproteinlipase auf, die am ehesten der Gruppe C ähnelten, der Mittelwert liegt bei 81% - der Median bei 73%. Die statistische

Auswertung mit dem Mann-Whitney U Test ergibt einen p-value von 0,147 unter den Gruppen A und C, sowie 0,565 unter den Gruppen A und D.

Diese Ergebnisse legen nahe, daß ein suboptimaler Medikamentenspiegel einen negativen Einfluß auf die Lipoproteinlipase-Aktivität haben könnte. Bei guten Wirkstoffspiegeln wiederum die Aktivität der Lipoproteinlipase ansteigt.

Graphik 17: Lipoproteinlipase Aktivitäten in Relation zu den Medikamentenspiegeln (Prozentualer Anteil von Cmax)



Einschränkend muß hierzu angemerkt werden, daß die Gruppe der Probanden, die eine divergente antiretrovirale Therapie einnimmt in dem Sinne eine heterogene Gruppe ist, als das sie vier unterschiedliche Proteaseinhibitoren einnehmen, die – wenn sie den hier hypothetisierten Einfluß auf die Lipoproteinlipase denn hätten, dieser recht unterschiedlich ausfallen könnte. Daher wird in dem folgenden Abschnitt (Kapitel 3.6.3) dieser mögliche Einfluß differenziert nach den einzelnen Proteaseinhibitoren untersucht werden.

Hepatische Lipaseaktivität und PI- Spiegel

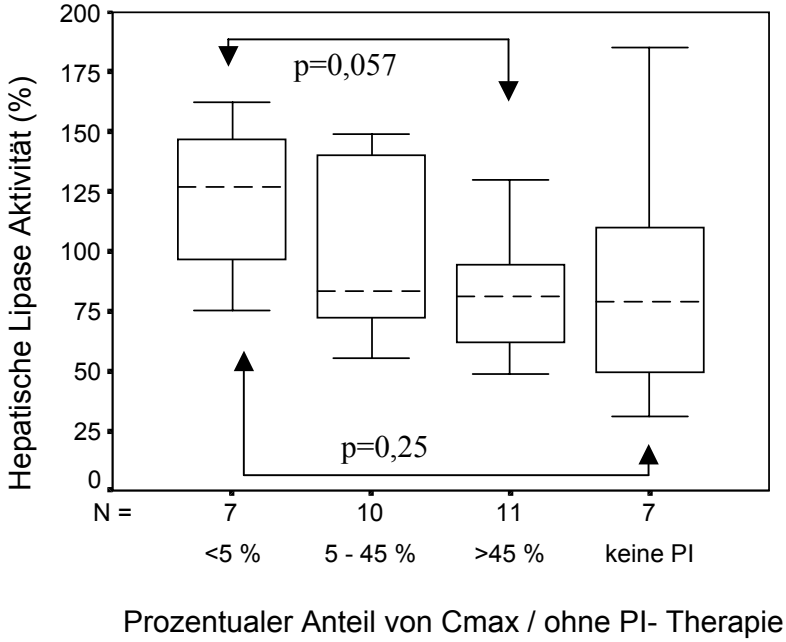
Die hepatische Lipaseaktivität der Gruppe A liegt im Median deutlich über den Enzym-Aktivitäten der anderen Gruppen B bis D. Setzt man diese Gruppe A mit der Kontroll-

gruppe D in Relation, errechnet sich nach dem Mann-Whitney U Test ein p-value von 0,25. Die Korrelation der Gruppen A und C, also der Gruppen mit den jeweils höchsten

Tabelle 18: Hepatische Lipaseaktivitäten differenziert nach den gemessenen Medikamentenspiegeln (in Relation zu Cmax) der unterschiedlichen Proteaseinhibitoren

Cmax Anteil			N	Mean + Std.Abw.	Median	Minimum	Maximum
<5 %	A	Hepatische Lipase Aktivität (%)	7	122±35	127	75	162
5 - 45 %	B	Hepatische Lipase Aktivität (%)	10	114±69	84	55	282
>45%	C	Hepatische Lipase Aktivität (%)	11	80±38	81	2	144
keine PI	D	Hepatische Lipase Aktivität (%)	7	88±55	79	31	185

Graphik 18: Hepatische Lipaseaktivitäten in Relation zu den Medikamentenspiegeln (Prozentualer Anteil von Cmax)



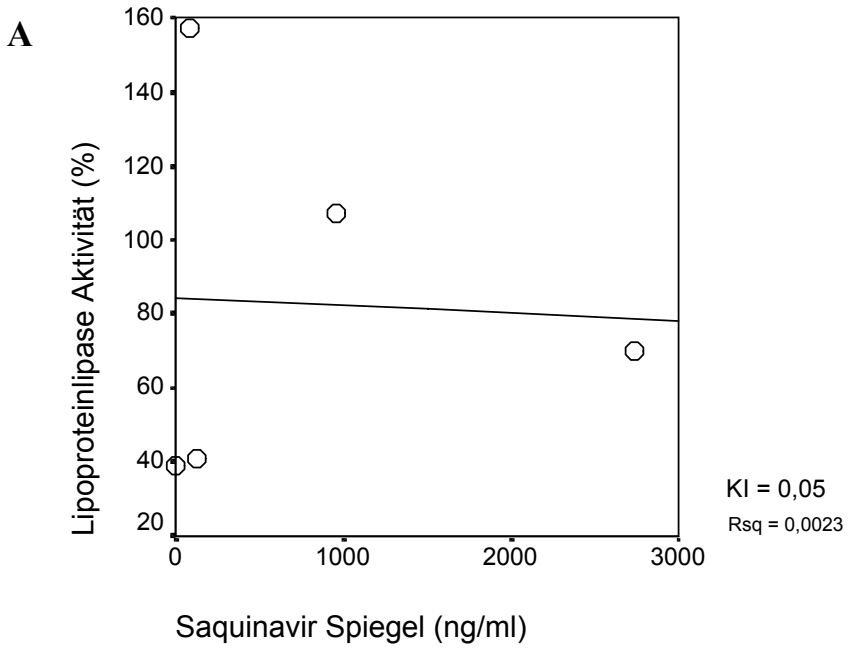
und niedrigsten Medikamentenspiegeln, ergibt einen deutlicheren Trend (p=0,057): Mit den höheren Medikamentenspiegeln nimmt die Aktivität der hepatische Lipase ab. Die Gruppe C, die die höchsten Medikamentenspiegel aufweist, ähnelt allerdings am ehesten dem Aktivitätsprofil der Gruppe D (keine PI-Therapie).

3.6.3 Lipoprotein-, hepatische Lipase und Medikamentenspiegel – differenziert nach den einzelnen Proteaseinhibitoren

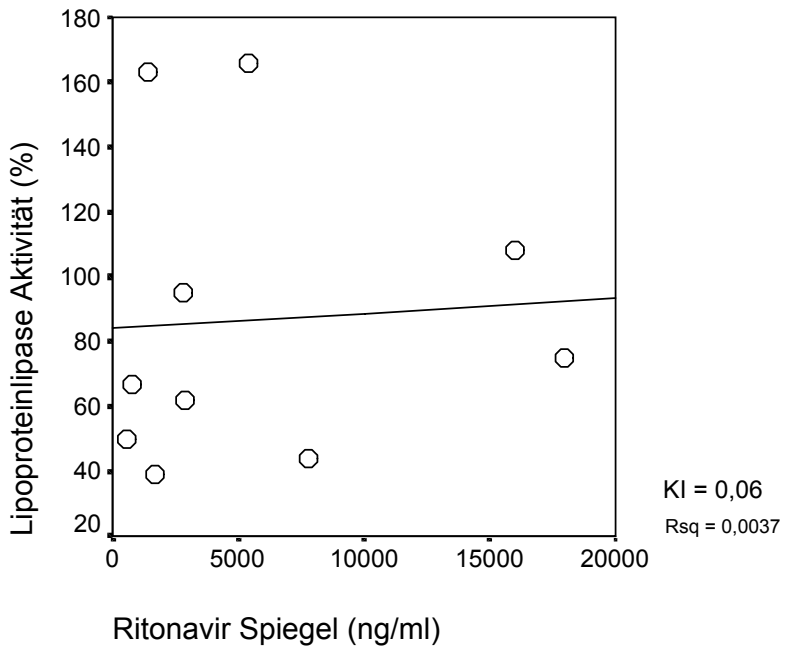
Setzt man die Medikamentenspiegel der einzelnen Proteaseinhibitoren in Relation zu den jeweiligen Enzymaktivitäten der Lipoproteinlipase, so ergibt sich ein sehr unterschiedliches Bild:

- für die Saquinavir- und Ritonavirspiegel ergeben sich keine Korrelationen (KI=0,05 bzw. 0,06)
- auch für das Indinavir zeigt sich kein zuverlässig verwertbarer Trend, eine Tendenz geht in die Richtung, daß ein höherer Spiegel zu einer Erniedrigung der Aktivität führen könnte (KI= 0,26)
- lediglich für das Nelfinavir zeigt sich ein stabilerer Trend, ebenfalls hin zu einer Erniedrigung der Lipoproteinlipase Aktivität bei höheren Spiegeln (KI=0,49). Allerdings wurde ein Ausreißerwert aus dieser Analyse herausgenommen. Der Proband 13 hatte lediglich einen sehr niedrigen Nelfinavirspiegel von 25ng/ml.

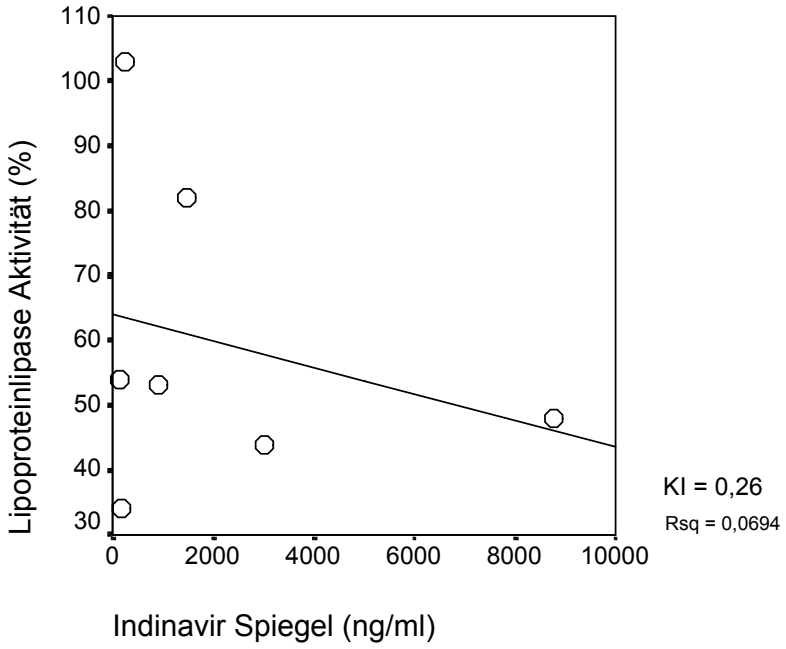
Graphik 19 A-D: Lipoproteinlipase Aktivitäten in Korrelation zu den Medikamentenspiegeln der einzelnen Proteaseinhibitoren (wie aufgelistet)

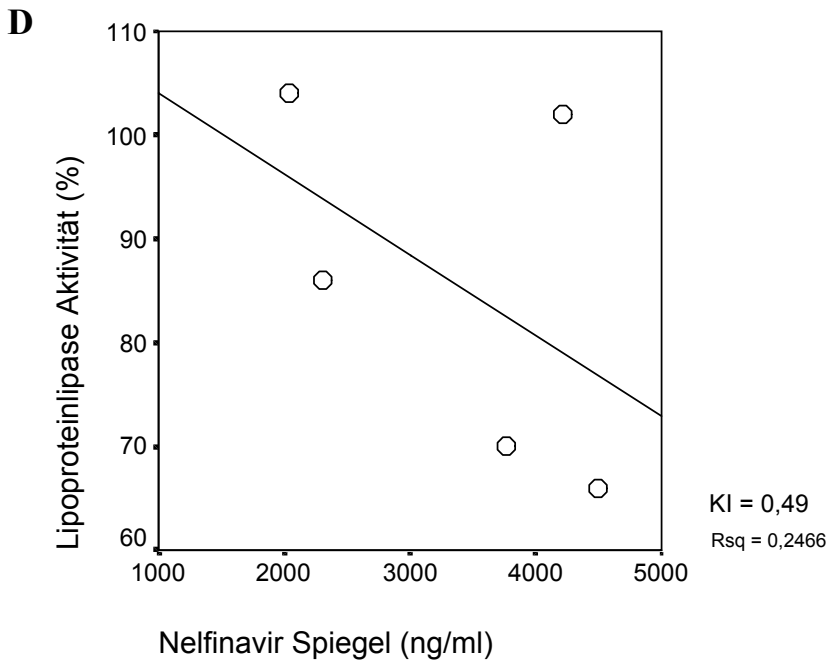


B


180
160
140
120
100
80
60
40
20
Lipoproteinlipase Aktivität (%)
0
5000
10000
15000
20000
Ritonavir Spiegel (ng/ml)
KI = 0,06
Rsq = 0,0037

C

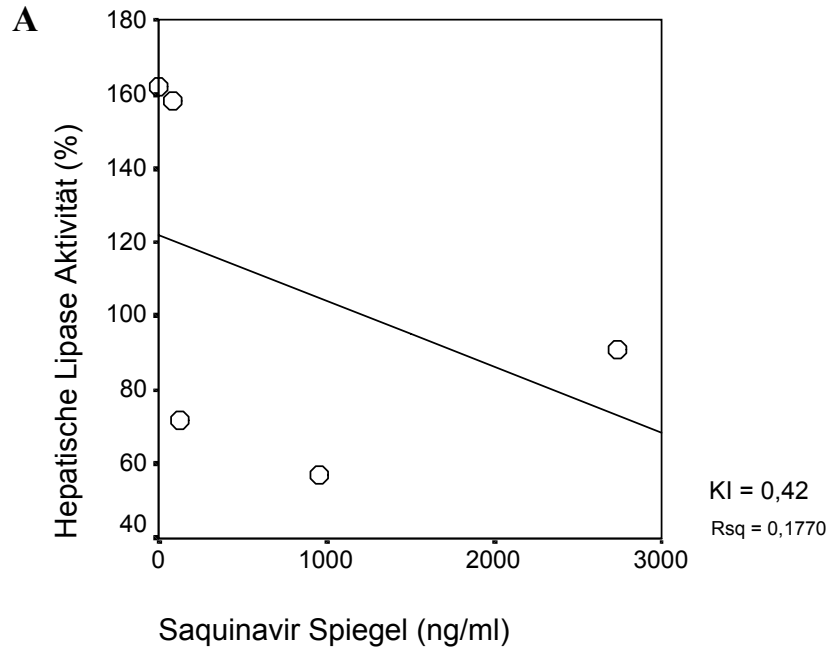

110
100
90
80
70
60
50
40
30
Lipoproteinlipase Aktivität (%)
0
2000
4000
6000
8000
10000
Indinavir Spiegel (ng/ml)
KI = 0,26
Rsq = 0,0694



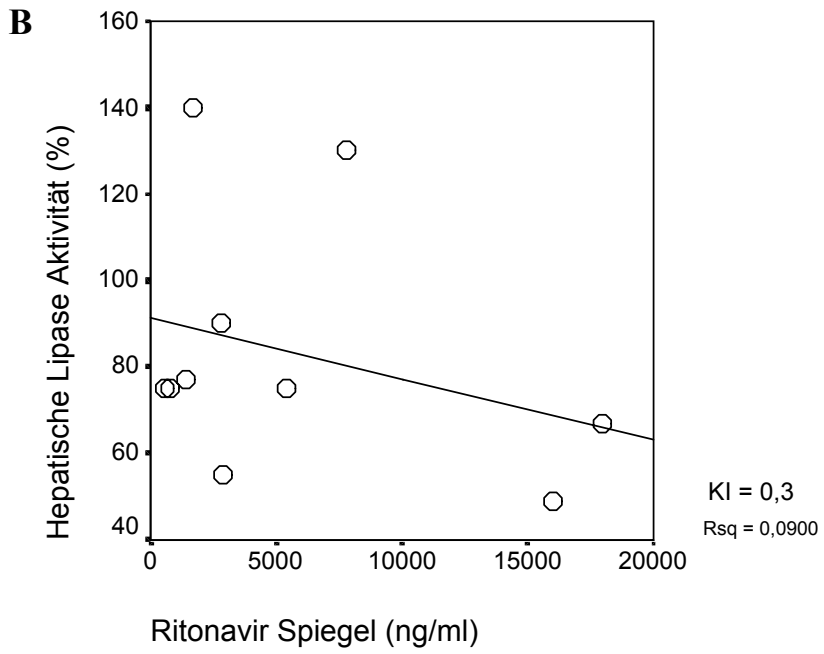
Die hepatische Lipaseaktivität unterschieden nach der Einnahme von Proteaseinhibitoren in Abhängigkeit zu den Medikamentenspiegeln:

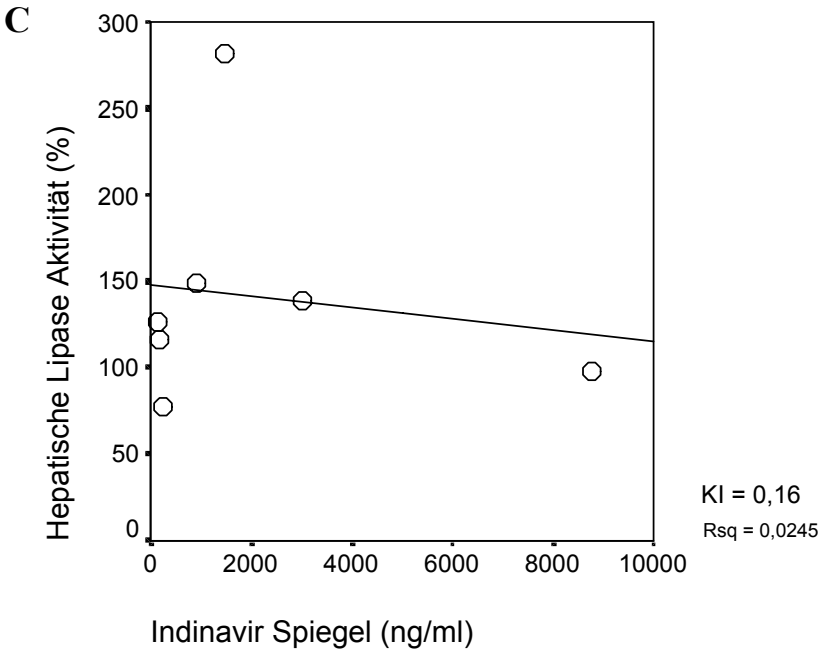
- ergibt für Saquinavir (KI=0,42), Ritonavir (KI=0,3) und Nelfinavir (KI=0,8) einen Trend hin zu einer Erniedrigung der Aktivität bei höheren Spiegeln

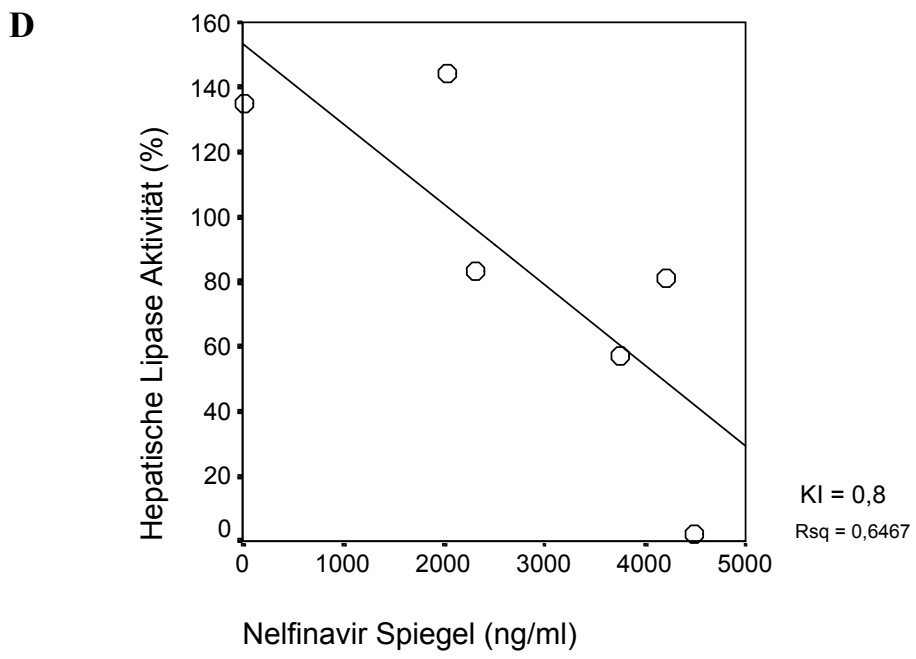
Graphik 20 A-D: Hepatische Lipaseaktivitäten in Korrelation zu den Medikamentenspiegeln der einzelnen Proteaseinhibitoren (wie aufgelistet)



- für Indinavir zeigt sich kein tragfähiger Trend, im niedrigen Spiegelbereich werden sowohl hohe wie auch niedrige Enzymaktivitäten gemessen. Im hohen Spiegelbereich bleiben die Enzymaktivitäten unauffällig, entsprechend ist der Korrelationskoeffizient lediglich 0,16.







3.7. Intraindividuelle Verlaufsbeobachtung der Lipoproteinlipase und der hepatische Lipase

Bei fünf Patienten wurden die Lipoprotein- und die hepatische Lipaseaktivität erst unter der Einnahme eines Proteaseinhibitoren (divergente antiretrovirale Therapie) und dann im Verlauf erneut nach einer mindestens sechsmonatigen proteaseinhibitorenfreien (konvergenten) antiretroviralen Therapie gemessen.

Tabelle 19: Therapieregime der fünf Probanden (*kursiv*=Proteaseinhibitoren)

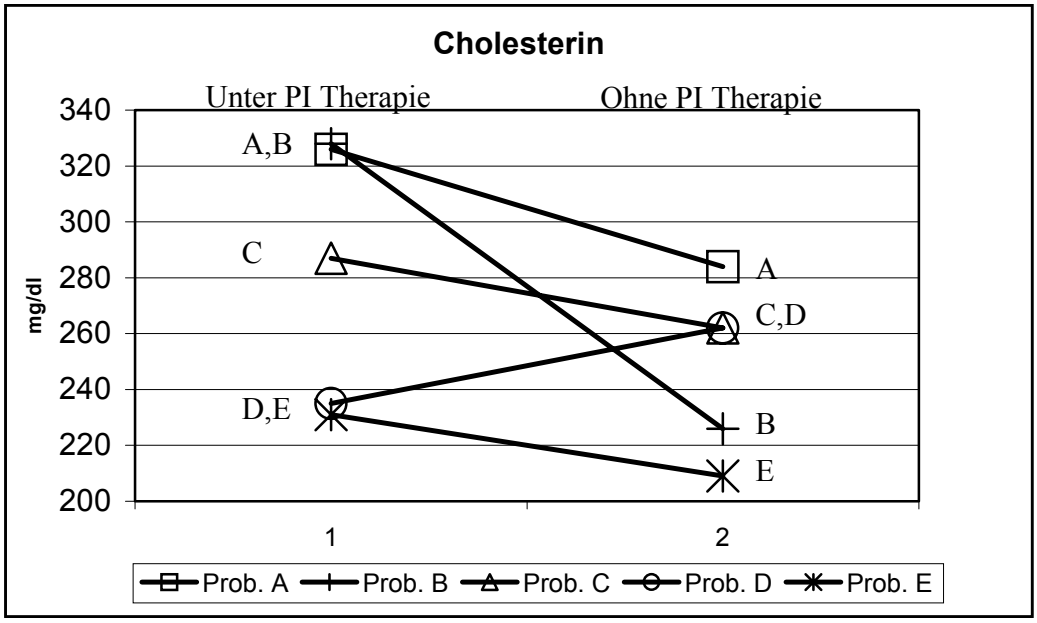
A	*Indinavir*+ Ritonavir+Zidovudin+Lamivudin+Abacavir ➔ Zidovudin+Lamivudin+Abacavir+Efavirenz
B	*Saquinavir*+*Ritonavir*+Zidovudin+Didanosin+Efavirenz ➔ Zidovudin+Lamivudin+Abacavir+Efavirenz
C	*Indinavir*+ Zidovudin+Didanosin+Efavirenz ➔ Zidovudin+Lamivudin+Abacavir+Efavirenz
D	*Indinavir*+Zidovudin+Lamivudin+Efavirenz ➔ Zidovudin+Lamivudin+Abacavir+Efavirenz
E	*Saquinavir*+*Ritonavir*+Stavudin+Didanosin+Abacavir ➔ Zerit+Didanosin+Abacavir+Efavirenz

3.7.1 Cholesterin- und Triglyceridwerte

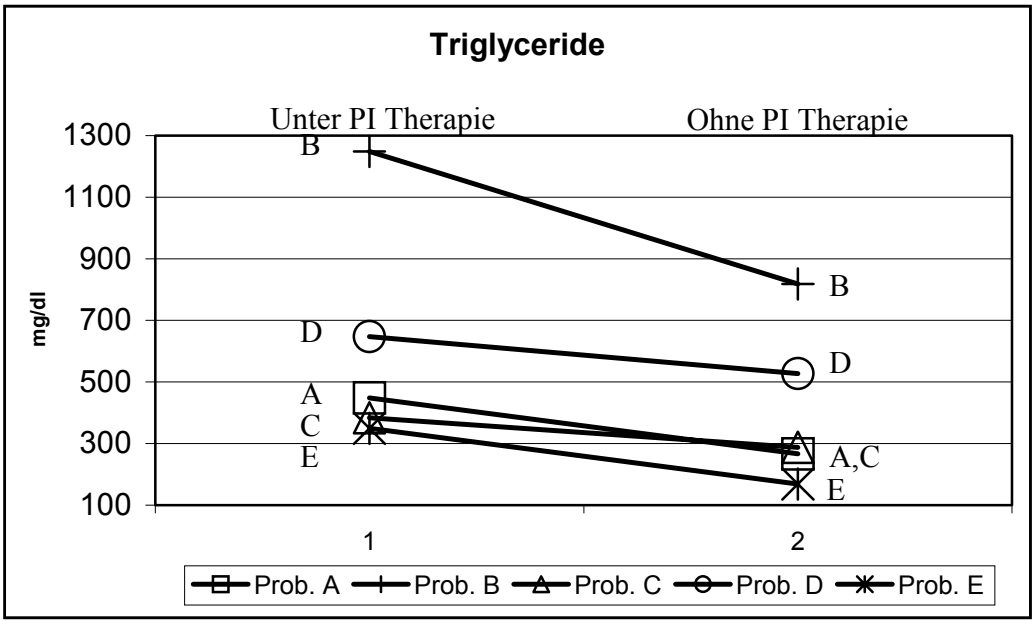
Die Gesamtcholesterinwerte aller Patienten sind unter dem divergenten Therapieregime erhöht (231 – 328mg/dl – Mittelwert: 281). Nach dem Wechsel zu der konvergenten Therapie werden im Mittel um 12 % niedrigere Cholesterinwerte (209 – 284 mg/dl –

Mittelwert 249) gemessen. Bis auf einen der Probanden (D) erniedrigen sich die Cholesterinwerte im Verlauf.

Graphik 21: Verlauf der Nüchterncholesterinwerte nach dem Switch zu einem proteaseinhibitorenfreien Therapieregime



Graphik 22: Verlauf der Nüchterntriglyceridwerte nach dem Switch zu einem proteaseinhibitorenfreien Therapieregime

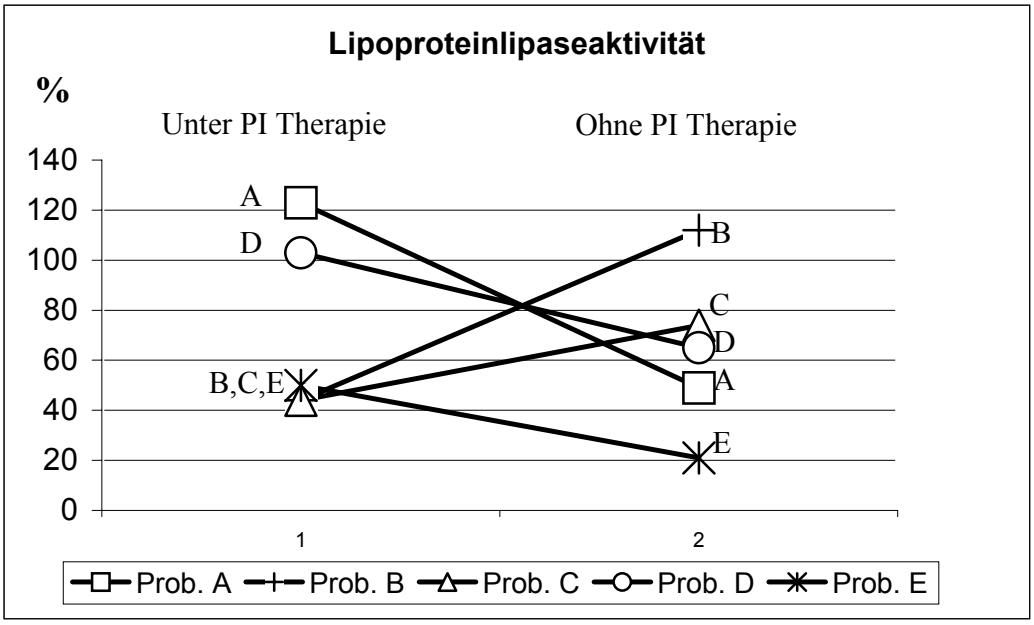


Bei der Analyse der Triglyceridwerte zu dem Zeitpunkt der divergenten Therapie werden bei allen Probanden erhöhte Nüchternwerte gemessen (349 - 1248 mg/dl; Mittelwert 615,2). Im Verlauf nach der Umstellung auf eine konvergente Therapie sind die Werte im Mittel um 33% niedriger (169 – 818 mg/dl; Mittelwert 413,8). Jedoch lediglich bei einem Probanden (E) ist der Nüchterntriglyceridwert im Verlauf im Normbereich (349 -> 169 mg/dl). Bei allen Probanden erniedrigen sich die Nüchterntriglyceridwerte lediglich auf weiterhin erhöht Parameter (>250mg/dl).

3.7.2 Lipoproteinlipase

Die Lipoproteinlipase-Aktivitäten der fünf Probanden lagen in einem Bereich von 44 – 123 % bei den Probanden, die eine divergente Therapie erhielten. Drei von ihnen erhielten als Proteaseinhibitor Indinavir und die übrigen zwei Saquinavir. Jeweils einer der drei bzw. zwei Probanden erhielt Ritonavir als zweiten Proteaseinhibitor zur Boosterung. Nach der Umstellung der Therapie auf ein proteaseinhibitorenfreies Regime betrug die Spanne der Lipoproteinlipase-Aktivität 21- 112 %.

Graphik 23: Verlauf der Lipoproteinlipaseaktivität nach dem Switch zu einem proteaseinhibitorenfreien Therapieregime



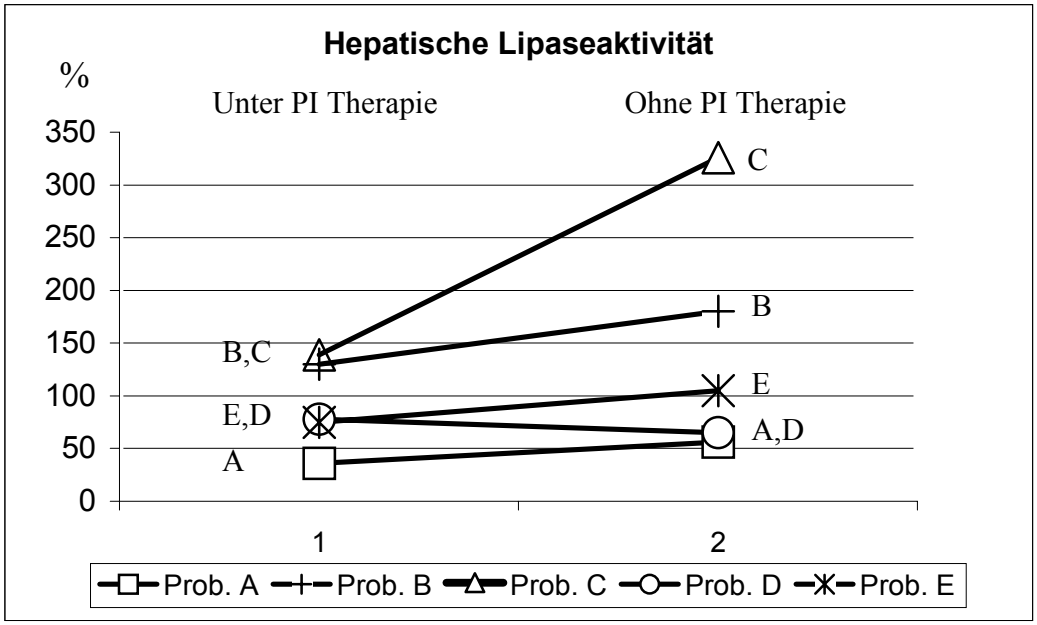
Bei den Probanden A, D und E erniedrigte sich die Lipoproteinlipase-Aktivität, bei den Probanden B und C stieg sie im Vergleich zu der ersten Bestimmung an. Im Mittelwert

war die Lipoproteinlipase-Aktivität zu beiden Zeitpunkten im niedrigen Bereich (72,8% → 64,2%). Einen Einfluß der Proteaseinhibitorentherapie auf die Lipoproteinlipase-Aktivität ließ sich anhand dieser Auswertung nicht erkennen.

3.7.3 Hepatische Lipase

Die Schwankung der hepatische Lipaseaktivität lag zwischen 36 und 139% (Mittelwert 91,6%) unter der divergenten und zwischen 56 und 326 % (Mittelwert 146,4) unter der konvergenten Therapie. Der Proband C wies insbesondere unter dem proteaseinhibitorenfreien Therapieregime eine extraorbitante hepatische Lipaseaktivität von 326% auf. Extrahiert man die Daten dieses Probanden C, bleiben die Werte im Bereich 36 – 130% (Mittelwert 79,7) bzw. zwischen 56 und 180% (Mittelwert 101,5) im Verlauf. Lediglich bei einem Probanden (D) verringerte sich die hepatische Lipaseaktivität unter dem PI-freien Regime. Bei den übrigen 4 Probanden erhöhte sie sich. Bezüglich der hepatischen Lipaseaktivität ergibt sich demnach ein leichter Trend hin zu einer Normalisierung, nachdem sie unter der ersten divergenten Kombinationstherapie supprimiert erschien. Aufgrund der geringen Fallzahl läßt sich jedoch keine validere Aussage treffen.

Graphik 24: Verlauf der hepatischen Lipaseaktivität nach dem Switch zu einem proteaseinhibitorenfreien Therapieregime



.

Im intraindividuellen Vergleich der fünf Probanden erst unter der divergenten, dann unter der konvergenten Therapie ergeben sich eindeutige Resultate bezüglich der Entwicklung der metabolischen Stoffwechselabnormitäten. Sowohl die Nüchterntriglycerid- als auch die –cholesterinwerte verringern sich im Verlauf. Dagegen sind die Veränderung der Lipoproteinlipase-Aktivität und der hepatische Lipaseaktivität recht heterogen. Eine Tendenz in die eine oder andere Richtung läßt sich anhand dieser Daten und der geringen Fallzahl nicht benennen.

E Diskussion

4. Diskussion der Ergebnisse

4.1 Lipidprofil

4.1.1 Lipide

Die in dieser Auswertung berücksichtigten Probanden sind in Bezug auf eine Hypertriglyceridämie, Hypercholesterinämie oder morphologische Veränderungen entsprechend der Einschlußkriterien vorselektioniert. Folglich wurden beim Gesamtkollektiv erhöhte Lipide (Triglyceride, Cholesterine (gesamt, LDL-Cholesterin), Lipoprotein (a), Apoprotein B) gemessen. Das HDL-Cholesterin und das Apoprotein A-I dagegen sind in den Mittelwerten erniedrigt gemessen worden, so daß das Gesamtkollektiv erwartungsgemäß Anomalien des Fettstoffwechsels aufweist, was den untersuchten Kollektiven mit Fettstoffwechselstörungen entspricht (Carr 1998a, Carr 1998b, Bonnet 1998, Bernasconi 1998, Pedneault 1999, Pollner 1998, Roge 1999).

In der Gegenüberstellung der Nüchterncholesterine und -triglyceride ergeben sich in der Gesamtbetrachtung keine Differenzen in den Mittelwerten zwischen den Probanden mit einer konvergenten (k) bzw. einer divergenten (d) Therapie. {Nüchterntriglyceride 471 (k) ⇔ 460 mg/dl (d); Nüchterncholesterine 251mg/dl (k) ⇔ 262mg/dl (d)}. Sowohl für die Triglyceridwerte als auch für die Cholesterine wurden in dieser Auswertung also einerseits höhere Mittelwerte gemessen, andererseits keine Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven mit und ohne Proteaseinhibitoren gefunden. Nach Herausnahme derjenigen Probanden mit einem Apolipoprotein E ‚non 3/3' ergibt sich für die Nüchterntriglyceride folgende Differenz: 312mg/dl (k) ⇔ 452mg/dl (d), wogegen die Nüchterncholesterine weiterhin vergleichbar bleiben: 237,8mg/dl (k) ⇔ 238,4mg/dl (d). Die Nüchterntriglyceride sind in dem divergenten- in Relation zu dem konvergenten Therapiearm in der Betrachtung der Probanden mit einem vergleichbaren Apolipoprotein E von 3/3 erhöht, so daß diese Daten das vermehrte Auftreten einer Hypertriglyceridämie bei Einnahme eines Proteaseinhibitoren im Vergleich zu einer proteaseinhibitorenfreien

Therapie bestätigen. Für die Cholesterine ließ sich zwischen dem proteaseinhibitoren-freien und –haltigen Arm keine Differenz ermitteln.

In der Studie von Purnell (Purnell 2000) wurden bei HIV-negativen Probanden nach 14tägiger Ritonavireinnahme als Monosubstanz bereits Anstiege des Mittelwertes der Nüchterncholesterine von 169 auf 208 mg/dl und der Nüchterntriglyceride von 109 auf 270mg/dl gemessen. So daß ein direkter Einfluß des Proteaseinhibitoren Ritonavir auf den Fettstoffwechsel angenommen werden kann.

Die Arbeisgruppe von Mustafa Noor (2001) hat ebenfalls HIV-negative Probanden (n=10) untersucht und ihnen 2x800mg/d Indinavir über 4 Wochen verabreicht. Im Verlauf wurden unter anderem das Nüchterncholesterin$^{\alpha}$ und die –triglyceride$^{\beta}$ untersucht. Leichte Anstiege wurden gemessen ($^{\alpha}$181,7 → 197,2 [p=0,16]; $^{\beta}$124 → 150,6 mg/dl [p=0,22]), die sich aber nicht als statistisch signifikant erwiesen, sondern nur einen Trend aufzeigen konnten. Anzumerken ist zu dieser Auswertung neben der recht kleinen Teilnehmerzahl von n=10, daß die gegebene Indinavirdosis nicht der üblichen therapeutischen Dosis zur Behandlung einer HIV-Infektion entspricht (3x800mg oder 2x800mg in Verbindung mit 2x100mg Norvir), so daß die erreichten Indinavirspiegel, die nicht gemessen wurden, nicht den üblichen virussupprimierenden Spiegeln entsprechen dürften. Trotzdem wurden leichte Zunahmen der Nüchterncholesterine und –triglyceride gemessen, was gegen einen neutralen Einfluß des Indinavir auf den Fettstoffwechsel spricht. Ob ein ausreichender Einfluß zur Erklärung der Dyslipidämien im Rahmen des HALS durch die Proteaseinhibitoren besteht, kann hieraus nicht geschlossen werden.

Metabolische und morphologische Alterationen treten in der Unterauswertung zu metabolischen Komplikationen der APROCO (Antiprotease Cohorte) Studie insbesondere 12 Monate nach dem Beginn einer Proteaseinhibitoren beeinhaltenden Therapie auf und sind entsprechend assoziiert mit diesen Medikamenten (Savès 2002).

Die Auswertung des Kollektives der Lipoco Studie (Saint-Marc 2000) ist unter anderem wie in dieser Auswertung, differenziert nach einer Gruppe von Probanden, die eine konvergente (k) und eine die eine divergente (d) antiretrovirale Therapie einnimmt. Die

Mittelwerte der Nüchterntriglyceridwerte (173mg/dl (k) und mit 273mg/dl (d)) und die der Nüchterncholesterine (188mg/dl (k) und 230mg/dl (d)) sind im Durchschnitt niedriger gemessen worden als in unserem Kollektiv. Sowohl für die Triglycerid- als auch für die Cholesterinwerte wurden in unserer Auswertung also einerseits höhere Mittelwerte gemessen, andererseits wurden die signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven mit und ohne Proteaseinhibitoren für das Gesamtkollektiv nicht gefunden. Anders als in der Lipocostudie erfolgte in unserer Auswertung eine weitere Differenzierung nach einem phänotypischen Apo E von 3/3 und non 3/3. Erst in dieser weiteren Analyse ergeben sich sich für die Nüchterntriglyceride eine der Lipocostudie entsprechende Differenz.

Gervasoni (Gervasoni 1999) hat eine Korrelation zwischen der Dauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie und dem Auftreten eines HALS in derselben Arbeit beschrieben. Im Kapitel 3.5 unserer Untersuchung konnte bezüglich des Cholesterin eine Korrelation zwischen der Dauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie und der Höhe des Cholesterin ebenfalls ermittelt werden, die in der Gesamtbetrachtung einen Korrelationsindex von 0,32 hat. Nach Ausschluß der Probanden mit einem phänotypischen Apolipoprotein E ‚non 3/3' erhöht sich der Korrelationsindex auf 0,57 und erhärtet somit diesen Zusammenhang. Für die Triglyceride konnte kein richtungsweisender Korrelationsindex errechnet werden.

Die Dauer der antiretroviralen Therapie ist demnach in unserem Kollektiv, insbesondere bei dem Teil mit einem Apolipoprotein E Phänotyp von 3/3, deutlich vergesellschaftetet mit der Zunahme einer Hypercholesterinämie.

4.1.2 Apolipoprotein E

Nur sehr wenige wissenschaftliche Arbeiten beschäftigten sich mit der Verknüpfung des Apolipoprotein E mit den metabolischen Veränderungen bei HIV-positiven Patienten. Die Prävalenz eines phänotypischen Apolipoprotein E ‚non 3/3' entspricht in dem Kollektiv dieser Arbeit mit 45% der Normalverteilung der Bevölkerung (Schmitz 1995). Von diesen 45 % (n=18) hatten 9 Probanden ein Apolipoprotein E 3/4, 3 Probanden

hatten ein Apolipoprotein E von 4/4, 5 Probanden eines von 2/3 und ein Proband hatte ein Apolipoprotein E 2/2.

Differenziert man die gemessenen Lipide nach einem phänotypischen Apolipoprotein E 3/3$^{\alpha}$ oder ‚non 3/3'$^{\beta}$, so sind jeweils die Mittelwerte der ‚non 3/3'-Gruppe erhöht: Triglyceride (395$^{\alpha}$ ⇔ 547mg/dl$^{\beta}$; p=0,605), Cholesterine (238$^{\alpha}$ ⇔ 285mg/dl$^{\beta}$; p=0,054). Die enormen Unterschiede der Triglyceride in den beiden Therapiegruppen, bei auffallend hoch ausgefallenem p-value nach dem Mann-Whitney U Test von 0,605 ergibt sich daraus, daß drei Probanden mit einem Apolipoprotein E ‚non 3/3' außerordentlich hohe Ausreißer (Nüchterntriglyceride: 1794, 2298, 2448mg/dl) hatten. Die Mediane der Nüchterntriglyceride blieben entsprechend vergleichbar: 270$^{\alpha}$ ⇔ 251 mg/dl$^{\beta}$.

Im September 1998 beobachtete Lister (1999) bei einem seiner Patienten, mit fortgeschrittener HIV-Infektion und unter der Therapie von zwei Proteaseinhibitoren (Ritonavir und Crixivan) eine ausgeprägte Hyperlipidämie mit einem Gesamtcholesterin von 1133mg/dl und einem Gesamttriglycerid von 2435mg/dl. Dieser Patient hatte einen Apolipoprotein E Phänotyp von 2/2. Lister vermutete in diesem Casereport, daß für HIV-Patienten ein erhöhtes Risiko einer Hyperlipidämie besteht, wenn sie eine Proteaseinhibitorentherapie erhalten und zugleich diesen Phänotypus haben.

Wenig später publizierte Behrens (1999b) aus Hannover ebenfalls im Lancet eine Auswertung einer prospektiven Studie, in der bei 38 HIV-Patienten der Apolipoprotein E Phänotyp bestimmt und in Abhängigkeit zu den Lipiden gesetzt wurde. 63,2% (n=24) hatten ein Apolipoprotein E 3/3, die übrigen 36,8% ein Apolipoprotein E von 2/3 (n=8), 2/4, 3/4 oder 4/4 (jeweils n=2). Er bestätigt dieses erhöhte Risiko für eine Hyperlipoproteinämie bei einem Apolipoprotein E 'non 3/3', mit einem statistisch signifikanten p-value von 0,02.

Die dieser Arbeit zugrundeliegende Untersuchung erfolgte unter anderen Voraussetzungen, so daß nur eine eingeschränkte Vergleichbarkeit möglich ist. Denn alle hier untersuchten Probanden wiesen metabolische oder morphologische Abnormitäten auf. Für die Nüchterncholesterinwerte lassen sich die Beobachtungen von Lister und

Behrens bestätigen, ein deutlicher Trend, der fast statistisch signifikant ist, zeigt eine ausgeprägtere Hypercholesterinämie in der Gruppe der Probanden mit einem Apolipoprotein E 'non 3/3' gegenüber denjenigen mit einem Apolipoprotein E von 3/3. Der p-value beträgt bei Splittung lediglich nach dem Apolipoprotein E – also unabhängig von der di- oder konvergenten Therapie: 0,054 – nach Ausschluß der Probanden die keine Proteaseinhibitoren einnahmen: 0,072. Für die anderen Parameter wie Nüchterntriglyceride und HDL-Cholesterin konnte in dieser Auswertung kein Trend infolge eines Apolipoprotein E Phänotypus gefunden werden.

Die eigenen Daten, wie auch die zitierten Studien, bestätigen, daß zur Auswertung von Fettstoffwechselstörungen eine Differenzierung nach dem unterschiedlichen phänotypischen Apolipoprotein E Polymorphismus sinnvoll ist, weil durch ihn bereits Dyslipidaemien induziert werden können.

4.1.3 Immunologie

In der Auswertung der immunologischen Parameter zu den Lipiden ergibt sich in unserer Auswertung ein sehr deutlicher Trend bezüglich der CD4-positiven Zellen. Je niedriger sie sind, desto höher fallen die gemessenen Nüchterntriglycerid- und –cholesterinwerte aus. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,54 für die Triglyceride und 0,26 für die Cholesterine, wenn man lediglich die Probanden mit einem Apolipoprotein E von 3/3 berücksichtigt. Betrachtet man nun diejenigen Probanden – ebenfalls alle mit einem Apolipoprotein E vom Normaltyp - mit einer CD4-Zellzahl von <300/µl und stellt ihnen diejenigen Probanden mit einer CD4-Zellzahl von >300/µl gegenüber, so läßt sich dieser Trend bestätigen und nach dem Mann-Whitney U Test ein p von 0,114 (Triglyceride) bzw. von 0,138 (Cholesterin) berechnen.

Betrachtet man die Quantität der HIV-Viruspartikel, so ergibt sich zum Fettstoffwechsel nach diesen Berechnungen kein Trend, was daran liegen mag, daß die Mehrheit der Probanden (=60%) eine Viruslast unter der Nachweisgrenze hatten und lediglich 7 der 40 Probanden eine Viruslast von >1000 HIV-Partikeln/ml aufwiesen, also zuwenig auswertbare Differenzen vorliegen.

Andrew Carr (Carr 1998a, Carr 2000b) und Katherine Heath (Heath 2001) fanden keine Korrelation zwischen den CD4-positiven Zellen und der Viruslast zu der Entstehung eines HALS. Dies widerspricht nicht den Ergebnissen dieser Arbeit, denn hier wurde und konnte keine Risikoanalyse zum Auftreten des HALS erfolgen, sondern es wurde lediglich ermittelt, daß bei den Probanden mit einem bereits bekannten metabolischen oder morphologischen HALS ein Zusammenhang besteht zwischen der Erniedrigung der CD4-positiven Zellen und der Hypertriglyceridämie und der –cholesterinämie.

Der Trend zu den erhöhten Lipidparametern bei den Probanden, die eine erniedrigte CD4-Zellzahl aufweisen, liegt meines Erachtens darin begründet, daß es sich bei dieser Gruppe um überwiegend vorbehandelte Patienten mit einer bereits fortgeschrittenen und seit langer Zeit bekannter HIV-Infektion handelt. Die Dauer der HIV-Infektion und der eingenommenen antiretroviralen Therapie sowie bereits durchgemachte AIDS-definierende Erkrankungen sind als Risikofaktoren für eine Hyperlipidämie bekannt (Gervasoni 1999).

4.1.4 Lipoprotein- und hepatische Lipase Aktivität

Die Enzymaktivitäten der Lipoprotein Lipase des Gesamtkollektives liegen mit dem gemessenen Mittelwert von 81 % im unteren Normbereich, der in der Spanne zwischen 80-120 % liegt. Die Spannweite aller Messungsergebnisse liegt bei 159. Dagegen liegt der Mittelwert der hepatischen Lipase mit 102 % im mittleren Normbereich, weist jedoch nach unten und oben große Ausreißer (Spannweite 324) auf. Die wenigen Untersuchungen auf diesem Gebiet, die die Lipoproteinlipase- oder die hepatischen Lipaseaktivität bei HIV-Patienten mit einem HALS untersucht haben, sind die folgenden vier Arbeiten:

1.) Purnell$^{\alpha}$ (Purnell 2000) hat in seiner bereits erwähnten Untersuchung (Kapitel 4.1.1) beide Enzymaktivitäten bei HIV-negativen Probanden erst vor dann im Verlauf nach 14 Tagen unter einer Ritonavirmonotherapie versus der Einnahme lediglich eines Placebo gemessen. Nur in der Gruppe der Probanden, die Ritonavir einnahmen, konnte eine Aktivitätsabnahme der hepatischen Lipaseaktivität um 21,2% gemessen werden. In der Placebogruppe wurde erwartungsgemäß keine Veränderung der hepatischen Lipaseakti-

vität gemessen. Dagegen ergab sich in beiden Gruppen bezüglich der Lipoproteinlipase Aktivität keine Veränderung.
2.) Beim ersten Lipodystrophie Workshop in San Diego 1999 präsentierte Yarasheski[β] (1999) Lipoproteinlipase Aktivitätsmessungen von 45 HIV-positiven Probanden, die alle eine divergente antiretrovirale Therapie erhielten. Bei 22 der Probanden wurden Hypertriglyceridämien gemessen, von denen neun sogar Werte von >1000mg/dl hatten. Die Lipoproteinlipase hatte insbesondere bei diesen Probanden eine erniedrigte Aktivität.

3.) In einem Research letter wurde von Baril[γ] (Baril 2001) eine Untersuchung zur Lipoprotein- und hepatischen Lipase Aktivität bei 12 HIV-positiven Probanden, die - bis auf einen - eine divergente antiretrovirale Therapie erhielten und allesamt eine schwere Hypertriglyceridämie (von 400 – 4500mg/dl) aufwiesen, publiziert. Laut Baril konnte bei allen Probanden eine auffällige Erniedrigung der hepatischen Lipaseaktivität gemessen werden, sowie eine verminderte Aktivität der Lipoproteinlipase Aktivität bei 7 der 12 Probanden. Statistische Auswertungen wurden diesem research letter nicht beigefügt.

4.) In einer Teilauswertung der Daten dieser Arbeit auf dem Boden von 20 HIV-positiven Probanden mit einer divergenten antiretroviralen Therapie, wurde von unserer Arbeitsgruppe[δ] in Marrakech auf dem ersten europäischen Symposium zu Lipodystrophie und HIV-Infektion präsentiert, daß dieses Patientenkollektiv mit Hyperlipidämien, eine auffällig erniedrigte Lipoproteinlipase Aktivität aufweist (Buhk 2000).

In diesen vier Arbeiten scheint die Einnahme von Proteaseinhibitoren mit einer Erniedrigung der hepatischen Lipaseaktivität[α] einherzugehen, bzw. steht diese in einem Zusammenhang mit einer Hypertriglyceridämie[βγ]. Während die ersten drei Publikationen[αβγ] keine eindeutigen Resultate zur Lipoproteinlipase Aktivität bei ihren Probanden erhielten, lediglich eine Tendenz zu ebenfalls einer Erniedrigung der Aktivität[βγ], wurde in der von uns in Marrakech[δ] vorgestellten Teilauswertung dieser Daten eine statistisch signifikante Erniedrigung der Lipoproteinlipase Aktivität (76,9%) bei Probanden mit einer divergenten antiretroviralen Therapie bereits festgestellt.

I. In der Gesamtauswertung dieser Untersuchung kommen wir zu den folgenden Ergebnissen: Bei dem durchweg HIV-positiven Kollektiv, in dem bereits seit Jahren antiretrovirale Therapien eingenommen wurden, wird die Lipoproteinlipase Aktivität des Gesamtkollektives erniedrigt gemessen (81,05%). Die hepatische Lipaseaktivität allerdings wurde in der Gesamtbetrachtung mit 102,1% in einem unauffälligen Bereich bestimmt. Das Ziel dieser Untersuchung ist nun eine weitere Analyse insbesondere der Lipoproteinlipase-Aktivitäten in Relation zu der eingenommenen Therapie (divergent bzw. konvergent), der Dauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie und die weitere Differenzierung der Ergebnisse nach dem Vorliegen des Apolipoprotein E Polymorphismus (3/3 bzw. ‚non 3/3'). Im folgenden Kapitel wird eine weitere Analyse in Bezug auf die gemessenen Proteaseinhibitorenspiegel erfolgen.

Betrachtet man die Lipoproteinlipase Aktivität nach Splittung des Kollektives in eine divergente (d) und in eine konvergente (k) Therapie, so ergibt sich keine statistisch signifikante Differenz (p=0,76) in der Aktivitätsmessung (82,8 (d) vs. 76,6 (k) %). Bezieht man lediglich die Probanden mit einem Apolipoprotein E von 3/3 in die Auswertung ein, bleiben die beiden Kollektive weiterhin vergleichbar (82,5 (d) vs. 80,2 (k) %). Die Lipoproteinlipase Aktivitäten bleiben bei beiden Kollektiven in einem niedrigen aber voneinander nicht zu unterscheidenden Bereich. Eine Differenz zwischen einer aktuell eingenommenen divergenten oder konvergenten Therapie konnte also nicht gefunden werden. Die erniedrigten Aktivitäten der Lipoproteinlipase in den bereits erwähnten Studien müssen auf der Basis dieser Daten also nicht zwangsläufig speziell mit den Proteaseinhibitoren zusammenhängen.

Eine positive Korrelation ergab sich aber bezüglich der Dauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie, je länger diese Zeitspanne ist, desto niedriger wurde die Lipoproteinlipase Aktivität gemessen. Betrachtet man das Gesamtkollektiv, so fällt diese Korrelation mit einem Korrelationsindex von 0,19 schwach aus, nach Ausschluß der Probanden mit einem phänotypischen Apo E non 3/3, wird diese Korrelation mit einem Korrelationsindex von 0,29 etwas deutlicher. Aus diesen Ergebnissen läßt sich schließen, daß einerseits eine direkte Korrelation der Proteaseinhibitoren auf das Enzym der Lipoproteinlipase nicht nachgewiesen werden konnte, allerdings ein Zusammenhang mit der Zeitdauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie (mit oder ohne

Proteaseinhibitoren) zu bestehen scheint. Je länger eine antiretrovirale Therapie eingenommen wurde desto eher besteht auch die Tendenz, daß die Lipoproteinlipase Aktivität abgeschwächt ist.

II. Die hepatische Lipaseaktivität des Gesamtkollektives liegt mit 102,1 % im mittleren Bereich. Die Splittung nach divergenter (d) und konvergenter (k) Therapie ergibt unabhängig {96,2 (d) vs. 117,3 (k) % (p=0,673)} und abhängig {88,4 (d) vs. 129,8 % (k) (p=0,394)} vom Apolipoprotein E 3/3 zwar keine statistisch signifikante Differenz. Es ergibt sich aber ein Trend hin zu einer niedrigeren hepatischen Lipaseaktivität bei den Probanden mit einer aktuell eingenommenen Proteaseinhibitorentherapie. Diese Beobachtung deckt sich mit den beiden bereits erwähnten Publikationen (Purnell 2000, Baril 2001). Wie bei der Lipoproteinlipase Aktivität, zeigt sich bei der hepatischen Lipaseaktivität interessanterweise ein Trend bezüglich der Dauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie, der hier jedoch invers ausfällt. Je länger eine antiretrovirale Therapie gegeben wurde, desto höher wurde die hepatische Lipaseaktivität gemessen. Der Korrelationsindex beträgt 0,35 für die Gesamtgruppe und 0,43 für die Probanden mit einem Apolipoprotein E von 3/3. Handelt es sich hier um einen Widerspruch, daß einerseits mit zunehmender Dauer der je eingenommenen antiretroviralen Therapie eine Tendenz zur Zunahme der hepatische Lipaseaktivität gemessen werden kann und andererseits die Einnahme von Proteaseinhibitoren eine Abschwächung der Aktivität dieses Enzymes zur Folge hat? Unterstellt man eine direkte Interaktion der Protease-inhibitoren mit der hepatischen Lipase, so muß andererseits die Dauer der je eingenommenen Medikamente sich nicht auf die Enzymaktivität auswirken. Weiterhin wurde in der Berechnung der Zeit, nicht nach Reverse Transkriptase- und Protease-inhibitoren differenziert, so daß eine spezielle additive zeitliche Wirkung von bereits seit längerer Zeit eingenommener Proteaseinhibitoren mit dieser Berechnung nicht genügend beantwortet werden kann. Im folgenden Kapitel wird der Frage nach einer direkten Wechselwirkung durch einzelne Proteaseinhibitorensubstanzen auf die Aktivität der hepatische Lipase diskutiert.

Der Trend, den Yarasheski und Baril in ihren Arbeiten beschrieben, daß Hypertriglyceridämien mit erniedrigten Aktivitäten insbesondere der hepatischen Lipase (HL) aber auch der Lipoproteinlipase (LpL) einhergehen, konnte in der Auswertung der Daten

unseres Kollektives bestätigt werden. In dieser Arbeit wurden drei Gruppen nach den gemessenen Nüchterntriglyceriden differenziert:

1.) <200mg/dl 2.) 200-400mg/dl und 3.) >400mg/dl.

Für jede der drei Gruppen wurden die jeweiligen Lipoprotein- und hepatische Lipase-aktivitäten bestimmt. Ein statistisch signifikantes Resultat nach dem Mann-Whitney U Test wurde nicht erzielt, die p-values betrugen jeweils für die Gruppen 1 und 3: 0,248 (HL) bzw. 0,307 (LpL). Dies könnte mit der geringen Fallzahl zusammenhängen. Ein Trend entsprechend der beiden genannten Arbeiten läßt sich aber bestätigen.

4.2 Einfluß der Proteaseinhibitoren (Spiegel) auf die Lipide und die Lipoprotein- und hepatische Lipase

Dem möglichen direkten Einfluß der Proteaseinhibitoren auf die Aktivität der Lipoproteinlipase und der hepatischen Lipase wurde in dieser Untersuchung nachgegangen. Dabei ist der aktuelle Medikamentenspiegel der einzelnen Proteaseinhibitorensubstanz – entweder Indinavir, Saquinavir, Nelfinavir oder Ritonavir – in Relation zu der gemessenen Enzymaktivität gesetzt worden.

Es handelt sich hier um eine Momentaufnahme, in der lediglich betrachtet werden kann, wie hoch zu dem Zeitpunkt der Untersuchung einerseits der Medikamentenspiegel und andererseits die jeweilige Enzymaktivität war. Nicht mit einbezogen wurde in diese Untersuchung, wie hoch die Medikamentenspiegel in der Zeitperiode vor dieser Untersuchung waren. So ist es durchaus möglich, daß der Medikamentenspiegel zu diesem Untersuchungszeitpunkt außergewöhnlich hoch oder niedrig ausfiel. Sollte es eine langfristige Wechselwirkung zwischen den jeweiligen Proteaseinhibitoren und diesen Enzymen des Fettstoffwechsels geben, so läßt sich hierüber keine Aussage treffen, sondern lediglich über einen etwaigen kurzfristigen direkten Einfluß des jeweiligen Proteaseinhibitorenspiegels.

Zur Erörterung dieser Fragestellung wurden die Probanden in fünf Gruppen aufgeteilt: jeweils nach dem Proteaseinhibitoren der eingenommen wurde (Indinavir, Saquinavir,

Ritonavir oder Nelfinavir) und einer Gruppe von Probanden, die aktuell keine Protease-inhibitoren erhielten.

Lipide

Entsprechend der Vorselektion dieser Probandengruppe sind im Mittel die Cholesterin- und Triglyceridwerte aller Gruppen erhöht. Wesentliche Differenzen unter den genannten fünf Gruppen ergeben sich in Bezug auf die Nüchterncholesterine nicht. Die Mittelwerte liegen bei 250mg/dl – unabhängig von dem aktuell eingenommenen Proteaseinhibitoren und ob eine proteaseinhibitorenfreie Therapie eingenommen wurde. Bei den Nüchterntriglyceridwerte wiederum gibt es große Abweichungen unter den Gruppen. Insbesondere in der Indinavir- und der Ritonavirgruppe sind die Nüchtern-triglyceride stark erhöht. In der Saquinavirgruppe wird der Mittelwert durch einen Ausreißer von 1794mg/dl nach oben gerissen, entsprechend ist die Standardabweichung mit 718,6 sehr groß. Nach Ausschluß der Probanden mit einem Apolipoprotein E Phänotyp ‚non 3/3' werden zwar die extremen Ausreißer herausgefiltert, hohe Triglyceridmittelwerte der Indinavir- und Ritonavirgruppe bleiben bestehen. Die Einnahme dieser beiden Proteaseinhibitoren scheint mit einem proportional vergrößerten Risiko verbunden zu sein, eine Hypertriglyceridämie zu entwickeln.

Lipoprotein- und hepatische Lipase

Die Lipoprotein- und hepatische Lipase Aktivitäten sind bei allen fünf Gruppen erniedrigt – bis auf eine Ausnahme: Die hepatische Lipaseaktivität derjenigen, die Indinavir einnahmen, ist auffällig erhöht. Weiterhin ist zu beobachten, daß die Lipoproteinlipase Aktivität in der Indinavirgruppe am niedrigsten ausfällt. Bezüglich der hepatische Lipaseaktivität scheint nach diesen Untersuchungen die Ritonavirgruppe den stärksten supprimierenden Einfluß zu haben.

Insgesamt sind die einzelnen Gruppen von der Probandenzahl her klein, so daß mit diesen Ergebnissen und Auswertungen keine statistisch signifikanten Ergebnisse erwartet, sondern nur Trends benannt werden können.

A

Betrachtet man die Daten entsprechend den erreichten Proteaseinhibitorenspiegeln, in Relation zu dem jeweils berechneten Cmax und unterteilt die Probanden in vier Gruppen: 1.) in eine Gruppe$^{\alpha}$ mit niedrigen Medikamentenspiegeln (Cmax<5%; n=7) 2.) in eine$^{\beta}$ mit mittleren Medikamentenspiegeln (Cmax 5-45%; n=10) 3.) in eine Gruppe$^{\gamma}$ mit relativ hohen Medikamentenspiegeln (Cmax > 45%; n=11) und 4.) in eine Kontrollgruppe$^{\delta}$ ohne Proteaseinhibitorentherapie (n=7), so ergibt sich folgendes Bild:

In der Gruppe mit den niedrigsten Spiegeln$^{\alpha}$ werden auch auch die niedrigsten Lipoproteinlipase Aktivitäten - im Mittel von 68,7% (median 50%) - gemessen. Mit ansteigendem Spiegel des jeweiligen Proteaseinhibitoren wurden auch die Enzymaktivitäten der Lipoproteinlipase Aktivität etwas höher gemessen, in der Gruppe mit den mäßigen Spiegeln$^{\beta}$ lag der Mittelwert bei 75,3% (median 64,5%) und in der Gruppe mit den hohen Medikamentenspiegeln$^{\gamma}$ lag der Mittelwert bei 85,4% (median 75,0). In der Probandengruppe$^{\delta}$, die keine Proteaseinhibitoren einnahmen lagen der Mittelwert der Lipoproteinlipase Aktivität bei 81,4 und der Medianwert bei 73,0%.

Die Relation zwischen der Hepatischen Lipaseaktivität und den jeweiligen Medikamentenspiegeln erscheint interessanterweise invers zum dem der eben dargelegten Lipoproteinlipase Aktivität. In der ersten Gruppe mit lediglich den sehr niedrigen Proteaseinhibitorenspiegeln$^{\alpha}$ wird die hepatische Lipaseaktivität im Mittel mit 121,6 - und im Median mit 127 - % relativ hoch gemessen. Mit ansteigendem Spiegel reduziert sich die hepatische Lipaseaktivität, in der Gruppe$^{\beta}$ mit dem mäßigen Spiegel auf 113,6% im Mittel und 83,5% im Median und in der Gruppe$^{\gamma}$ mit dem hohen Spiegel auf 79,7% im Mittel und 81% im Median. In der Vergleichsgruppe$^{\delta}$ ohne Proteaseinhibitorentherapie beträgt der Mittelwert 87,7% und der Median 79%.

Im vorherigen Kapitel wurde ein deutlicher Trend hin zu einer Erniedrigung der Lipoproteinlipase Aktivität (LpL) und zu einer Erhöhung der hepatische Lipaseaktivität (HL) je länger jeweils eine antiretrovirale Therapie eingenommen wurde beschrieben. In dieser Gegenüberstellung der zu einem Zeitpunkt gemessenen Aktivitätsmessungen der beiden genannten Enzyme und dem jeweiligen Spiegel der Proteaseinhibitoren ergibt sich der Eindruck, daß hohe Medikamentenspiegel der Proteaseinhibitoren mit

eher ‚normalen' Lipoproteinlipase Enzymaktivitäten und überdurchschnittlich niedrigen hepatischen Lipaseaktivitäten. korrespondieren. Ein inhibitorischer Effekt der Protease-inhibitorentherapie wäre nach diesen Daten bezüglich der hepatischen Lipase aber nicht der Lipoproteinlipase vorstellbar.

B

In einem zweiten Schritt wird nun der mögliche Einfluß der Spiegel der einzelnen Proteaseinhibitoren auf die jeweiligen Aktivitäten dieser beiden Enzyme des Fett-stoffwechsels ausgewertet. Die Resultate sind unterschiedlich:

— Indinavir (n=7): Ein schwacher Trend könnte darauf hinweisen, daß ein höherer Medikamentenspiegel mit einer niedrigeren Lipoproteinlipase Aktivität einhergeht (KI=0,26). Eine Korrelation zwischen dem Medikamentenspiegel und der hepatischen Lipaseaktivität ist nicht erkennbar (KI=0,16).
— Saquinavir (n=5): Eine Korrelation zwischen der Höhe der Saquinavirspiegel und der Enzymaktivität der Lipoproteinlipase ist nicht erkennbar (KI=0,05), bezüglich der hepatische Lipase, scheint ein höherer Medikamentenspiegel mit einer niedrigeren Aktivität zu korrelieren (KI=0,42).
— Ritonavir (n=10): Eine Korrelation zwischen der Höhe der Ritonavirspiegel und der Enzymaktivität der Lipoproteinlipase ist nicht erkennbar (KI=0,06), bezüglich der hepatischen Lipase, scheint ein höherer Medikamentenspiegel mit einer niedrigeren Aktivität zu korrelieren (KI=0,3).
— Nelfinavir (n=6): Hohe Medikamentenspiegel tendieren zu niedrigen Lipoprotein- (KI=0,49) und hepatischen Lipaseaktivitäten (KI=0,8).

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß Nelfinavir > Saquinavir > Ritonavir einen jeweils medikamentenspiegelabhängigen hemmenden Einfluß auf die hepatische Lipaseaktivität zu haben scheint, für Indinavir läßt sich bezüglich der Medikamenten-konzentration und der hepatische Lipaseaktivität keine Korrelation nachweisen.
Ein hemmender Einfluß auf die Lipoproteinlipase Aktivität läßt sich lediglich für Nelfinavir belegen, diskret für Indinavir erahnen aber weder für Ritonavir noch für Saquinavir nachweisen.

Aufgrund der geringen Fallzahlen sind diese Ergebnisse jedoch mit Einschränkungen und aller Vorsicht zu verwenden, weitere Studien sind notwendig um diese vorläufigen Ergebnisse zu validieren.

4.3 Intraindividuelle Verlaufsbeobachtung

Bei einer kleinen Untergruppe von fünf Probanden erfolgte eine Verlaufsbeobachtung. Die Cholesterine, Triglyceride und die Enzymaktivitäten der Lipoprotein- und der hepatischen Lipase wurden erst unter einer divergenten Therapie, dann nach dem Absetzen unter den Bedingungen einer mindestens seit drei Monaten bestehenden konvergenten Therapie erneut bestimmt. Bei dieser intraindividuellen Verlaufsbeobachtung ist zu beobachten, daß die Fettwerte nach dem Absetzen der Proteaseinhibitoren im Verlauf niedriger gemessen wurden. Lediglich ein Proband (D) hat unter der konvergenten Therapie höhere Cholesterinnüchternwerte, als unter der vorherigen divergenten Therapie. Die Nüchterntriglyceridwerte fielen im Verlauf nach dem Wechsel zu einem proteaseinhibitorenfreien Therapieregime allesamt geringer aus. Für weitere statistische Berechnungen ist die Probandenzahl zu gering, doch läßt dieses Ergebnis vermuten, daß der Switch von einer divergenten zu einer konvergenten antiretroviralen Therapie mit einer Abnahme der Hypercholesterinämie und der Hypertriglyceridämie verbunden zu sein scheint. In den Arbeiten von Martinez (1999) und Barreiro (2000) wurde dieser Einfluß bereits publiziert.

Ziel dieser Arbeit ist den möglichen Einfluß der Lipoprotein- und hepatischen Lipase bei dieser Lipidaberration zu untersuchen. Bei denselben fünf Probanden wurden daher in dieser Arbeit ebenfalls diese Enzymaktivitäten untersucht. Die Lipoproteinlipase Aktivität wurde im Verlauf bei drei Probanden (A,D,E) niedriger und bei den übrigen zweien (B,C) mit einer höheren Aktivität im Vergleich zum Ausgangswert unter einer divergenten Therapie gemessen, so daß anders als bei den Lipiden keine Tendenz nachweisbar scheint. Die hepatische Lipaseaktivität wurde bei vieren (A,B,C,D) im Verlauf mit einer höheren Aktivität und lediglich bei einem (E) mit einer vergleichbaren Aktivität gemessen, so daß es sich in diesem Fall spekulieren ließe, das Weglassen der Proteaseinhibitoren hätte eine Aktivitätszunahme der hepatischen Lipase begünstigt.

In der intraindividuellen Verlaufsbeobachtung dieser 5 Probanden läßt sich zwar bestätigen, daß nach Herausnahme der Proteaseinhibitoren und Fortsetzung einer konvergenten antiretroviralen Therapie ein Rückgang der Hyperlipidämie zu verzeichnen ist, einen entsprechenden direkten Einfluß auf die Enzymaktivitäten der Lipoprotein- und hepatischen Lipase konnte aber in dieser Eindrücklichkeit nicht gefunden werden. Tendenziell ist ein hemmender Einfluß auf die hepatische Lipaseaktivität unter einem proteaseinhibitorenhaltigen Regime erahnbar, bezüglich der Lipoproteinlipase Aktivität läßt sich bei dieser intraindividuellen Verlaufsbeobachtung keine Aussage treffen.

F Zusammenfassung der Ergebnisse

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin zu überprüfen, ob es für die Fettstoffwechselstörungen, die bei mit HIV infizierten Patienten auftreten, einen Anhalt für eine sekundäre Interaktion zwischen den Proteaseinhibitoren und der Lipoprotein- und der hepatischen Lipase gibt.

Für einen direkten kurzfristigen Einfluß der Proteaseinhibitoren auf die Enzymaktivitäten der Lipoprotein- und hepatischen Lipase konnten in dieser Arbeit nicht genügend Hinweise gefunden werden, allerdings sind neben den bekannten hyperlipämischen Abweichungen unter insbesondere proteaseinhibitorenhaltigen Regimen auch Interaktionen auf diese beiden Enzyme nachgewiesen worden. Diese Ergebnisse bestätigen, daß es sich bei den metabolischen Veränderungen, die im Laufe einer HIV-Infektion auftreten, um ein multifaktorielles Geschehen zu handeln scheint, bei dem die Einnahme von Proteaseinhibitoren, die Dauer der HIV-Infektion und der je eingenommenen antiretroviralen Medikamente aber auch genetische Aspekte wie die Apolipoprotein E – Konstellation wichtige Einflüsse auf diese Fettstoffwechselstörungen haben.

Indizien für einen langfristigen Einfluß der antiretroviralen Therapie auf die Lipoprotein- und hepatische Lipase Aktivität haben sich in dieser Auswertung einige ergeben:

- je länger eine antiretrovirale Therapie eingenommen wurde, desto abgeschwächter wurde die Aktivität der Lipoproteinlipase gemessen;
- für die hepatische Lipase scheint nach unseren Daten bezüglich der Dauer eine Zunahme der Aktivität zu beobachten zu sein, andererseits ist für die hepatische Lipase auch eine Abnahme der Aktivität zu verzeichnen, wenn aktuell eine proteaseinhibitorenhaltige Therapie eingenommen wurde;
- für die Lipoproteinlipase Aktivität scheint nach unseren Daten differenziert nach unterschiedlichen Regimen das Indinavir und für die hepatische Lipaseaktivität das Ritonavir den jeweils größten supprimierenden Einfluß zu haben;
- differenziert nach den Medikamentenspiegeln wiederum hat insbesondere das Nelfinavir einen hemmenden Einfluß auf sowohl die Lipoprotein- als auch auf die hepatische Lipaseaktivität;

- intraindividuell ließ sich eine Tendenz einer Zunahme der hepatischen Lipaseaktivität feststellen, nachdem Proteaseinhibitoren abgesetzt wurden.

Diese Ergebnisse sind teilweise in sich widersprüchlich, was mit der kleinen Probandenzahl und den zugleich vielen Variablen (gleichzeitige Einnahme von mehreren unterschiedlichen Medikamenten, unterschiedliche Dauer sowohl der HIV-Infektion als auch der Dauer und Art der medikamentösen Vorbehandlung) zu erklären ist.

Als mögliche Folgestudie zu dieser Pilotstudie ergibt sich aus diesen Resultaten folgendes Design: Zur Untersuchung nach langfristigen direkten Interaktionen zwischen den Spiegelkonzentrationen der jeweiligen Proteaseinhibitoren wäre eine Untersuchung sinnvoll, in der jeweils bisher therapienaive Probanden bezüglich des Fettstoffwechsels, der Lipoprotein- und hepatischen Lipase Aktivitäten und der Spiegel der Proteaseinhibitoren in drei vergleichbaren Gruppen untersucht werden: 1.) unter einer neu angesetzten divergenten Therapie bzw. 2.) konvergenten Therapie stehende Probandengruppe und 3.) weiterhin therapienaive Probanden. Die laborchemischen- und körperlichen Untersuchungen müßten einerseits über 6 Monate in einem 4-wöchigen Rhythmus erfolgen, andererseits sollte bei jedem Probanden einmalig ein zirkadianer Verlauf, z.B. dreistündlich über 12 Stunden untersucht werden.

G Glossar

Antiretrovirale Therapie: Therapeutika, die die Replikation von Retroviren mittels Hemmung der Reversen Transkriptase oder der Protease zu vermindern vermögen

Apo E 3/3: Apolipoprotein E vom Phänotyp 3/3 – welches dem Normaltyp entspricht (siehe Kapitel 1.4.2)

Apo E ‚non 3/3': Apolipoprotein E welches von normalen Phänotyp 3/3 abweicht, das sind Apo E 2/2 od. 4/4 od. 2/3 od. 2/4 od. 3/4 (siehe Kapitel 1.4.2)

CD4positive Zellen: Untergruppe der T-Lymphozyten mit einem speziellen CD4-Rezeptor; Einheit: Zellen/µl

Divergente Therapie: An zwei Enzymen (Protease und Reverse Transkriptase) ansetzende antivirale Therapie (siehe konvergente Therapie)

Dyslipidämie: Krankhafte Fettwerterhöhung im Blut

Gynäkomastie: Vergrößerung der Brust

HALS: **H**IV **a**ssoziiertes **L**ipodystrophie **S**yndrom

HAART: **H**igh **A**ctive **A**nti**r**etroviral **T**herapy

Klasse: siehe Medikamentenklasse

Konvergente Therapie: An lediglich einem Enzym (Reverse Transkriptase) ansetzende antivirale Therapie (→ siehe divergente Therapie)

Lipoakkumulation: überproportionale Fettansammlung

Lipoatrophie: überproportionaler Fettverlust

Lipodystrophie/lipodystroph: Fettstoffwechselstörung.

Medikamentenklasse: Es sind drei Medikamentenklassen der antiretroviralen Standardtherapie bekannt: NRTI, NNRTI, PI

Metabolisch: den Stoffwechsel betreffend

Morphologisch: die Körperform betreffend

NNRTI: **N**icht-**N**ukleosidale **R**everse**t**ranskriptase **I**nhibitoren

NRTI: **N**ukleosidale **R**everse**t**ranskriptase **I**nhibitoren

PI: **P**rotease**i**nhibitoren (PI)

PPARγ: **P**eroxisomaler **P**roliferator-**a**ktivierter **R**ezeptor Gamma

Viruslast: Quantitative Bestimmung der Menge von HIV-Partikeln im Blut; Einheit: Kopien/ml.

H Literaturverzeichnis

Ault A (1997) FDA warns of potential protease-inhibitor link to hyperglycaemia. Lancet 349:1819.

Baril L, Beucler I, Valantin M et al. (2001) Low lipolytic enzyme activity in patients with severe hypertriglyceridemia on highly active antiretroviral therapy. AIDS 16;15(3):415-7.

Barreiro V, Soriano V, Blanco F et al. (2000) Risks and benefits of replacing protease inhibitors by nevirapine in patients under long-term successful triple combination therapy. AIDS 14: 807-812.

Barre-Sinoussi F, Chermann J, Rey F et al. (1983) Isolation of a T-lymphotrophic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science 220:868-871.

Behrens G, Schmidt H, Meyer D et al. (1998) Vascular complications associated with the use of HIV protease inhibitors. Lancet 351:1958.

Behrens G, Dejam A, Schmidt H et al. (1999a) Impaired glucose tolerance, beta cell function and lipid metabolism in HIV patients under treatment with protease inhibitors. AIDS 13:F63–F70.

Behrens G, Schmidt H, Stoll M, Schmidt R (1999b) ApoE genotype and protease-inhibitor-associated hyperlipidaemia. Lancet 354(9172):76.

Bernasconi E, Carota A, Magenta L et al. (1998) Metabolic changes in HIV infected patients treated with protease inhibitors. 12th World AIDS Conference. Geneva, June 1998 [abstract 12375].

Bonnet E, Cuzin L, Sailler L, et al. (1998) Associated lipodystrophy metabolic disorders due to protease inhibitor containing regimens. 12th World AIDS Conference. Geneva, June 1998 [abstract 12299]

Brinkman K, Smeitink J, Romijn J et al. (1999) Mitochondrial toxicity induced by nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors is a key factor in the pathogenesis of antiretroviral-therapy-related lipodystrophy. Lancet 354: 1112-1115.

Buhk T, Ahle S, Stellbrink HJ et al. (2000) The heparin-released lipoprotein activity is reduced in HIV-infected patients with lipodystrophy. First European Symposium on Lipodystrophy and HIV Infection, Marrakech 2000, abstract O-03.

Cameron D, Heath-Chiozzi M, Danner S et al. (1998) Randomised placebo-controlled trial of ritonavir in advanced HIV-1 disease. The Advanced HIV Disease Ritonavir Study Group. Lancet 21;351(9102):543-9.

Cameron D, Heath-Chiozzi M, Kravcik S et al. (1996) Prolongation of life and prevention of AIDS complications in advanced HIV immunodeficiency with Ritonavir: Update. XI International Conference on AIDS, Vancouver, Canada 1996; Mo. B. 411.

Carr A, Samaras K, Burton S et al. (1998a) A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. AIDS 12:F51-F58

Carr A, Samaras K, Chisholm D, Cooper D (1998b) Pathogenesis of HIV protease inhibitor-associated syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidemia and insulin resistance. Lancet 351:1881–1883.

Carr A, Samaras K, Thorisdottir A et al. (1999) Diagnosis, prediction, and natural course of HIV-1 protease-inhibitor-associated lipodystrophy, hyperlipidaemia, and diabetes mellitus: a cohort study. Lancet 353:2093–2099.

Carr A (2000a) HIV Protease Inhibitor–Related Lipodystrophy Syndrome. Clinical Infectious Diseases 30(Suppl 2):S135–42.

Carr A, Miller J, Law M and Cooper D (2000b) A syndrome of lipoatrophy, lactic acidemia and liver dysfunction associated with HIV nucleoside analogue therapy: contribution to protease inhibitor-related lipodystrophy syndrome. AIDS 14:25–32.

Christeff N, Melchior J, de Truchis P et al. (1999) Lipodystrophy defined by a clinical score in HIV-infected men on HAART: correlation between dyslipidaemia and steroid hormone alterations. AIDS 13:2251-2260.
Coffin J, Haase A, Levy J et al. (1986) What to call the AIDS virus? Nature 321:10.
Collier A, Coombs R, Fischl M et al. (1993) Combination therapy with zidovudine and didanosine compared with zidovudine alone in HIV-1 infection. Ann Intern Med 119: 786-793.
Constans J, Pellegrin J, Peuchant E et al. (1994) Plasma lipids in HIV-infected patients: a prospective study in 95 patients. Eur J Clin Invest 24 (6): 416–420.
Dalgleish A, Beverley P, Clapham D et al. (1984) The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. Nature 312:763-767.
DeLuca A, Murri R, Damiano F, Ammasari A, Antinori A (1998) “Buffalo hump” in HIV-1 infection. Lancet 352:320.
Deng HR, Liu R, Ellmeier W et al. (1996) Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV 1. Nature 381, 661-6.
Dube M, Johnson D, Currier J, Leedom J (1997) Protease inhibitor-associated hyperglycemia. Lancet 350:713–714.
Eastone J, Decker C (1997) New-onset diabetes mellitus associated with use of protease inhibitor. Ann Intern Med 127:947.
Eriksson U, Opravil M, Amann FW, Schaffner A (1998) Is treatment with ritonavir a risk factor for myocardial infarction in HIV-infected patients? AIDS 12(15):2079-2080.
Flynn T, Bricker L (1999) Myocardial infarction in HIV-infected men receiving protease inhibitors. Ann Int Med 131: 548.
Friedl A, Jost C, Schalcher C et al. (2000) Acceleration of confirmed coronary artery disease among HIV-infected patients on potent antiretroviral therapy. AIDS 14(17):2790-2792.
Gallet B, Pulik M, Genet P et al. (1998) Vascular Complications associated with use of HIV protease inhibitores. Lancet 351:1958-1959.
Galli M, Polo R, Saint-Marc T and Walli R (2000) Proposal for a clinic classification of morphological and metabolic alterations under ART. Toronto 2000; Antiviral Therapy 2000; 5(Suppl.5):57, Abstract P58.
Gallo R, Salahuddin SZ, Popvic M et al. (1984) Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk of AIDS. Science 224:500-503.
Gelderblom H, Gentile M, Scheidler A et al. (1995) Zur Struktur und und Funktion bei HIV. AIFO 5: 231-242.
Gervasoni C, Ridolfo A, Trifiro G et al. (1999) Redistribution of body fat in HIV-infected women undergoing combined antiretroviral therapy. AIDS 13:465–471.
Goebel F, Walli R (2000) Novel use of abacavir to simplify therapy in PI experienced patients successfully treated with HAART: CNA30017. 7th Conf Retro Opport Infect, San Francisco 2000; abstract 51.
Gottlieb M, Schroff R, Schanker H et al. (1981) Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. N Engl J Med. Dec 10;305(24):1425-31.
Grunfeld C, Kotler D, Hamadeh R et al. (1989) Hypertriglyceridemia in the acquired immunodeficiency syndrome. Am J Med 86:27–31.
Hamilton J, Hartigan P, Simberkoff M et al. (1992) Controlled trial of early versus late treatment with Zidovudine in symptomatic human immunodeficiency virus infection - results of the veterans affairs cooperative study. N Engl J Med 326: 437-443.
Havekes L, de Knijff P, Beisiegel U et al (1987) A rapid micromethod for apolipoprotein E phenotyping directly in serum. J Lipid Res 28:455-463.
Heath K, Hogg R, Chan K et al. (2001) Lipodystrophy-associated morphological, cholesterol and triglyceride abnormalities in a population-based HIV/AIDS treatment database. AIDS 15:231-239.
Hengel R, Watts N, Lennox J (1997) Benign symmetric lipomatosis associated with protease inhibitors [letter]. Lancet 350:1596.

Henry K, Melroe H, Huebsch J et al. (1998) Severe premature coronary artery disease with protease inhibitors. Lancet 351:1328.
Herry I, Bernard L, De Truchis P, Peronee C. (1997) Hypertrophy of the breasts in a patient treated with indinavir. Clin Infect Dis 25:937-938.
Hymes K, Cheung T, Greene JB et al. (1981) Kaposi's sarcoma in homosexual men - a report of eight cases. Lancet 19;2(8247):598-600.
Illingworth D (1993) Lipoprotein metabolism. Am J Kidney Dis 22:90-97.
John M, Nolan D, Mallal S (2001) Antiretroviral therapy and the lipodystrophy syndrome. Antivir Ther. 2001 Mar;6(1):9-20.
Juette A, Salzberger B, Franzen C et al. (1999) Increased morbidity from severe coronary heart disease in HIV-patients receiving protease inhibitors. Abstract 656. Presented at the 6th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Chicago 1999, USA.
Karmochkine M, Raguin G (1998) Severe coronary artery disease in a young HIV-infected man with no cardiovascular risk factor who was treated with indinavir. AIDS 12: 2499.
Kostner G, März W (1995) Zusammensetzung und Stoffwechsel der Lipoproteine. In : Schwandt P, Richter WO (Hrsg) Handbuch der Fettstoffwechselstörungen. Schattauer, Stuttgart New York, S. 3-47.
Lioni A, Mavrodi N, Georgiu U et al. (1998) True gynecomastia and not adipose tissue disposition in 3 HIV+ patients under triple antiretroviral regimen: an unknown adverse effect? AIDS 12(4):S56.
Lister R, Youle M, Nair D et al. (1999) Latent dysbetalipoproteinemia precipitated by HIV-protease inhibitors. Lancet 353:1678.
Lo J, Mulligan K, Tai V et al. (1998) “Buffalo hump” in men with HIV-1 infection. Lancet 351:867–70.
Mahley R (1988) Apolipoprotein E: Cholesterol transport protein with expanding roll in the cell biology. Science 240: 622-630.
Martinez E, Conget I, Lozano L et al. (1999) Reversion of metabolic abnormalities after switching from HIV-1 protease inhibitors to nevirapine. AIDS 13(7):805–810.
März W, Cezanne S, Groß W (1991) Immunoblotting of apolipoprotein E in immobilized pH gradients. Electrophoresis 12:59-63.
Meng T, Fischl M, Boota A et al. (1992) Combination therapy with zidovudine and dideoxycytidine in patients with advanced human immunodeficiency virus infection. A phase I/II study. Ann Intern Med 116: 13-20.
Miller K, Jones E, Jack A et al. (1998) Visceral abdominal fat accumulation associated with the use of indinavir. Lancet 351:871-875.
Molarius A, Seidell J (1998) Selection of anthrometic indicators for classification of abdominal fatness - a critical review. Int J Obes Relat Metab Disord 351(9106):871-875.
Moyle G, Baldwin C (1999) Lipid elevations during non-nuckeoside RTI (NNRTI) therapy: A cross-sectionale analysis. San Diego 1999; Antviral Therapy 4(Suppl.2):63, Abstract 54.
Noor M, Lo J, Mulligan K et al. (2001) Metabolic effects of indinavir in healthy HIV-seronegativ men. AIDS 15:F11-18.
Palella F, Delaney K, Moorman A et al. (1998) Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. N Engl J Med 338:853–860.
Pedneault L, Hanson C, Nacci P et al. (1999) Amprenavir: a new protease inhibitor with a favourable metabolic profile. San Diego 1999; Antiviral Therapy 1999; 4 (Suppl.2): 52, Abstract 34.
Pollner J, Aronson N, McHugh S et al. (1998) Significant increases in serum cholesterol are seen among HIV patients taking protease inhibitors. 12th World AIDS Conference. Geneva, June 1998 [abstract 12269].
Polo R, Verdejo J, Martinez et al.(1999) Contribution of NRTIs Combinations on Lipodystrophy and impact of Therapy switching. San Diego 1999; Antviral Therapy 4(Suppl.2):71, Abstract 67.
Purnell J, Zambon A, Knopp R et al. (2000) Effect of ritonavir on lipids and post-heparin lipase in normal subjects. AIDS 14:51–57.

Ragni M, Amato D, LoFaro M et al. (1995) Randomized study of didanosine monotherapy and combination therapy with zidovudine in hemophilic and nonhemophilic subjects with asymptomatic human immunodeficiency virus-1 infection. AIDS Clinical Trial Groups. Blood 85:2337-2346.
Rickerts V, Brodt H, Staszewski S et al. (2000) Incidence of myocardial infarctions in HIV-infected patients between 1983 and 1998: The Frankfurt HIV-cohort study. Eur J Med Res, 5(8): 329-33.
Roge B, Katzenstein T, Gerstoft J (1999) Alterations in Plasma triglycerides levels during treatment with three different protease inhibitor regimens: a randomized study. San Diego 1999; Antiviral Therapy 4(Suppl.2):51, Abstract 33.
Roth V, Kravcik S, Angel J (1998) Development of cervical fat pads following therapy with human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitors. Clin Infect Dis 27: 65-67.
Roubenoff R, Kehayias J, Dawson-Hughes B, Heymsfield SB (1993) Use of dual-energy x-ray absorptiometry in body-composition studies: not yet a “gold standard”. Am J Clin Nutr 58:589.
Safrin S, Grunfeld C (1999) Fat distribution and metabolic changes in patients with HIV infection. AIDS 13:2493-2505.
Saint-Marc T, Partisani M, Poizot-Martin I et al. (2000) Fat distribution evaluated by computed tomography and metabolic abnormalities in patients undergoing antiretroviral therapy: preliminary results of the LIPOCO study. AIDS 14:37-49.
Savès M, Raffi F, Capeau J et al. (2002) Factors related to lipodystrophy and metabolic alterations in patients with human immunodefiency virus infection receiving highly active antiretroviral therapy. CID 34:1396-1405.
Schmitz G, Herrmann W (1995) Labordiagnostik von Hyper- und Dyslipoproteinämien. In : Schwandt P, Richter WO (Hrsg) Handbuch der Fettstoffwechselstörungen. Schattauer, Stuttgart New York, S. 488-519.
Schmitz M, Michl G, Walli R et al (2001) Alterations of Apolipoprotein B Metabolism in HIV infected patients with antiretroviral combination therapy. JAIDS 26:225-235.
Schwenk A (1999a) Metabolische Veränderungen unter antiretroviraler Therapie. In: Jäger H (Hrsg) Mit AIDS leben. Prävention, Therapie, Behandlungsalternativen, psychosoziale Aspekte. Ecomed, Erlangen S. 238-242.
Schwenk A, Beisenherz A, Kermer G et al. (1999b) Bioelectrical impedance analysis in HIV-infected patients treated with antiretroviral treatment. Am J Clin Nutr 70:867-873.
Staszewski S, Loveday C, Picazo J et al. (1996) Safety and Efficacy of Lamivudine-Zidovudine Combination Therapy in Zidovudine-Experienced Patients. A Randomized Controlled Comparison With Zidovudine Monotherapy. JAMA 276: 111-117.
Teplitzky V, Halabe A (1999) Fat distribution in AIDS [letter]. N Engl J Med 340: 969-970.
Thiébaut R, Malvy D, Mercie P et al. (1999) Factors influencing the evolution of plasma triglyceride in the era of HAART, Aquitaine Cohort, 1996-1998. San Diego 1999; Antiviral Therapy 4(Suppl.2):40, Abstract 15.
Visnegarwala F, Krause K, Musher D (1997) Severe diabetes associated with protease inhibitor therapy. Ann Intern Med. Nov 15;127(10):947.
Volberding P, Lagakos S, Grimes J et al. (1995) A comparison of immediate with deferred zidovudine therapy for asymptomatic HIV-infected adults with CD4 cell counts of 500 or more per cubic millimeter. N Engl J Med 333: 401-407.
Walker U (2001) in: AIDS-Lipodystrophie. Pathphysiologische Grundlagen und klinisches Management. Herausgegeben von Hans Jäger und Stefan Mauss, Georg Thieme Verlag, S. 9-15.
Walli R, Herfort O, Michl G et al. (1998) Treatment with protease inhibitors associated with peripheral insulin resistence and impaired oral glucose tolerance in HIV-1-infected patients. AIDS 12(15): F167-F173.
Yarasheski K, Tebas P, Marin D et al. (1999) Heparin-releasable lipoprotein lipase activity is reduced in HIV PI-associated hypertriglyceridaemia. San Diego 1999; Antviral Therapy 4(Suppl.2):72, Abstract 70.

Yarchoan R, Klecker R, Weinhold K et al. (1986) Administration of 3'-azido-3'-deoxythymidine, an inhibitor of HTLV-III/LAV replication, to patients with AIDS or AIDS-related complex. Lancet 15;1(8481):575-80.
Zack J, Arrigo S, Weitsman S et al. (1990) HIV-1 entry into quiecent primary lymphocytes. Molecular analysis reveals a labile, latent virus structure. Cell 61: 213-220.

I Curriculum vitae

Name: Thomas Buhk
Zentrum für Innere Medizin
Medizinische Klinik I
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Martinistr. 52
D-20246 Hamburg
Tel.: 040-42803-2831
Fax: 040-42803-5187
E-mail: buhk@uke.uni-hamburg.de

Geburtsdatum: 5. April 1960

Geburtsort: Reinbek bei Hamburg

Studium: 1982-1986: Ev. Theologie an der Universität Hamburg
1986-1993: Humanmedizin an der Universität Hamburg

Stipendium: Ev. Studienwerk Villigst von 1988-1993

Approbation: November 1993

Weiterbildung: 1980-1982: Zivildienst in der Krankenpflege im Bethesdakrankenhaus in Bergedorf.
1984-1992: Tätigkeit als studentische Hilfskraft in der Zentralen Notaufnahme (ZNA) des Marienkrankenhauses in Hamburg
Mai 1992 – Februar 1993 praktisches Jahr in Fortaleza/Brasilien mit dem Schwerpunkt: Infektionskrankheiten
Februar 1994 – August 1995 Arzt im Praktikum
seit August 1995 Assistenzarzt im Zentrum für Innere Medizin, Medizinische Klinik I, des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf. Ärztl. Direktor: Prof. Dr. med. H. Greten

Klin. Spezialisierung: Seit 1994 ambulante und stationäre Versorgung von HIV-Infizierten und AIDS-kranker Patienten. Leiter der Infektionssprechstunde der Medizinischen Poliklinik: PD Dr. med. Stellbrink

Fachgesellschaften: Mitglied der Deutschen AIDS-Gesellschaft e.V. (DAIG)

Wiss. Arbeit: Prüfarzt in einer Vielzahl lokaler, multizentrischer und multinationaler klinischer Studien zu HIV-Infektion und AIDS. Klinische Forschung zu metabolischer und morphologischer Lipodystrophie unter der HIV-Infektion.

Sprachen: Englisch, Portugiesisch

J Danksagung

An erster Stelle bedanke ich mich bei den Patienten, die Anfahrtswege, kurzfristige Diätvorschriften (Nahrungskarenz) und eine Venenpunktion nicht scheuten, um diese Untersuchung zu ermöglichen.

Ein besonderer Dank geht an:

- Frau Prof. Dr. Dr. h.c. U. Beisiegel für die fachkundige, freundliche, geduldige und unterstützende Betreuung bei der Durchführung dieser Arbeit,
- PD Dr. med. Hans-Jürgen Stellbrink, dafür daß ich in seiner Abteilung und stets mit seiner Unterstützung diese Arbeit vorantreiben konnte,
- Silvia Plön, die mir an vielen Tagen bei der Asservierung der Materialien zur Seite stand und mir – der ich in der Laborarbeit unerfahren war – sehr half,
- Nico Meyer für die Hilfe bei der Durchführung der Bestimmung der Lipoprotein- und hepatischen Lipase Aktivitäten,
- Monika Thiel für die Hilfe bei der Erstellung der Graphiken.
- Doris Elshani für die Unterstützung bei der Literaturrecherche.
- den pflegerisch tätigen Kolleginnen und Kollegen des Pav. 33 für ihre Hilfe bei der Gewinnung des Patientenblutes,

last but not least danke ich meinen Eltern, Daniel, Christiane, Sven, Manfred, Friederike, Ulrike, Klaus und Emma Marie - für das Verständnis und die Unterstützung, die sie mir bei der Erstellung dieser Arbeit gaben.

K Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, daß ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfaßt, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe /Auflage und Jahr des Erscheinens, Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe, und daß ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworden habe.