

Metabolische Veränderungen bei antiretroviraler Therapie unter besonderer Berücksichtigung der mitochondrialen Toxizität

KIRSTIN ANTJE FROESE

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines **Doktors der Medizin**
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2011

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2011

© 2011 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Metabolische Veränderungen bei antiretroviraler Therapie unter besonderer Berücksichtigung der mitochondrialen Toxizität

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Kirstin Antje Froese
aus Wiesbaden

Gießen 2010

Aus dem Zentrum für Innere Medizin
Medizinische Klinik II
Innere Medizin – Infektiologie

Direktor: Prof. Dr. med. W. Seeger
Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen

Gutachter: Prof. Dr. med. J. Lohmeyer

Gutachter: Prof. Dr. med. J. Ziebuhr

Tag der Disputation: 20. April 2011

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	III
Tabellenverzeichnis.....	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	VII

1. Einleitung

1.1 Überblick über HIV und AIDS.....	1
1.2 Klassifikation der HIV-Infektion und AIDS.....	2
1.3 Epidemiologie.....	5
1.4 Replikation des HI-Virus.....	5
1.5 Therapie der HIV-Infektion.....	6
1.6 Mitochondriale Toxizität.....	7
1.7 Hyperlaktatämie und Laktatazidose als Folge der mitochondrialen Toxizität unter Nukleosidanaloga- therapie..	9
1.8 Ziel der Arbeit.....	13

2. Probanden, Material und Methoden

2.1 Probandenauswahl.....	15
2.2 Durchführung der Messungen.....	17
2.2.1 Bestimmung der subjektiven Erschöpflichkeit mittels Fragebogen zur Erschöpflichkeit.....	18
2.2.2 Beurteilung der Körperzusammensetzung mittels Bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA) und Berechnung des Body-Mass-Index (BMI).....	21
2.2.3 Oraler Glukosetoleranztest.....	27
2.3 Serumanalysen.....	28
2.3.1 Laborparameter des Kohlenhydratstoffwechsels.....	28
2.3.2 Laborparameter des Fettstoffwechsels.....	30
2.3.3 Laborparameter des Pankreas.....	31
2.3.4 Laborparameter der Schilddrüse.....	32

Inhaltsverzeichnis

2.3.5	HIV-Surrogatmarker.....	33
2.3.6	Bestimmung der mitochondrialen DNA.....	34
2.3.7	Carnitinbestimmung.....	35
2.4	Statistische Methoden.....	36
3.	Ergebnisse	
3.1	Patientenkollektive.....	37
3.2	Verlaufparameter des Provokationstests (oraler Glukosetoleranztest; oGTT).....	38
3.3	Bestimmung der mitochondrialen DNA zum Ausschluss einer Depletion (mtDNA-Depletion).....	47
3.4	Virologischer Status (HIV-Surrogatmarker).....	48
3.5	Serumanalysen.....	51
3.5.1	Laborparameter des Kohlenhydratstoffwechsels.....	51
3.5.2	Laborparameter des Fettstoffwechsels.....	53
3.5.3	Laborparameter des Pankreas.....	55
3.5.4	Laborparameter der Schilddrüse.....	57
3.5.5	Carnitinbestimmung.....	58
3.6	Body-Mass-Index (BMI) und Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA).....	62
3.7	Erschöpflichkeits-Fragebogen (Fatigue-Fragebogen).....	71
4.	Diskussion	73
5.	Zusammenfassung	83
6.	Summary	86
7.	Literaturverzeichnis	89
8.	Publikationen	98
Anhang		
	Danksagung.....	99
	Erklärung.....	100

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Kettenabbruch der mtDNA nach Einbau von Nukleosidanaloga (NRTI).....	8
Abbildung 2	Hyperlaktatämie: Störung der Atmungskette.....	11
Abbildung 3	Patientenzugehörigkeit zu einer Risikogruppe.....	16
Abbildung 4	Stadienzugehörigkeit der Patienten nach CDC.....	16
Abbildung 5	Fragebogen zur Erschöpflichkeit (Fatigue).....	19
Abbildung 6	Korrekte Fingerelektrodenplatzierung.....	23
Abbildung 7	Korrekte Fußelektrodenplatzierung.....	24
Abbildung 8	Boxplot zum Blutglukoseverlauf der Gruppe 1.....	40
Abbildung 9	Boxplot zum Blutglukoseverlauf der Gruppe 2.....	40
Abbildung 10	Boxplot zum Blutglukoseverlauf der Gruppe 3.....	41
Abbildung 11	Boxplot zum Blutglukoseverlauf der Gruppe 4.....	41
Abbildung 12	Boxplot zum Blutlaktatverlauf der Gruppe 1.....	43
Abbildung 13	Boxplot zum Blutlaktatverlauf der Gruppe 2.....	43
Abbildung 14	Boxplot zum Blutlaktatverlauf der Gruppe 3.....	44
Abbildung 15	Boxplot zum Blutlaktatverlauf der Gruppe 4.....	44
Abbildung 16	Boxplot zum Blutlaktatverlauf der Gruppe 3 mit Ausnahme der Patienten mit mtDNA-Depletion der Hepatozyten.....	46

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	CDC-Klassifikation der HIV-Infektion und AIDS.....	3
Tabelle 2	Ursachen einer Hyperlaktatämie/Laktatazidose.....	12
Tabelle 3	BMI Klassifikation (nach DGE, Ernährungsbericht 1992).....	22
Tabelle 4	Diagnostische Richtwerte zur Feststellung eines Diabetes mellitus (American Diabetes Association, ADA).....	28
Tabelle 5	Charakteristika der Patientenkollektive.....	38
Tabelle 6	Verdacht der mtDNA-Depletion aus Lymphozyten in den untersuchten Patientenkollektiven.....	48
Tabelle 7	Virologischer Status der untersuchten Patientenkollektive.....	50
Tabelle 8	Laborparameter des Kohlenhydratstoffwechsels in den untersuchten Patientenkollektiven.....	52
Tabelle 9	Laborparameter des Fettstoffwechsels in den untersuchten Patientenkollektiven.....	54
Tabelle 10	Laborparameter des Pankreas in den untersuchten Patientenkollektiven.....	56
Tabelle 11	Laborparameter der Schilddrüse in den untersuchten Patientenkollektiven.....	57
Tabelle 12	Serum-Carnitinbestimmung mittels Radioimmunoassay in den untersuchten Patientenkollektiven.....	59
Tabelle 13	Carnitin-Musterbestimmung mittels TMS in den untersuchten Patientenkollektiven.....	60

Tabellenverzeichnis

Tabelle 14	BMI der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	63
Tabelle 15	BMI der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	63
Tabelle 16	Körperwasser der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	64
Tabelle 17	Körperwasser der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	64
Tabelle 18	Fettmasse der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	65
Tabelle 19	Fettmasse der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	65
Tabelle 20	Magermasse der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	66
Tabelle 21	Magermasse der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	66
Tabelle 22	Körperzellmasse der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	67
Tabelle 23	Körperzellmasse der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	67
Tabelle 24	Bestimmung des extrazellulären Volumens der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	68
Tabelle 25	Bestimmung des extrazellulären Volumens der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	68
Tabelle 26	Phasenwinkel der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	69
Tabelle 27	Phasenwinkel der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	70
Tabelle 28	Zellanteile der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	70

Tabellenverzeichnis

Tabelle 29	Zellanteile der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven.....	71
Tabelle 30	Erschöpflichkeits-Fragebogen (Fatigue-Fragebogen).....	72

Abkürzungsverzeichnis

ABC	Abacavir
AC	Acylcarnitin
Acetyl-CoA	Acetyl-Coenzym A (aktivierte Essigsäure)
Acyl-CoA	Acyl-Coenzym A
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
APH	Alkalische Phosphatase
ART	Antiretrovirale Therapie
ATP	Adenosintriphosphat
AZT	Zidovudin
BCM	Body Cell Mass (Körperzellmasse)
bDNA	branched DNA (verzweigte DNA)
BF	Body Fat (Körperfett)
BIA	Bioelektrische Impedanzanalyse
BMI	Body-Maß-Index
CD	Cluster of Differentiation
CDC	Centers for Disease Control
Cl ⁻	Chlorid-Ion
CMV	Cytomegalievirus
CO ₂	Kohlendioxid
ddC	Zalcitabin
DDI	Didanosin
DEXA	Dual-energy X-Ray-Absorptiometrie
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
dl	Deziliter
DNA	Deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukeinsäure)

Abkürzungsverzeichnis

D4T	Stavudin
ECM	Extracellular Mass (Extrazelluläres Volumen)
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (Ethylen-Diamin-Tetra-Azetat; Äthylendiamintetraessigsäure)
FC	Freies Carnitin
FM	Fat Mass (Körperfett)
FTC	Emtricitabin
g	Gramm
Gä	Genomäquivalente
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HAART	Highly Active Antiretroviral Therapy (Hochaktive antiretrovirale Therapie)
h	hour (Stunde)
Hb	Hämoglobin
HbA _{1c}	Hämoglobin A1c
HCO ₃ ⁻	Hydrogencarbonat
H ₂ O	Diwasserstoffmonoxid (Wasser)
HDL	High Density Lipoproteins (Lipoproteine hoher Dichte)
HIV	Human Immunodeficiency Virus
Ht	Height (Größe)
IQR	Interquartilsabstand
k	Geschlechtsabhängige Konstante
kg	Kilogramm
l	Liter
LAS	Persistierende generalisierte Lymphadenopathie
LBM	Lean Body Mass (Magermasse)
LDL	Low Density Lipoproteins (Lipoproteine niedriger Dichte)
MAC	Mycobacterium avium complex (Atypische Mykobakteriose)

Abkürzungsverzeichnis

m	meter (Meter)
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mtDNA	Mitochondriale DNA
n	Gesamtzahl
ng	Nanogramm
NA ⁺	Nicotinamid-Adenin (oxidierte Form)
NAD ⁺	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (oxidierte Form)
NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (reduzierte Form)
NADP ⁺	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (oxidierte Form)
NNRTI	Nicht-nukleosidaler Reverse-Transkriptase-Inhibitor
NRTI	Nukleosidaler Reverse-Transkriptase-Inhibitor
NtRTI	Nukleotidanaloge Reverse-Transkriptase-Inhibitoren
oGTT	oraler Glukosetoleranztest
Pa	Phasenwinkel
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerasekettenreaktion)
PcP	Pneumocystis-jirovecii-Pneumonie
PI	Protease-Inhibitor
PML	Progressive multifokale Leukenzephalopathie
R	Resistenz
RKI	Robert-Koch-Institut
RNA	Ribonucleic Acid (Ribonukleinsäure)
RT	Reverse Transkriptase
rtPCR	real-time Polymerase Chain Reaction
TBW	Total Body Water (Gesamtkörperwasser)
TDF	Tenofovir
TSH	Thyroidea stimulierendes Hormon
T3	Trijodthyronin
T4	Thyroxin
U	Unit (Einheit)
v. a.	vor allem

Abkürzungsverzeichnis

WHO	World Health Organization
Wt	Weight (Körpergewicht)
Xc	Reaktanz, Impedanz
γ	Gamma
3TC	Lamivudin
°	Grad (Drehwinkel)
μg	Mikrogramm
μl	Mikroliter
*	Extremer Ausreißer
o	Milder Ausreißer
\geq	größer/gleich
<	kleiner
®	Eingetragene Marke
%	Prozent

1. Einleitung

1.1 Überblick über HIV und AIDS

Im Sommer 1981 berichtete das amerikanische Center for Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta, Georgia, USA) von einer unerklärlichen Häufung von Kaposi-Sarkomen und Pneumocystis-carinii-Pneumonien unter bis dahin gesunden Homosexuellen in New York und Los Angeles. Bis dahin waren diese beiden Krankheitsbilder nur sehr selten und dann bei schwer immunsupprimierten Patienten beobachtet worden. Es wurde ein neues Krankheitsbild unter dem Begriff „Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS)“ definiert [55].

Zwei Jahre später wurde der krankheitsauslösende Erreger, das Human Immunodeficiency Virus (HIV) identifiziert. Es gelang Wissenschaftlern um Dr. Luc Montagnier am Pasteur-Institut in Paris in Kooperation mit der Forschergruppe um Dr. Robert Gallo am National Cancer Institute in Bethesda in den USA das Virus aus Lymphozyten eines an AIDS erkrankten Patienten zu isolieren [2, 42]. Es wird mittlerweile in drei große Untergruppen M, N und O unterteilt. Die Gruppe M wird weiter in die Subtypen A–J klassifiziert. HIV-1 unterscheidet sich in seiner Nukleotidsequenz deutlich von HIV-2, welches 1985 entdeckt wurde und gehäuft bei westafrikanischen Patienten vorkommt und einen meist milderen Krankheitsverlauf bedingt [41, 55, 59]. HIV-2 wird in die Subtypen A–F aufgeteilt.

Voraussetzung für eine Infektion mit HIV ist der direkte Kontakt mit infizierten Körpersekreten bzw. -flüssigkeiten, so dass das Virus fast ausschließlich durch Sexualverkehr (Sperma und Vaginalsekret), durch gemeinsames Benutzen von Spritzen unter Drogenabhängigen (Blut) sowie durch vertikale Transmission von der Mutter auf das Kind entweder intrauterin, unter der Geburt oder durch die Muttermilch übertragen wird. Die Übertragung von HIV durch Blut und Samenflüssigkeit bzw. Vaginalsekret ist abhängig von der Menge und von der Infektiosität des HIV-Infizierten. So sind die Viruskonzentration und damit die Infektiosität kurz nach erfolgter HIV-Infektion besonders hoch und beginnen erst mit Auftreten von Anti-HIV-Antikörpern (sog. Serokonversion) abzufallen. Auch eine Infektion über kontaminierte Blutprodukte ist möglich. Diese ist jedoch in Deutschland mit Einführung flächendeckender Antikörpersuchtests gegen HIV-1 (seit 1985) und HIV-2 (ab 1989) sowie Virus-Genom-Screens für Blutprodukte äußerst selten geworden [36]. Seitdem beträgt das Risiko, über Spenderblut infiziert zu werden, weniger als 1 : 1 000 000 [43]. Die Viruskonzentrationen in Speichel, Schweiß und Tränenflüssigkeit sind, wenn überhaupt messbar, sehr viel niedriger und kommen deshalb als Übertragungsmedium kaum in Betracht. Infizierungen durch Tröpfcheninfektion oder Insektenstiche wurden bisher nicht beobachtet [36, 59].

1.2 Klassifikation der HIV-Infektion und AIDS

HIV-infizierte Patienten werden nach der 1993 revidierten CDC-Klassifikation in drei klinische und drei CD4-Zellzahlkategorien eingeteilt. Dabei entsprechen die klinischen Kategorien den Stadien der Erkrankung. Diese sind durch die jeweiligen opportunistischen Erkrankungen geprägt [18, 40].

Laborkategorie (CD4-Zellen/ μ l Blut)	Klinische Kategorie A (asymptomatisch)	Klinische Kategorie B (Symptome, kein AIDS)	Klinische Kategorie C (Symptome, AIDS)
1: ≥ 500	A1	B1	C1
2: 200–499	A2	B2	C2
3: < 200	A3	B3	C3

Tabelle 1 CDC-Klassifikation der HIV-Infektion und AIDS [18, 40]

Klinische Kategorie A

- Asymptomatische HIV-Infektion
- Akute, symptomatische (primäre) HIV-Infektion (auch in der Anamnese)
- Persistierende generalisierte Lymphadenopathie (LAS)

Klinische Kategorie B

Symptome bzw. Erkrankungen, die nicht zu den AIDS-definierenden Krankheiten zählen, aber dennoch der HIV-Infektion ursächlich zuzuordnen sind oder auf eine Störung der zellulären Immunabwehr hindeuten:

- Bazilläre Angiomatose
- Oropharyngeale Candida-Infektion
- Vulvovaginale Candida-Infektion, entweder chronisch oder schlecht therapierbar
- Zervikale Dysplasie oder Carcinoma in situ
- Rezidivierende Fieberschübe
- Diarrhoe länger als 4 Wochen
- Orale Haarleukoplakie
- Herpes zoster (Rezidiv oder Befall mehrerer Dermatome)
- Idiopathische thrombozytopenische Purpura
- Listeriose

- Entzündungen des kleinen Beckens, besonders bei Komplikationen eines Tuben- oder Ovarialabszesses
- Periphere Neuropathie

Klinische Kategorie C

AIDS-definierende Erkrankungen

- Pneumocystis-jirovecii-Pneumonie (PcP)
- Toxoplasma-Enzephalitis
- Candida-Infektion der Speiseröhre oder Befall von Bronchien, Luftröhre oder Lungen
- Chronische Herpes-simplex-Ulzera oder Herpes-Bronchitis, Herpes-Pneumonie oder -Ösophagitis
- CMV-Retinitis
- Generalisierte Zytomegalie-Infektion (nicht von Leber oder Milz)
- Rezidivierende Salmonellen-Septikämien
- Rezidivierende Pneumonien innerhalb eines Jahres
- Extrapulmonale Kryptokokkose
- Chronische intestinale Kryptosporidiose
- Chronische intestinale Isopsoriasis
- Disseminierte oder extrapulmonale Histoplasmose
- Tuberkulose
- Infektion mit Mycobacterium avium complex (MAC) oder Mycobacterium kansasii, disseminiert oder extrapulmonal
- Kaposi-Sarkom
- Maligne Lymphome
- Invasives Zervixcarcinom
- HIV-Enzephalopathie
- Progressive multifokale Leukenzephalopathie (PML)
- Wasting-Syndrom

1.3 Epidemiologie

In Deutschland waren Ende 2008 circa 63 500 Menschen mit HIV infiziert. Darunter lebten etwa 10 500 im Stadium AIDS. Ungefähr 51 800 der Infizierten waren Männer, 11 700 waren Frauen und circa 200 Personen waren Kinder. Die Zahl der Neuinfektionen stieg in den vergangenen Jahren leicht an und lag 2007 bei 2 752 und 2008 bei 2 806. Der größte Anteil der Neuinfektionen erfolgte mit ca. 65% bei homosexuellen Männern, gefolgt von 17% bei Personen mit heterosexuellen Kontakten. 12% der HIV-Neudiagnosen stammten von Personen, die aus Ländern mit einer hohen HIV-Prävalenz in der allgemeinen Bevölkerung stammten. 5% waren der Risikogruppe des intravenösen Drogenabusus zuzuordnen. Der Anteil der durch Mutter-Kind-Transmission infizierten Neugeborenen lag weit unter 1%. Insgesamt infizierten sich nach RKI-Meldedaten in Deutschland seit Beginn der Epidemie etwa 83 000 Personen mit dem HI-Virus, circa 27 500 HIV-/AIDS-Patienten sind in Deutschland an der Infektion verstorben [23, 30].

1.4 Replikation des HI-Virus

Sobald das Virus in den Körper eingedrungen ist, kann es Zellen, die einen CD4-Rezeptor an ihrer Oberfläche tragen, infizieren. Man findet diese CD4-Moleküle auf folgenden Zellen: T-Helferzellen, Monozyten, Makrophagen, eosinophile Lymphozyten, dendritische Retikulumzellen, Endothelzellen des Gehirns und Mikrogliazellen.

Nach Eintritt des Virus in die Wirtszelle wird das Virusgenom, das aus zwei identischen RNA-Molekülen besteht, in einzelsträngige DNA mit Hilfe der viruseigenen Reversen Transkriptase (RT) umgeschrieben. Diese wird zur doppelsträngigen DNA vervollständigt und kann dadurch in das Wirtsgenom integriert werden. Anschließend kann mit Hilfe der zellulären

Transkriptase neue Virusgenom-RNA hergestellt werden, welche in neu entstehende Viruspartikel eingebaut wird. Die Wirtszelle geht bei der Replikation zugrunde (zytopathischer Effekt), was für Retroviren – HIV zählt zu dieser Familie – eine Ausnahme darstellt. Typisch für die HIV-Infektion ist die lange klinische Latenzphase sowie die damit einhergehende persistierende Virämie [38]. Die Viruslast ist während der akuten HIV-1-Infektion zum Teil sehr hoch und kann Werte von über 100 Millionen Kopien/ml Serum erreichen. Mit Einsetzen der Immunantwort fällt die Virämie deutlich ab, um sich auf einen sogenannten individuellen Setpoint einzupendeln. Dieser stellt einen Prädiktor für die langfristige Krankheitsprogression dar [50].

1.5 Therapie der HIV-Infektion

Die unbehandelte Infektion mit HIV führt nach durchschnittlich 10 Jahren zur ausgeprägten Immundefizienz mit schweren, lebensbedrohlichen Komplikationen und infolgedessen zum Tod.

Mit Einführung der Monotherapie 1987 mit Nukleosidanaloga (NRTI, Nukleosidale Reverse-Transkriptase-Inhibitoren) bestand erstmals die Möglichkeit, Patienten antiretroviral zu therapieren. Jedoch zeigte sich schon nach kurzer Zeit die langfristige Ineffektivität dieser Therapie, da bereits nach wenigen Monaten bei vielen Patienten resistente Virusstämme selektiert wurden.

Der Durchbruch gelang 1996 mit Einführung der Protease-Inhibitoren (PI) als zweite anti-retrovirale Substanzklasse. Hiermit war es in Kombination mit NRTIs erstmals möglich, die Virusreplikation anhaltend zu supprimieren, die Immunfunktion partiell zu regenerieren und damit die Krankheitsprogression zu stoppen. Hierdurch ließ sich eine Verlängerung der Lebenserwartung, Erhaltung bzw. Verbesserung der Lebensqualität,

Vermeidung von HIV-assoziierten Erkrankungen und die Senkung der Infektiosität der Patienten erreichen. Dies war der Beginn der HAART („Highly Active Antiretroviral Therapy“, hochaktive antiretrovirale Therapie). Heute stehen als weitere Medikamentengruppen zusätzlich sogenannte Nicht-Nukleosidale Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NNRTI) und Nukleotidanalogue Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NtRTI), seit Mai 2003 Entry-Inhibitoren und seit 2008 auch Integrase- und CCR5-Inhibitoren zur Verfügung [32]. Bislang werden in der klassischen HAART jeweils zwei Nukleosidanaloga mit einem weiteren NRTI, PI oder NNRTI kombiniert, so dass man von einer Dreifachtherapie spricht [29, 36].

1.6 Mitochondriale Toxizität

Bereits wenige Jahre nach Einführung der Proteaseinhibitoren zusätzlich zu den NRTIs zeigten sich bei vielen HIV-Patienten unter HAART Stoffwechseleränderungen und Fettumverteilungsstörungen, die unter dem Begriff Lipodystrophie zusammengefasst wurden. Hierunter versteht man eine Fettumverteilungsstörung mit Lipoatrophie im Gesicht, an den Extremitäten sowie am Gesäß. Diese wird pathogenetisch hauptsächlich mit NRTIs in Verbindung gebracht. Seltener zeigt sich eine Zunahme des Fettgewebes intraabdominal, am Nacken sowie bei Frauen im Brustbereich, welche vorwiegend als Nebenwirkung der Proteasehemmer angesehen wird. Zusätzlich kann es zu weiteren metabolischen Veränderungen im Zuckerstoffwechsel (gestörte Glukosetoleranz, Insulinresistenz, Diabetes mellitus) und Fettstoffwechsel (Hypercholesterinämie, Hypertriglyceridämie, erhöhte freie Fettsäuren sowie erniedrigte High Density Lipoproteine (HDL)) kommen [10, 11, 16, 17].

Mittlerweile wird das Lipodystrophie-Syndrom als Nebenwirkung der einzelnen HAART-Komponenten mit jeweils unterschiedlichen

Pathomechanismen angesehen [46, 53]. Der hauptsächliche Wirkmechanismus, über den Nucleosidanaloga zu Organ- und Stoffwechseleränderungen führen, wird mit dem Begriff der mitochondrialen Toxizität beschrieben [8]: Durch die Medikation mit NRTIs kommt es durch Inhibition der mitochondrialen Polymerase γ [35, 44] zu einer verminderten Synthese der ATP herstellenden Enzyme und damit von ATP selbst. Die Polymerase γ ist eine von fünf humanen DNA-Polymerasen, wobei speziell diese für die Replikation der mitochondrialen DNA (mtDNA) verantwortlich ist. Durch Blockierung dieses Enzyms mittels Nucleosidanaloga einbau kommt es zum Kettenabbruch, was zu einer verminderten mitochondrialen DNA-Synthese führt, so dass neu gebildete Mitochondrien mit jeder neuen Zellteilung immer weniger eigene mtDNA besitzen (Depletion). Dies bedingt eine Störung der Proteinbiosynthese einzelner Enzymkomplexe der Atmungskette, welche ab einem bestimmten Grad in eine mitochondriale Dysfunktion mündet.

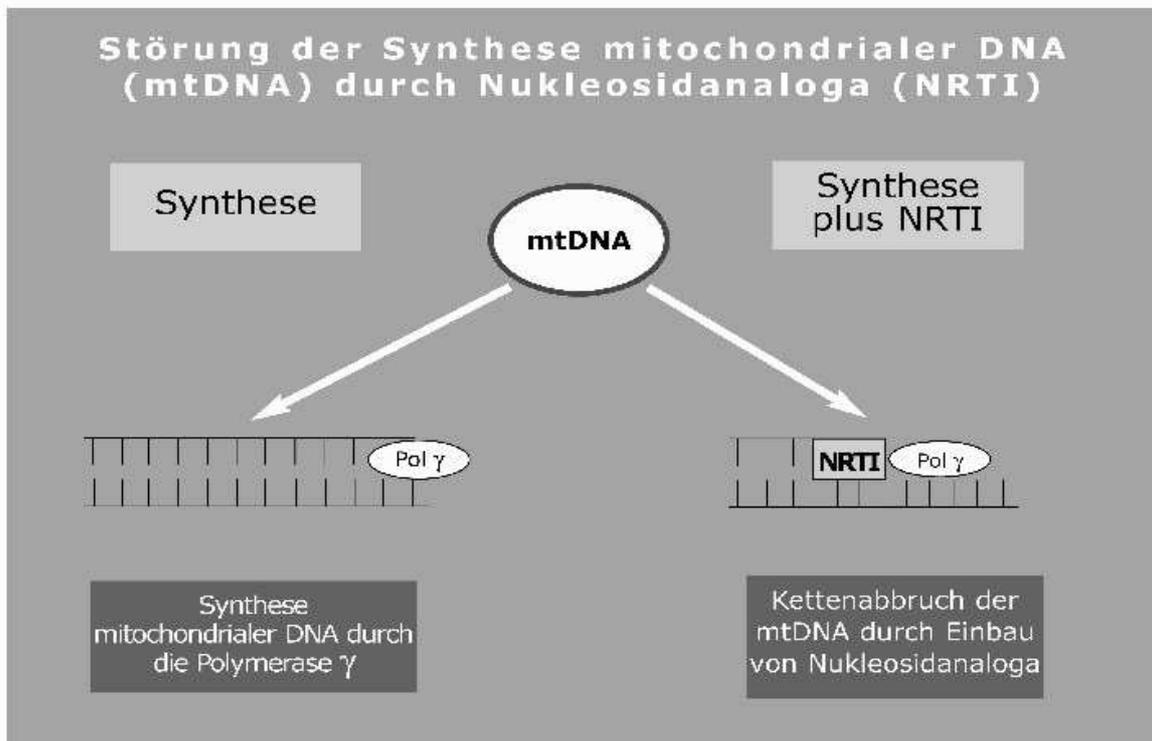


Abbildung 1 Kettenabbruch der mtDNA nach Einbau von Nucleosidanaloga (NRTI)

Die Atmungskette ist an der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert und hat die zentrale Aufgabe der Energiegewinnung durch oxidative Phosphorylierung in Form von ATP. Sie stellt damit den letzten und einheitlichen Abbauweg von Kohlenhydraten, Fetten und Proteinen dar. Bei gestörter Funktion der Atmungskette können Kohlenhydrate, Fette und Proteine nicht mehr regelhaft abgebaut werden und sammeln sich als Stoffwechselzwischenprodukte des jeweiligen Abbaues vor den entsprechenden Enzymen und können in erhöhten Konzentrationen im Blut nachgewiesen werden.

Die Folgen der mtDNA-Depletion können sich klinisch an zahlreichen Organ- und Stoffwechseleränderungen manifestieren:

- Lipodystrophie-Syndrom, wie bereits oben beschrieben
- Mitochondriale Myopathie
- Polyneuropathie
- Nephrotoxizität
- Kardiotoxizität
- Lebertoxizität
- **Erhöhter Serumlaktatspiegel
(Hyperlaktatämie/Laktatazidose)**

Die klinische Relevanz der mitochondrialen Toxizität für Knochen, Pankreas, Reproduktionsorgane sowie Lymphozyten ist noch unklar [70].

1.7 Hyperlaktatämie und Laktatazidose als Folge der mitochondrialen Toxizität unter Nukleosidanaloga-therapie

Unter der notwendigen antiretroviralen Dauertherapie werden neben der erwünschten Senkung der Viruslast häufig akute und chronische Nebenwirkungen beobachtet. Übelkeit, Kopfschmerzen, Diarrhoe und Exantheme können unter jedem antiretroviral wirkenden Medikament auftreten.

Die Laktatazidose hingegen ist eine spezifische Nebenwirkung, die bei Patienten unter NRTI-Medikation mit Didanosin (Videx[®]), Stavudin (Zerit[®]), Lamivudin (Epivir[®]), Abacavir (Ziagen[®]), Tenofovir (Viread[®]) und seltener Zidovudin (AZT, Retrovir[®]) auftreten kann. Mit einer Inzidenz von 3,9/1 000 Patientenjahren manifestiert sie sich sehr selten, führt im Verlauf jedoch häufig zu lebensbedrohlichen Komplikationen [34]. Hierbei handelt es sich um einen Abfall des arteriellen pH-Werts durch vermehrten Anfall von Laktat, wobei der Normwert bei 1–1,8 mmol/l liegt. Die sog. Anionenlücke ($\text{Na}^+ - (\text{HCO}_3^- + \text{Cl}^-)$) muss hierbei nicht immer verkleinert sein (normal 8–16 mmol/l). Die Letalität steigt bei Laktatwerten über 10 mmol/l auf circa 80% an [12, 13, 14, 15, 24, 64].

Wie bereits oben erläutert, geht man derzeit davon aus, dass es durch die Medikation mit NRTIs zu einer Inhibition der mitochondrialen Polymerase γ mit konsekutiv verminderter Synthese der ATP herstellenden Enzyme sowie insgesamt zu einer erniedrigten Bereitstellung von ATP kommt (mitochondriale Toxizität). Bei Dysfunktion der Atmungskette können Kohlenhydrate, Fette und Proteine nicht mehr regelgerecht abgebaut werden. Die normale Verstoffwechslung von Glukose verläuft über Pyruvat, das im Mitochondrium zum Hauptsubstrat des Citratzyklus, Acetyl-CoA, umgewandelt wird. Bei Dysfunktion der Atmungskette entwickelt sich ein veränderter Redoxstatus: Aufgrund des stockenden Wasserstoff- und Elektronentransports erhöht sich das Verhältnis des Coenzym NADH zu seiner oxidierten Form NAD^+ . NADH kann nicht mehr oder nur ungenügend über die Atmungskette re-oxidiert werden und nutzt stattdessen die Reduktion von Pyruvat zu Laktat, um auf diese Weise $\text{NADH} + \text{H}^+$ zu NAD^+ zu regenerieren (= re-oxidieren). Es entsteht Laktat mit der Folge einer Hyperlaktatämie bzw. Laktatazidose.

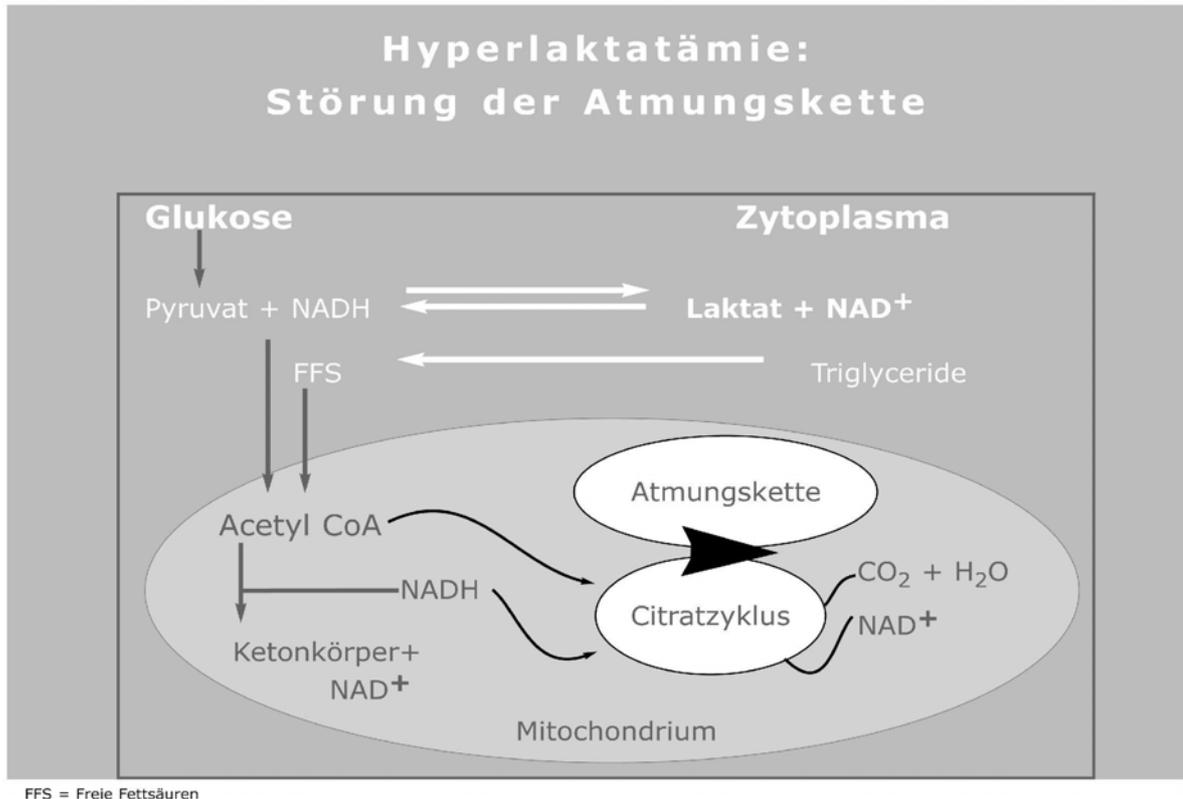


Abbildung 2 Hyperlaktatämie: Störung der Atmungskette

Die Laktatazidose muss klinisch von einer asymptotischen Hyperlaktatämie differenziert werden, die bei etwa 15–35% der mit NRTI behandelten Patienten auftritt [13, 14, 31, 57]. Nach Beginn der Therapie mit NRTIs steigt der Serum-Laktat-Spiegel signifikant an, um dann in der Regel zwischen 1,5 und 3 mmol/l stabil zu bleiben [34]. Berichtete Fälle von massiven Laktatazidosen unter NRTIs traten alle ohne vorherige symptomatische Hyperlaktatämie auf, so dass eine routinemäßige Bestimmung von Laktat bei asymptotischen Patienten zwecklos ist [9, 64]. Aufgrund der unspezifischen Klinik der Laktatazidose besteht die Indikation der Laktatbestimmung bei symptomatischen Patienten, die über Müdigkeit, abdominelle Beschwerden, Übelkeit und Erbrechen, plötzlichen Gewichtsverlust oder plötzliche Atemnot klagen. Auch Patienten, die nach einer Laktatazidose erneut auf eine NRTI-haltige Therapie gesetzt werden, sollten ebenso wie schwangere Patientinnen mit NRTI-Medikation hinsichtlich ihrer Laktatspiegel kontrolliert werden [14, 15]. Da, wie

bereits oben beschrieben, die Anionenlücke nicht zwingend verkleinert sein muss, ist man bei begründetem Verdacht auf eine Laktatazidose auf eine Laktatbestimmung angewiesen. Hierzu muss das venöse Blut am nicht gestauten Arm des ruhenden Patienten in einem Fluoridröhrchen abgenommen werden und sofort auf Eis gekühlt ins Labor gebracht werden. Die Blutprobe muss innerhalb von vier Stunden verarbeitet werden. Bestätigt das Labor den Verdacht auf eine Laktatazidose, sollten auch nicht-mitochondriale Ursachen für eine Laktatazidose differentialdiagnostisch berücksichtigt werden (Tabelle 2):

Typ A-Laktatazidose (durch Gewebshypoxie)	Typ B-Laktatazidose (durch andere Mechanismen)
<ul style="list-style-type: none"> • Schock • Herzversagen • Kohlenmonoxidvergiftung 	<ul style="list-style-type: none"> • Alkalose • Thiaminmangel • Krampfanfälle • Leberinsuffizienz • Neoplasien • Adrenalin (iatrogen, endogen) • Vergiftung • Fruktose • Seltene Enzymdefekte • mtDNA-Mutationen • mtDNA-Depletion

Tabelle 2 Ursachen einer Hyperlaktatämie/Laktatazidose [70]

Ein abwartendes Beobachten empfiehlt sich bei Patienten unter HAART mit Laktatwerten zwischen 3 und 5 mmol/l mit regelmäßigen Laborkontrollen des Laktats. Hier kann auch ein Wechsel der NRTI-Therapie bei zuvor überprüfter Resistenzlage von zum Beispiel D4T/DDI auf andere NRTIs sinnvoll sein. Steigt das Laktat auf Werte über 5 mmol/l, sollte der NRTI abgesetzt und eine supportive Therapie zur Azidosekorrektur eingeleitet

werden. Diese besteht aus einer Mischung verschiedener Vitamine (C, B1, B2, B6 sowie Coenzym Q10) und kann zusätzlich durch Carnitin ergänzt werden. Die Gabe von Sauerstoff, Meidung vasokonstriktorischer Substanzen, Hb-Erhöhung auf über 10 g/dl, Korrektur einer Hypoglykämie sowie die eventuelle Gabe von Bikarbonat ergänzen die supportiven Therapiemaßnahmen. Ein neuer therapeutischer Ansatz zur Therapie der NRTI-induzierten Laktatämie besteht in der Gabe von Uridin. Neuere Studien zeigen, dass unter Uridintherapie der Spiegel an funktionstüchtiger mitochondrialer DNA angehoben werden kann. Hier konnte Ulrich A. Walker 2003 [67] anhand von Hepatozyten belegen, dass sämtliche aus der mtDNA-Depletion resultierende Konsequenzen, neben der Laktatazidose auch das reduzierte Zellwachstum, Zelltod und Steatose, verhindert wurden. Weiterhin normalisierte sich, selbst unter fortgesetzter NRTI-Therapie, die Zellfunktion.

1.8 Ziel der Arbeit

Es ist seit längerer Zeit bekannt, dass bei HIV-Patienten unter antiretroviraler Therapie mit NRTIs Laktatazidosen mit zum Teil tödlichen Verläufen auftreten können. Einigen mit Nukleosidanaloga (NRTI) therapierten Patienten (circa 15–35%) ist dabei gemeinsam, dass der Basis-Serum-Laktatspiegel regelmäßig ohne klinische Symptomatik erhöht ist [12, 13, 31]. Berichtete Fälle von massiven Laktatazidosen unter NRTI-Medikation traten ohne vorherige symptomatische Hyperlaktatämien auf, so dass die routinemäßige Bestimmung von Serumlaktat keinen Hinweis für eine Prädisposition für das Auftreten schwerer Laktatazidosen darstellt [9, 64].

Für die Betreuung der Patienten unter ART, insbesondere bei Medikation mit NRTIs, ist es wichtig, einen oder mehrere Parameter zu finden, die es ermöglichen, diejenigen Patienten aus dem Patientenkollektiv zu

selektieren, die für das Auftreten einer lebensbedrohlichen Laktatazidose prädisponiert sind.

In dieser Arbeit wurden deshalb Patienten einer HIV-Kohorte ohne Therapie und unter verschiedenen antiretroviralen Therapieformen hinsichtlich lipodystrophierelevanter Parameter untersucht. Hierzu wurden Kohlenhydratstoffwechsel-, Fettstoffwechsel- und Schilddrüsenparameter sowie die HIV-Surrogatmarker in den verschiedenen Patientengruppen analysiert. Ergänzt wurde die Patientencharakteristik durch die quantitative Bestimmung des Serum-Carnitinspiegels sowie des Carnitin-Musters mittels Tandem-Massenspektrometrie (Carnitin als Carrier für Acyl-CoA, dem metabolisierten Acetyl-CoA, durch die innere Mitochondrienmembran), die Analyse der Körperzusammensetzung durch eine bioelektrische Impedanzanalyse zur Aufdeckung einer möglichen Lipodystrophie sowie die Erhebung der subjektiven Erschöpflichkeit mit Hilfe eines Fatigue-Fragebogens. Zusätzlich wurde der orale Glukosetoleranztest als Provokationstest hinsichtlich seiner Potenz evaluiert, latente Störungen der Atmungskettenenzyme unter antiretroviraler Therapie aufzudecken. Dazu wurde der Laktat- und Glukoseverlauf der Patienten in den vier verschiedenen Therapiegruppen nach oraler Glukosebelastung analysiert und verglichen. Schließlich wurde evaluiert, ob sich mittels quantitativer Bestimmung der mitochondrialen DNA in peripheren Blutzellen (Lymphozyten) sowie in Einzelfällen bei Vorliegen einer Leberbiopsie aus Hepatozyten eine Depletion mitochondrialer Nukleinsäuren unter antiretroviraler Therapie nachweisen lässt.

2. Probanden, Material und Methoden

2.1 Probandenauswahl

Die Probanden der Studie wurden aus dem Patientenkollektiv der Infektions-Ambulanz der Medizinischen Klinik II des Universitätsklinikums Gießen rekrutiert. Die Gruppe setzte sich aus 33 Patienten zusammen, die entsprechend der zuvor bestimmten Einschlusskriterien an einer HIV-1- oder HIV-1-/HIV-2-Doppelinfection erkrankt waren, mindestens 18 Jahre waren und eine Lebenserwartung von mehr als vier Wochen besaßen und bei denen nach den Konsenskriterien eine antiretrovirale Therapie notwendig war:

- CD4-Zellzahl < 500/µl und/oder
- Virusload von $\geq 10\,000$ Kopien/ml Serum und/oder
- HIV-assoziierte Symptome nach der CDC-Klassifikation.

Patienten, die eine niedrigere Lebenserwartung als vier Wochen hatten, an einer schweren Durchfallerkrankung litten, eine schwere Leber- oder Niereninsuffizienz aufwiesen, Laboranomalien vom WHO-Grad III oder IV binnen 15 Tage vor Studienbeginn präsentierten oder die in den ART-Gruppen 1–3 (siehe unten) eine CD4-Zellzahl < 150 CD4-Zellen/µl Blut und/oder eine nachweisbare Viruslast von mehr als 50 Kopien/ml Serum nach dreimonatiger Therapie zeigten, konnten aufgrund der Ausschlusskriterien nicht in die Studie mit einbezogen werden. Ebenfalls ausgeschlossen werden mussten schwangere Patientinnen.

Unter den 33 Patienten befanden sich 9 Frauen und 24 Männer. Insgesamt nahmen an der Studie 4 Schwarzafrikaner (12%) teil. Der restliche Anteil rekrutierte sich aus 29 kaukasischen Patienten (88%).

Die Zuordnung der Studienteilnehmer zu den speziellen Risikogruppen stellte sich wie folgt dar:

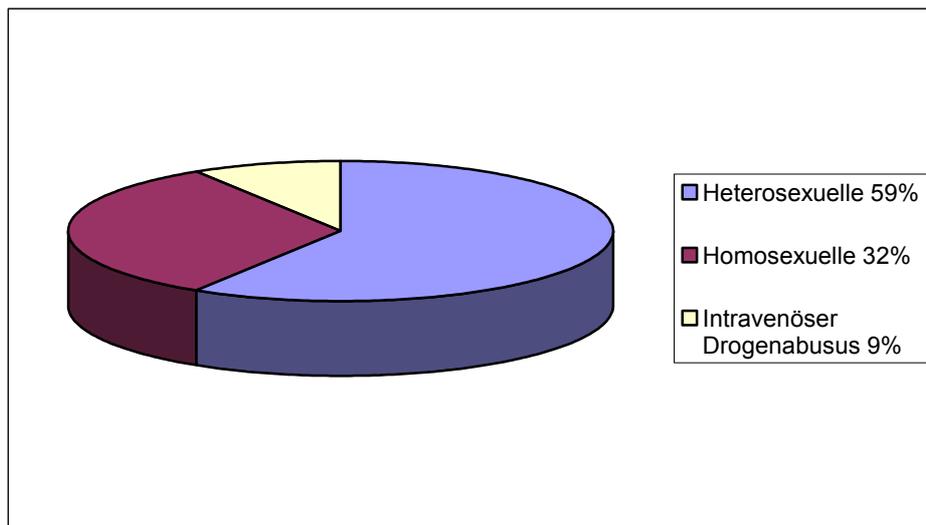


Abbildung 3 Patientenzugehörigkeit zu einer Risikogruppe

Die Patienten befanden sich bei Einschluss in die Studie nach CDC in unterschiedlichen Stadien der HIV-Infektion:

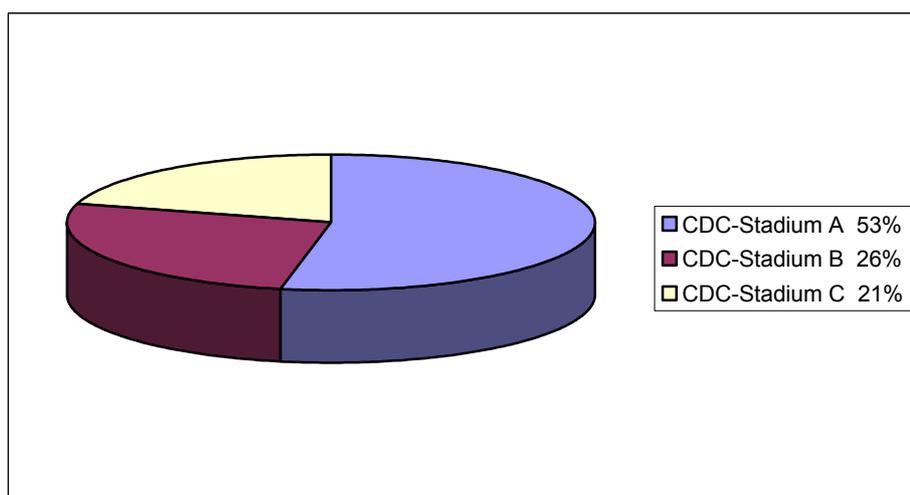


Abbildung 4 Stadienzugehörigkeit der Patienten nach CDC

Die Patienten wurden entsprechend ihrer Therapieform in vier verschiedene Gruppen eingeteilt:

- **Gruppe 1:** Elf Patienten (vier weibliche und sieben männliche Patienten) ohne ART (therapienaiv); Follow-up-Untersuchung drei Monate nach ART-Beginn fünf dieser Patienten, um die Patientenzahl zu erhöhen und dann entsprechend der Medikamentenkombination zusätzlich mit zu Gruppe 2–4 zählend.
- **Gruppe 2:** Elf Patienten (vier weibliche und sieben männliche Patienten) mit konvergenter Dreifachtherapie (Firstline nur NRTI) seit mindestens drei Monaten.
- **Gruppe 3:** Zehn Patienten (zwei weibliche und acht männliche Patienten) mit zwei NRTI und ein NNRTI (Firstline) seit mindestens drei Monaten.
- **Gruppe 4:** Sechs männliche Patienten mit zwei NRTI und ein PI (Firstline) seit mindestens drei Monaten, keine weiblichen Studienteilnehmer.

2.2 Durchführung der Messungen

Die nachfolgend beschriebenen Messungen wurden mit den Patienten kurz nach Einschluss in die Studie durchgeführt. Dazu kamen die Patienten jeweils am vereinbarten Termin morgens nüchtern in die Klinik. Zunächst wurde mit den Patienten zusammen ein Erschöpflichkeits-Fragebogen ausgefüllt. Danach erfolgte die bioelektrische Impedanzanalyse (BIA). Im Anschluss daran wurde ein oraler Glukosetoleranztest (oGTT) durchgeführt. Dabei wurden bei der Nüchternblutentnahme gleichzeitig Proben für die Carnitinbestimmung und für die mitochondriale DNA-Analyse (mtDNA) abgenommen sowie die HIV-Surrogatmarker und wichtige Laborparameter des Glukose-, Laktat- und Fettstoffwechsels bestimmt.

2.2.1 Bestimmungen der subjektiven Erschöpflichkeit mittels Fragebogen zur Erschöpflichkeit (Fatigue)

Bei dem für diese Studie verwendeten Erhebungsbogen handelt es sich um den Fragebogen zur Erschöpflichkeit (Fatigue), der von Herrn Prof. Dr. W. A. Nix und Herrn Dr. J. Hardt vom Institut für Psychosomatische Medizin und Psychotherapie der Universität Mainz zur Verfügung gestellt wurde.

Auf diesem doppelseitigen Bogen (s. Seite 19 und 20) macht der Patient Angaben über seinen Ermüdungs- und Erschöpfungszustand während seiner täglichen Aktivitäten innerhalb der letzten sieben Tage. Hauptsächlich werden die Antworten als Strich auf einer visuellen Analogskala zwischen „überhaupt nicht“ und „sehr ausgeprägt“ gesetzt. Bei zwei Fragen findet der Patient vorgegebene Antworten, zwischen denen er wählen kann.

Da dieser Fragebogen bisher nur für die USA und noch nicht für Deutschland validiert war, wurde zunächst Cronbachs Alpha bestimmt, um die interne Konsistenz des Fragebogens zu überprüfen. Cronbachs Alpha, das Maß für die interne Konsistenz, liegt bei 95,5%. Wenn Cronbachs Alpha einen relativ hohen Wert erreicht ($> 80\%$), wie in diesem Fall, ist dies ein sicheres Zeichen, dass dasselbe unterliegende Konstrukt gemessen wird, also eine hohe interne Konsistenz vorliegt. Das heißt, dass die Hauptskalen mit den entsprechenden Fragen übereinstimmen. Zusätzlich bedeutet dies auch, dass alle Items innerhalb einer Skala sich in eine Richtung verhalten (hoher positiver Zusammenhang).

Fragebogen zur Erschöpflichkeit (Fatigue) 1

© W. Nix, U.T. Egle (nach der amerikanischen Version von D. Buchwald)

Name: _____

geb.: ____ . ____ . ____

Diese Fragen beziehen sich auf die Ermüdung und den Effekt der Erschöpflichkeit auf Ihre tägliche Aktivität in der **letzten Woche**.

Bitte machen Sie durch einen senkrechten Strich auf der Linie deutlich, wie Sie die entsprechende Frage zwischen den beiden angegebenen Polen beantworten würden.

1.) In welchem Ausmaß haben Sie Ihre Erschöpflichkeit erlebt?

überhaupt nicht _____ sehr ausgeprägt

Falls Ihre Antwort "überhaupt nicht" lautet, hören Sie hier auf.

2.) Welche Stärke hat die Erschöpflichkeit, die Sie an sich erleben?

gering _____ sehr stark

3.) In welchem Ausmaß hat Sie die Erschöpflichkeit stimmungsmäßig eingeschränkt?

überhaupt nicht _____ sehr ausgeprägt

4.) Wie oft waren Sie während der letzten Woche erschöpft?

- jeden Tag
- oft, aber nicht täglich
- gelegentlich, aber nicht an den meisten Tagen
- kaum, fast an keinem Tag
- an keinem Tag



Abbildung 5 Fragebogen zur Erschöpflichkeit (Fatigue)

5.) In welchem Ausmaß hat sich Ihre Erschöpflichkeit innerhalb der letzten Woche geändert? (nur eine Antwort ankreuzen)

- vermehrt
- wechselnde Erschöpflichkeit
- unverändert
- vermindert
- habe letzte Woche keine Erschöpflichkeit erlebt

Markieren Sie nun, in welchem Ausmaß die Erschöpflichkeit Sie in den folgenden Tätigkeiten in der **letzten Woche** beeinträchtigt hat.

Bitte machen Sie durch einen senkrechten Strich auf der Linie deutlich, wie Sie die entsprechende Frage zwischen den beiden angegebenen Polen beantworten würden.

	überhaupt nicht		sehr ausgeprägt
bei der Hausarbeit	↓		↓
beim Kochen			
beim Baden oder Waschen			
beim Anziehen			
beim Arbeiten			
bei Besuchen oder bei Treffen mit Freunden oder der Familie			
bei sexueller Aktivität			
bei Freizeitaktivitäten			
beim Einkaufen			
beim Gehen			
bei anderen körperlichen Tätigkeiten als Gehen			

Abbildung 5 Fragebogen zur Erschöpflichkeit (Fatigue)

2.2.2 Beurteilung der Körperzusammensetzung mittels bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA) und Berechnung des Body-Mass-Index (BMI)

Die bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) stellt eine elektrische Widerstandsmessung in organischen Körpern dar. Mit ihr ist eine nichtinvasive Bestimmung der Körperzusammensetzung (body composition) durch ihre Teilkompartimente wie Gesamtkörperwasser (TBW, Total Body Water), Körperfett (FM, Fat Mass) und Magermasse (LBM, Lean Body Mass) möglich, wobei die Magermasse unterteilt ist in Körperzellmasse (BCM, Body Cell Mass) und extrazelluläre Masse (ECM, Extracellular Mass). Dies entspricht dem sogenannten Dreikompartiment-Modell [25]. Die BIA basiert auf der Leitfähigkeit einer angelegten elektrischen Wechselspannung innerhalb des Organismus. Wasser und Elektrolyte, die in großen Mengen in fettfreien Geweben, der sogenannten Magermasse, vorkommen, leiten den elektrischen Strom gut weiter, wohingegen die Zellen des Fettgewebes einen Widerstand (Impedanz) aufbauen [5]. Dadurch ist sie besonders dann von Interesse, wenn es gilt, die Körperzusammensetzung von Patientenkollektiven genauer zu evaluieren [25]. Im Rahmen dieser Studie diente sie dazu, sowohl einen umfassenden Überblick über die Körperzusammensetzung und damit den Ernährungszustand des Patienten zu erhalten als auch eine mögliche Lipodystrophie aufzudecken.

Mit den ebenfalls zu diesem Zeitpunkt erhobenen anthropometrischen Parametern Größe (m) und Gewicht (kg) konnte zusätzlich der Body-Mass-Index (BMI) als ein Parameter zur Beurteilung des Ernährungszustandes erhoben werden. Zur Berechnung des BMI wurde folgende Formel verwendet:

$$\text{BMI} = \text{Körpergewicht (kg)} / [\text{Körpergröße (m)}]^2$$

Klassifikation	männlich	weiblich
Untergewicht	< 20	< 19
Normalgewicht	20–25	19–24
Übergewicht	25–30	24–30
Adipositas	30–40	30–40
Massive Adipositas	> 40	> 40

Tabelle 3 BMI-Klassifikation (nach DGE, Ernährungsbericht 1992 [6])

Als Referenzwert gilt für Männer ein BMI von 20–25, für Frauen ein BMI von 19–24.

Praktische Durchführung der BIA-Messung:

Die BIA-Messung wird am entspannt liegenden, bekleideten Probanden bei angenehmer Raumtemperatur an der dominanten Körperseite (z.B. die rechte Körperhälfte bei Rechtshändern) durchgeführt. Die Arme dürfen nicht den Oberkörper berühren und die Beine sollten leicht gespreizt sein, so dass die Oberschenkel nicht miteinander in Kontakt treten. Es muss darauf geachtet werden, dass der Proband nicht mit metallenen Kopf- und Fußstücken des Bettes in Berührung kommt, da sich sonst das Wechselstromfeld auf das Bett ausdehnen und so zu falschen Ergebnissen führen kann. Weiterhin sollte die Harnblase entleert sein. Der Proband sollte seit mindestens vier bis fünf Stunden nüchtern sein. Der letzte Alkoholkonsum muss mindestens 24 Stunden zurückliegen. Die letzte sportliche Betätigung sollte mindestens zwölf Stunden zurückliegen. Infusionen sollten kurzzeitig während der Messung abgedreht werden. Die Haut an Hand- und Fußrücken wird vor Anbringung der Klebeelektroden mit nicht rückfettenden Substanzen wie Äthanol gereinigt. Um vergleichbare Ergebnisse innerhalb eines Kollektives zu erhalten, ist es wichtig, die exakte Platzierung der Elektroden einzuhalten.

Handelektroden:

Die Messelektrode wird idealerweise leicht distal einer gedachten horizontalen Linie durch das Ulnarköpfchen mittig auf das Handgelenk platziert. Die Fingerelektrode (Signalelektrode) wird am besten auf die Vertiefung zwischen 2. und 3. Metakarpalknochen proximal der Fingergrundgelenke gebracht (siehe Abb. 6).

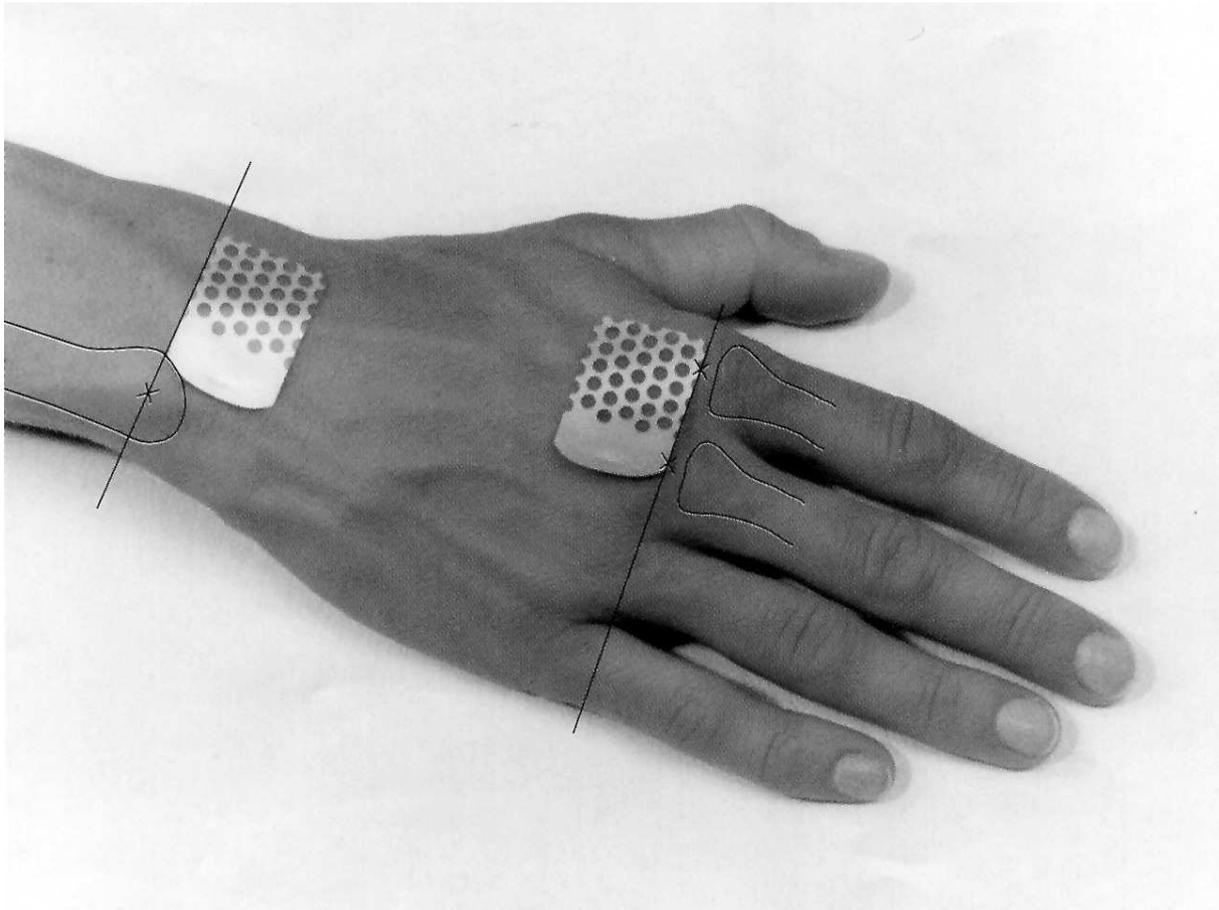


Abbildung 6 Korrekte Fingerelektrodenplatzierung [4]

Fußelektroden:

Die Messelektrode wird auf Höhe des Innenknöchels distal des tastbaren Sprunggelenksspaltes auf dem Fußrücken platziert. Die Zehenelektrode wird analog der Fingerelektrode angebracht (siehe Abb. 7).

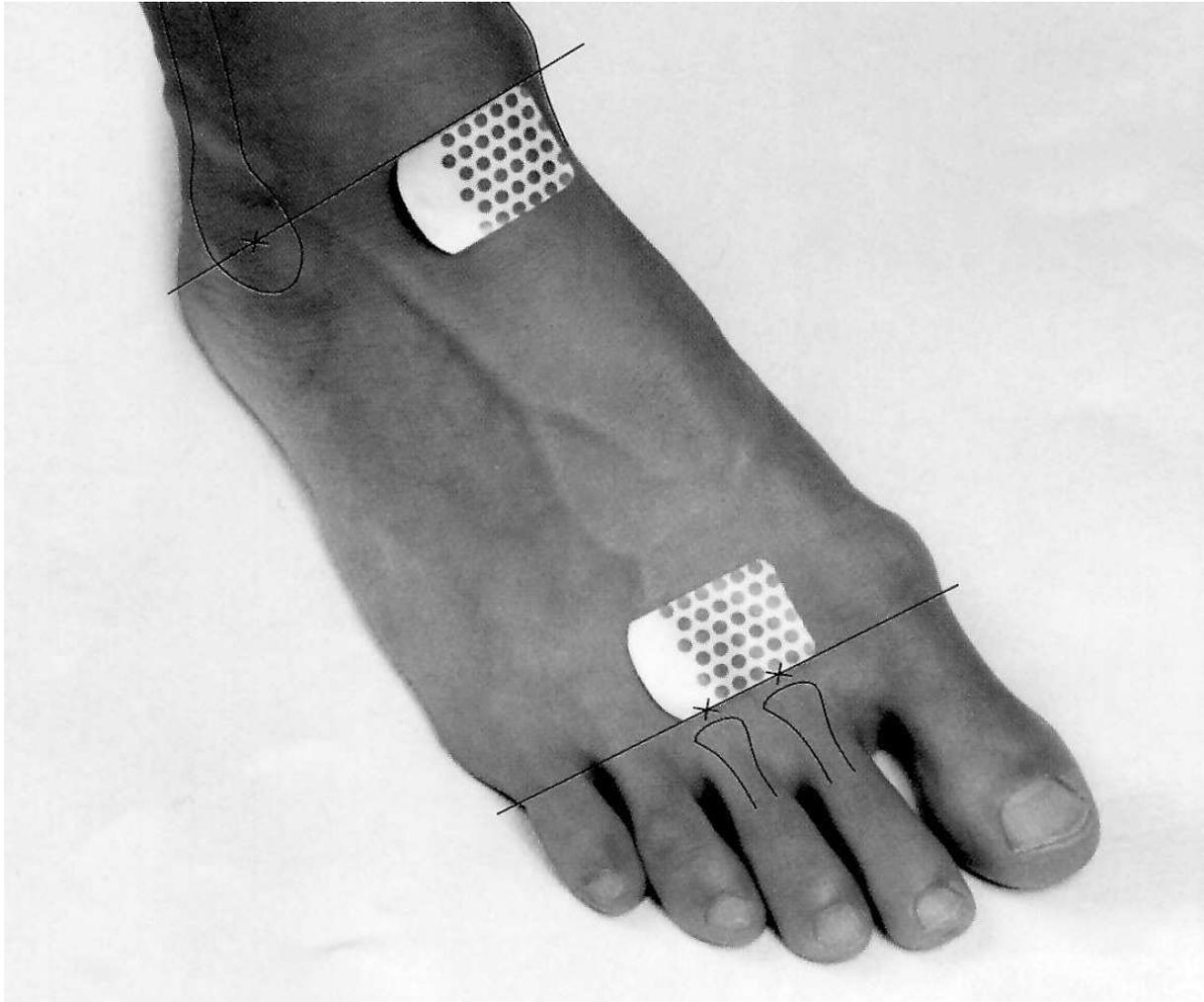


Abbildung 7 Korrekte Fußelektrodenplatzierung [4]

Diese Messung wurde mit Hilfe des Body Impedanz Analyzer B.I.A. 2000-1 von Data-Input, Frankfurt und selbstklebenden Elektroden der Marke Sentry Silver Circuit (Diagnostic Electrodes) durchgeführt. Die Messung dauert bis zu einer Minute. Hierbei wird über je zwei Hautelektroden an Hand und Fuß der gleichen Körperseite ein homogenes elektrisches Wechselstromfeld mit konstanter Stromstärke erzeugt [21]. Dabei werden folgende Werte gemessen [26]:

- Die Resistenz (R), die dem Ohmschen Widerstand bzw. dem Gesamtwiderstand des Körpers entspricht;
- die Reaktanz (Impedanz, Xc), die dem kapazitiven Widerstand entspricht, wobei jede einzelne Zellmembran des Körpers wie ein Kondensator wirkt;
- der Phasenwinkel (PA), Winkel, den der Reaktanzvektor in Bezug zum Resistenzvektor bildet.

Die Resistenz ist umgekehrt proportional zum Gesamtkörperwasser. Über multiple Regressionsgleichungen, die durch den Vergleich mit Standardmethoden entwickelt worden sind, wird mittels Resistenz, Reaktanz, Gewicht, Größe, Geschlecht und Alter die Magermasse berechnet. Die Differenz zum Körpergewicht ergibt die Fettmasse.

Die Berechnung der Magermasse (LBM; extrazelluläre Flüssigkeit und Muskulatur) erfolgt nach der Gleichung von Lukaski und Bolonchuk [45]:

$$\text{LBM (kg)} = 0,734 \times \text{Ht/R} + 0,116 \times \text{Wt} + 0,096 \times \text{Xc} + 0,878 \times \text{sex} - 4,03$$

Ht = Größe (cm)

R = Resistenz

Wt = Gewicht (kg)

Xc = Reaktanz

Sex: männlich = 1; weiblich = 0

Das Gesamtkörperwasser (TBW) wird nach der Formel von Gleichauf und Roe [28] berechnet:

$$\text{TBW (kg)} = 0,410 \times \text{Ht/R} + 0,137 \times \text{Wt} - 0,071 \times (\text{Alter}) + 4,41$$

Ht = Größe (cm)

R = Resistenz

Wt = Gewicht (kg)

Die Bestimmung der Zellmasse mittels der BIA ist aufgrund der Kondensatoreigenschaften der Gesamtheit der Zellmembranen möglich. Der kapazitive Anteil der Reaktanz (Impedanz) entsteht durch die Summe der Zellmembranen auf dem Weg des Stroms. Der kapazitive Widerstand führt zu einer messbaren Phasenverschiebung von Strom gegen Spannung, ausgedrückt durch den Phasenwinkel. Die Berechnung der Zellmasse (BCM), als Teilkomponente der Magermasse (LBM), erfolgt unter Verwendung des Phasenwinkels [25].

$$\text{BCM (kg)} = K \times \text{LBM} \times \text{PA}$$

LBM = Lean Body Mass

PA = Phasenwinkel

K = geschlechtsabhängige Konstante

Die extrazelluläre Masse (ECM) besteht aus dem extrazellulären Wasser und den extrazellulären Festbestandteilen wie Kollagenfasern und Knochenmatrix. Sie berechnet sich aus LBM – BCM [25].

Die Fettmasse (FM) ist die Differenz aus Körpergewicht (kg) und LBM (kg):

$$\text{FM (kg)} = \text{KG (kg)} - \text{LBM (kg)}$$

2.2.3 Orale Glukosetoleranztest (oGTT)

Der orale Glukosetoleranztest dient prinzipiell der Erkennung und Differenzierung präklinischer Formen des Diabetes mellitus [54]. In dieser Studie wurde der oGTT als Belastungs-/Provokationstest zur Messung des Laktatverlaufs und zum Aufdecken latenter Hyperlaktatämien, wie sie unter mitochondrialer Toxizität bei ungenügender Verstoffwechselung der Glukose durch eine Insuffizienz der Atmungskette auftreten können, genutzt.

Praktische Durchführung:

Bei Erwachsenen werden 75 g Glukose oder ein Glukoseäquivalent nach einer Nüchternblutentnahme in Form einer Lösung verabreicht. Es folgen Blutzucker- und Laktatbestimmungen 60, 120 und 180 Minuten nach oraler Glukosebelastung. Die optimale Durchführung des oGTT erfordert, dass der Patient in den drei vorhergehenden Tagen eine kohlenhydratreiche Kost von circa 200 g Kohlenhydrate pro Tag zu sich nimmt. Weiterhin sollte auf eine normale körperliche Aktivität bis zum Test geachtet werden. Vor dem oGTT ist eine 12-stündige Nüchternperiode einzuhalten, in der weder gegessen oder getrunken (eine Ausnahme stellt klares Wasser oder Mineralwasser dar) noch geraucht werden darf. Der Test sollte morgens begonnen werden. Die Lösung ist innerhalb von 5 Minuten zu trinken. Dabei sollte der Proband bequem sitzen, ohne zu essen, zu rauchen oder körperlich zu arbeiten. Zum Messzeitpunkt darf keine febrile Erkrankung vorliegen. Bei Frauen sollte der oGTT in der ersten Zyklushälfte, jedoch nicht an den ersten drei Tagen nach der Menstruation durchgeführt werden, da dies die Aussagefähigkeit des Tests einschränkt.

Stadium	Nüchtern-Plasma-Gukose	Gelegenheitsblutzucker	Oraler Glukose-Toleranztest (oGTT)
Normal	< 110 mg/dl		2 h-Wert < 140 mg/dl
Pathologische Glukose-Toleranz	≥ 110 < 126 mg/dl		2 h-Wert ≥ 140 < 200 mg/dl
Diabetes	≥ 126 mg/dl	≥ 200 mg/dl und Symptome eines Diabetes	2 h-Wert ≥ 200 mg/dl

Tabelle 4 Diagnostische Richtwerte zur Feststellung eines Diabetes mellitus (American Diabetes Association, ADA [63])

Der orale Glukosetoleranztest wurde mit Dextro O.G-T[®]. der Firma Hoffmann-La Roche, Grenzach-Wyhlen AG, durchgeführt.

2.3 Serumanalysen

2.3.1 Laborparameter des Kohlenhydratstoffwechsels

2.3.1.1 Glukose

Als Analysator zur Bestimmung von Glukose aus Blutserum diente im Zentrallabor des Klinikums der Justus-Liebig-Universität in Gießen ein Roche/Hitachi 917-Analysator der Firma Siemens. Gemessen wurde Glukose mit Hilfe eines enzymatischen Farb-Tests (Gluko-quant[®]) der Firma Roche Diagnostics, Mannheim, wobei Glukose im ersten Schritt durch Zugabe von ATP und Hexokinase zu Glukose-6-Phosphat phosphoryliert wurde. Diese wurde in Gegenwart von NADP und einer

Dehydrogenase zu Gluconat-6-Phosphat oxidiert. Das dabei entstandene NADPH wurde photometrisch gemessen, wobei die Geschwindigkeit der NADPH-Zunahme direkt proportional zur Glukosekonzentration war.

2.3.1.2 Laktat

Die Messung von Laktat im Patientenserum stellte eine enzymatische Methode zur Laktat-Bestimmung dar. Dabei wurde Laktat zu Pyruvat unter Wasserstoffperoxidbildung umgesetzt, welches in einer zweiten Reaktion für die Farbentwicklung verantwortlich war. Die beiden Reagenzien stammten von der Firma Roche Diagnostics, Mannheim (Best.-Nr. 1822837). Die Intensität dieser Farbe war der Laktatkonzentration proportional und wurde im Zentrallabor der Universitätsklinik Gießen mit dem Analysegerät Roche/Hitachi 917 der Firma Siemens bestimmt.

2.3.1.3 Insulin

Bei der Bestimmung von Insulin im Patientenserum handelte es sich um einen Elektrochemilumineszenz Immunoassay (ECLIA) der Firma Roche Diagnostics, Mannheim, der am Klinikum der JLU mittels des Analysegerätes Elecsys® 1010/2010 der Firma Boehringer, Mannheim, abgelesen wurde.

2.3.1.4 C-Peptid

C-Peptid wurde im Blutserum mittels eines kompetitiven Festphasen-Chemilumineszenz-Immunoassay der Firma Euro/DPC, England, bestimmt. Dafür wurde das Analysegerät IMMUNOLITE F864, ebenfalls

von Hitachi eingesetzt. Diese Untersuchung führte das Zentrallabor der Universitätsklinik Gießen durch.

2.3.1.5 HbA_{1c}

Die Blutglucoseregulierung wurde über die Bestimmung des Hämoglobins A_{1c} interpretiert. Dabei wurde die glycierte Hämoglobinfraktion mit dem VARIANT[®] Analysensystem der Firma BIO-RAD, München, aufgetrennt und mit Hilfe eines Chromatographen abgelesen.

2.3.2 Laborparameter des Fettstoffwechsels

2.3.2.1 Triglyceride

Bei der Bestimmung der Triglyceride handelte es sich um einen enzymatischen Farbttest. Dabei kam es zur Hydrolyse der Triglyceride zu Glycerin mit Hilfe einer Lipoproteinlipase mit anschließender Oxidation zu Dihydroxyacetonphosphat und Wasserstoffperoxid. Wasserstoffperoxid bildete unter katalytischer Wirkung einer Peroxydase mit 4-Aminophenazon und 4-Chlorphenol einen roten Farbstoff, der photometrisch am Klinikum der Justus-Liebig-Universität Gießen mit Hilfe des Analysators Roche/Hitachi 917 der Firma Siemens bestimmt wurde.

2.3.2.2 Cholesterin

Cholesterin wurde im Blutserum mit einem enzymatischen Farbttest (Best.-Nr.1491458) der Firma Roche Diagnostics, Mannheim, bestimmt. Dabei wurde über verschiedene enzymatische Reaktionen ein roter Farbstoff

gebildet, der photometrisch mittels des Analysegerätes Roche/Hitachi 917 der Firma Siemens abgelesen wurde.

2.3.2.3 HDL (High Density Lipoproteins) und LDL (Low Density Lipoproteins)

Die Bestimmung von HDL (High Density Lipoproteins) und LDL (Low Density Lipoproteins) im Blutserum fand mittels eines enzymatischen Farbttests (HDL: Best.-Nr. 03038521, LDL: Best.-Nr. 03038777) der Firma Roche Diagnostics, Mannheim, statt. Im letzten Schritt wurde dabei unter katalytischer Wirkung ein violetter Farbstoff gebildet, der photometrisch am Klinikum der Justus-Liebig-Universität Gießen mit Hilfe des Analysators Roche/Hitachi 917 der Firma Siemens bestimmt wurde.

2.3.3 Laborparameter des Pankreas

2.3.3.1 Amylase und Lipase

Die Messung von Amylase und Lipase im Serum erfolgte durch einen enzymatischen colorimetrischen Test der Firma Roche Diagnostics, Mannheim. Dabei kam es während einer Katalysereaktion zu einer komplexen Farbreaktion. Die Intensität der Probenfärbung korrelierte dabei direkt mit der Enzymkonzentration im Serum. Der Färbekoeffizient wurde photometrisch mit dem Analysegerät Roche/Hitachi 917 von Siemens bestimmt. Beide Bestimmungen wurden im Zentrallabor des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen durchgeführt.

2.3.4 Laborparameter der Schilddrüse

2.3.4.1 TSH (Thyroidea stimulierendes Hormon)

Thyroidea stimulierendes Hormon (TSH) wurde im Patientenserum mit dem ACS:180[®] TSH Test der Firma Bayer, Fernwald, mittels Immunoassay bestimmt. Es wurden zwei konstante Mengen an Antikörpern verwendet. Der erste markierte den Acridiniumester, der zweite band die paramagnetischen Partikel. Zwischen der Menge an TSH in der Patientenprobe und den gemessenen relativen Lichteinheiten bestand ein proportionales Verhältnis. Diese Untersuchung führte ebenfalls das Zentrallabor des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen durch und verwendete dabei den Analysator ACS:180[®] der Firma Bayer Vital Diagnostic.

2.3.4.2 T3 (Trijodthyronin) / T4 (Thyroxin)

Für die Testung von Trijodthyronin (T3) und Thyroxin (T4) wurden die ACS:180[®] T3- und ACS:180[®] T4-Tests der Firma Bayer, Fernwald, verwendet. Dabei handelte es sich bei beiden um einen Immunoassay (Chemilumineszenz). Zwischen der Menge an T3 und T4 in der Patientenprobe und den gemessenen relativen Lichteinheiten bestand eine umgekehrt proportionale Beziehung, die mit dem Gerät ACS:180[®] der Firma Bayer Vital Diagnostic, Fernwald, bestimmt wurde. Beide Bestimmungen wurden im Zentrallabor des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen durchgeführt.

2.3.5 HIV-Surrogatmarker

2.3.5.1 HIV-RNA quantitativ (Viruslast)

Die HIV-1 Viruslast wurde mittels signalverstärkendem Nukleinsäure-Assay (VERSANT[®] HIV-1 RNA 3.0 Assay (bDNA)) der Firma Bayer Vital GmbH, Fernwald, aus Patientenplasma bestimmt. Zunächst erfolgte die Zentrifugation des Patientenplasmas, um HIV-1 zu konzentrieren. Im Anschluss daran wurde das RNA-Genom isoliert und mittels mehrerer synthetischer Oligonukleotid-Fangsonden auf einer Nachweisplatte gebunden. Weitere Zielsonden hybridisierten im Weiteren die virale RNA und die Vorverstärkersonden. Die Fangsonden und die Zielsonden banden verschiedene Regionen des pol-Gens der viralen RNA. Die Verstärkersonde hybridisierte an die Vorverstärkersonde und bildete so einen verzweigten DNA (bDNA)-Komplex. Eine Vielzahl von Kopien einer alkalischen Phosphatase (APH)-markierten Sonde wurde danach an diesen immobilisierten Komplex hybridisiert. Der Nachweis erfolgte durch Inkubation des Komplexes mit einem Chemilumineszenz-Substrat. Die Lichtemission war direkt proportional zu der Menge der HIV-1-RNA in jeder Probe. Es erfolgte die Registrierung der Ergebnisse mittels eines Messgerätes. Die HIV-1-RNA-Konzentration in der Probe wurde anhand von Basiskurven (Standardkontrollen mit bekannter Konzentration) ermittelt. Als Analysator wurde vom Institut für Medizinische Virologie der Justus-Liebig-Universität Gießen der Bayer[®] System 340 bDNA Analyzer der Firma Bayer, Fernwald, verwendet.

2.3.5.2 CD4-Zellzahl

Die CD4-Zellzahl berechnet sich aus der Multiplikation der relativen Prozentzahl der CD4-Zellen aus dem Patientenblut mit der Lymphozytenzahl/ μ l Blut, dividiert durch 100. Dabei wurden sowohl die

CD4- als auch die CD8-Zellen aus EDTA-Blut im Infektionslabor der Medizinischen Klinik II der Justus-Liebig-Universität in Gießen mittels Simultest CD4/CD8 (Zweifarbennimmunfluoreszenz) mit anschließender Detektierung mittels eines Durchflusszytometers, beides von der Firma Becton-Dickinson, San Jose, Kalifornien, USA, bestimmt.

2.3.6 Bestimmung der mitochondrialen DNA (mtDNA)

Die mitochondriale DNA wurde in EDTA-Blut mit Hilfe einer Southernblot-Reaktion analysiert, die zum Zeitpunkt der Messungen als Methode der Wahl zur Verfügung stand. Hierbei handelt es sich um eine molekularbiologische Analyse der genomischen DNA des Menschen, die nach ihrem Erfinder E.M. Southern bezeichnet wurde und unter anderem für den Nachweis von Mutationen beziehungsweise Depletionen verwendet wurde. Dafür wird die DNA aus Lymphozytenzellkernen isoliert und mit Hilfe von Restriktionsendonucleasen in Fragmente gespalten. Diese werden gelelektrophoretisch aufgetrennt und auf Nitrozellulose übertragen („blotting“), auf welcher sie fixiert werden. Falls durch Mutationen Erkennungssequenzen für Restriktionsendonucleasen neugeschaffen oder zerstört werden, schlägt sich dies für die gebildeten DNA-Fragmente in einer veränderten elektrophoretischen Mobilität wieder. Detektion und Identifizierung der DNA-Fragmente geschieht mit Gen-Sonden. Die Verarbeitung der Proben erfolgte am Akademischen Lehrkrankenhaus München-Schwabing im Institut für Klinische Chemie, Molekulare Diagnostik und Mitochondriale Genetik (Leiter Prof. Dr. Gerbitz).

Da sich die PCR im Vergleich zur Southernblot-Reaktion während der Datenakquisition als eine sensitivere Methode herausstellte [33], um spezifische DNA- und RNA-Sequenzen mit einer deutlich verbesserten Erkennbarkeit der Nukleinsäuresequenz herzustellen, was letztendlich eine präzisere DNA-Analyse bedeutet, wurden alle asservierten Blutproben im

selbigen Labor in einer späteren Untersuchung mit einer real-time Polymerasenkettenreaktion (rtPCR, real-time polymerase chain reaction) mittels LightCycler FastStart DNA Master Hybridisation Probes kit sowie dem Light cycler als Analysegerät, beides der Firma Roche, ein zweites Mal gemessen und die Ergebnisse miteinander verglichen.

2.3.7 Carnitinbestimmung

2.3.7.1 Quantitative Serum-Carnitinbestimmung

Carnitin wurde im Stoffwechsellabor der Kinderklinik der Justus-Liebig-Universität in Gießen, basierend auf der Methode nach J. Dennis McGarry und Daniel W. Foster bestimmt [48]. Hierbei handelt es sich um einen Radioimmunoassay, für welches Patientenplasma benötigt wird. Als Analysator wurde der Liquid scintillation counter 1409 der Firma LKB Wallac eingesetzt.

2.3.7.2 Bestimmung des Carnitin-Musters mittels Tandem-Massenspektrometrie (TMS)

Die Massenspektrometrie stellt eine Analysetechnik zur Bestimmung von Massen geladener Moleküle dar. In dieser Studie wurde mit diesem Verfahren sowohl das freie Carnitin als auch die kurz-, mittel- und langkettigen Acyl-Carnitine aus Patientenserum bestimmt. Dabei kommt es im ersten Schritt zu einer Ionisierung der zu analysierenden Masse, wobei die Probe in einem elektrischen Feld versprüht wird. Darauf folgt die Trennung des Analysats im Hochfrequenzfeld eines Quadrupol-Stabsystems. Bei einem Tandem-Massenspektrometer sind dabei zwei Quadrupole hintereinander geschaltet, wodurch eine gezielte Bestimmung der Molekulargewichte der entstandenen Fragmente möglich wird. Anschließend erfolgt der Nachweis mittels eines Detektors, der ein

Massenspektrum mit den relativen Intensitäten der einzelnen Ionen erzeugt. Dieses Tandem-Prinzip hat den Vorteil gegenüber früheren benutzten Spektrometern, dass auch aus sehr komplexen Medien, wie es Serum darstellt, Analysen ohne vorherige chromatographische Auftrennung möglich sind [22, 27]. Die Analyse des Serums erfolgte im Institut für Klinische Chemie, Molekulare Diagnostik und Mitochondriale Genetik, Akademisches Lehrkrankenhaus München-Schwabing, mit einem Sciex API 365 Massenspektrometer der Firma Applied Biosystems.

2.4 Statistische Methoden

Die Datenerfassung erfolgte mittels Excel 2000 (9.0.3821 SR-1) von Microsoft.

Bei insgesamt inhomogener Gruppengestaltung (nicht normalverteilt) in Bezug auf Geschlecht, Alter und Therapiedauer als wesentliche Einflussgrößen wurden für alle Laborwerte der Median sowie die Interquartilintervalle 1 und 3 mittels sas (statistical analysis system) Version 8.2 berechnet.

Für den Glukose- und Laktatverlauf wurde zur besseren Darstellbarkeit die Box- and Whiskerplot-Darstellung von SPSS gewählt.

Mit Hilfe des H-Tests von Kruskal und Wallis wurde überprüft, ob sich die Patientengruppen hinsichtlich ihrer Glukose- und Laktatverläufe während des oGTT signifikant voneinander unterscheiden.

3. Ergebnisse

3.1 Patientenkollektive

Die 33 Patienten, die an der Studie teilnahmen, ließen sich anhand ihrer antiretroviralen Therapie folgenden vier Gruppen zuordnen:

- **Gruppe 1:** Elf Patienten (29%) erhielten keine ART (therapienaiv). Bei 5 Patienten erfolgte eine Follow-up-Untersuchung drei Monate nach ART-Beginn. Diese Patienten wurden dann entsprechend der Medikation den Gruppen 2–4 zugeordnet.
- **Gruppe 2:** Elf Patienten (29%) mit konvergenter Dreifachtherapie (Firstline nur NRTI) seit mindestens drei Monaten.
- **Gruppe 3:** Zehn Patienten (26%) mit zwei NRTI und einem NNRTI (Firstline) seit mindestens drei Monaten.
- **Gruppe 4:** Sechs Patienten (16%) mit zwei NRTI und einem PI (Firstline) seit mindestens drei Monaten.

Auf eine weitere Subklassifikation der Patienten unter Berücksichtigung der individuellen Medikation wurde aufgrund der sich dadurch ergebenden kleinen Fallzahlen verzichtet.

	Gruppe 1 n = 11 (therapienaiv)	Gruppe 2 n = 11 (3 NRTI)	Gruppe 3 n = 10 (2 NRTI+1 NNRTI)	Gruppe 4 n = 6 (2 NRTI+1 PI)
Alter (Jahre)				
Median [Quartile]	34 [30; 43]	36 [29; 46]	35,5 [30; 51]	46,5 [42; 54]
Arith. Mittel	37,1	37,9	40,2	48,7
Therapiedauer (Monate)				
Median [Quartile]	0	6 [4; 13]	11 [4; 24]	24 [21; 38]
Arith. Mittel	0	11,6	18,8	25,8
Geschlecht				
Männer	7	7	8	6
Frauen	4	4	2	0

Tabelle 5 Charakteristika der Patientenkollektive

3.2 Verlaufsparemeter des Provokationstests (oraler Glukosetoleranztest, oGTT)

Um latente Veränderungen im Zucker- und Energiestoffwechsel zu detektieren, wurde ein oGTT bei allen Patienten durchgeführt. Parallel zu den Glukosewerten wurde Laktat bestimmt. Die nachfolgend beschriebenen Messergebnisse wurden während des oralen Glukosebelastungstests erhoben.

Zum Zeitpunkt 0 h fand die Nüchternblutentnahme zur Basiswertbestimmung für die Verlaufsparemeter Glukose und Laktat statt. Weiterhin wurden zum Zeitpunkt 0 h nur einmalig abzunehmende Blutparemeter wie z. B. CD4-Zellzahl oder HbA_{1c} bestimmt. Nach oraler Glukosebelastung erfolgten Blutentnahmen nach 60 (1 h), 120 (2 h) und 180 Minuten (3 h). Die Normwerte für Glukose im Plasma finden sich in Tabelle 4 (s. Seite 28 im Abschnitt Probanden, Material und Methoden). Der Normwert für Laktat beträgt 0,5–2,2 mmol/l.

Zur besseren Darstellbarkeit wurde für die Verlaufparameter des Provokationstests (Glukose und Laktat) die Box- and Whiskerplot-Darstellung von SPSS gewählt. Die Ausreißer in den nachfolgenden Boxplots sind folgendermaßen definiert: Milde Ausreißer (o) liegen zwischen $1,5 \times \text{IQR}$ (Interquartilsabstand) und $3 \times \text{IQR}$. Extreme Ausreißer (*) liegen über $3 \times \text{IQR}$.

Ergebnisse

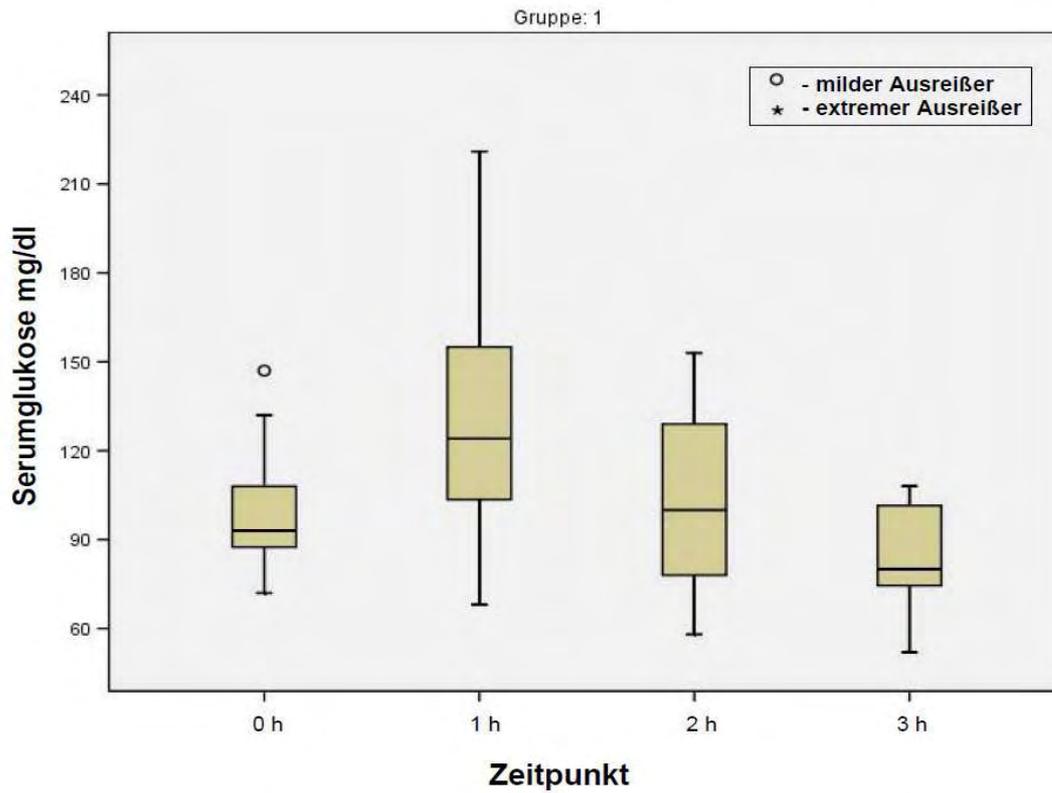


Abbildung 8 Boxplot zum Blutglukoseverlauf der Gruppe 1

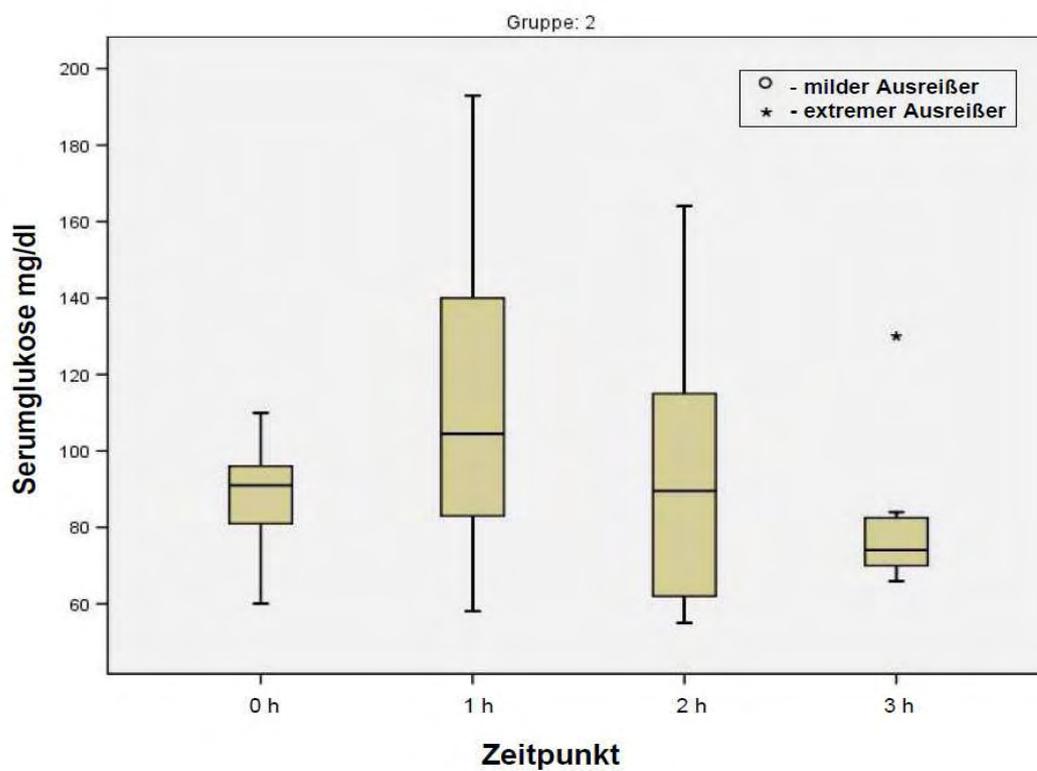


Abbildung 9 Boxplot zum Blutglukoseverlauf der Gruppe 2

Ergebnisse

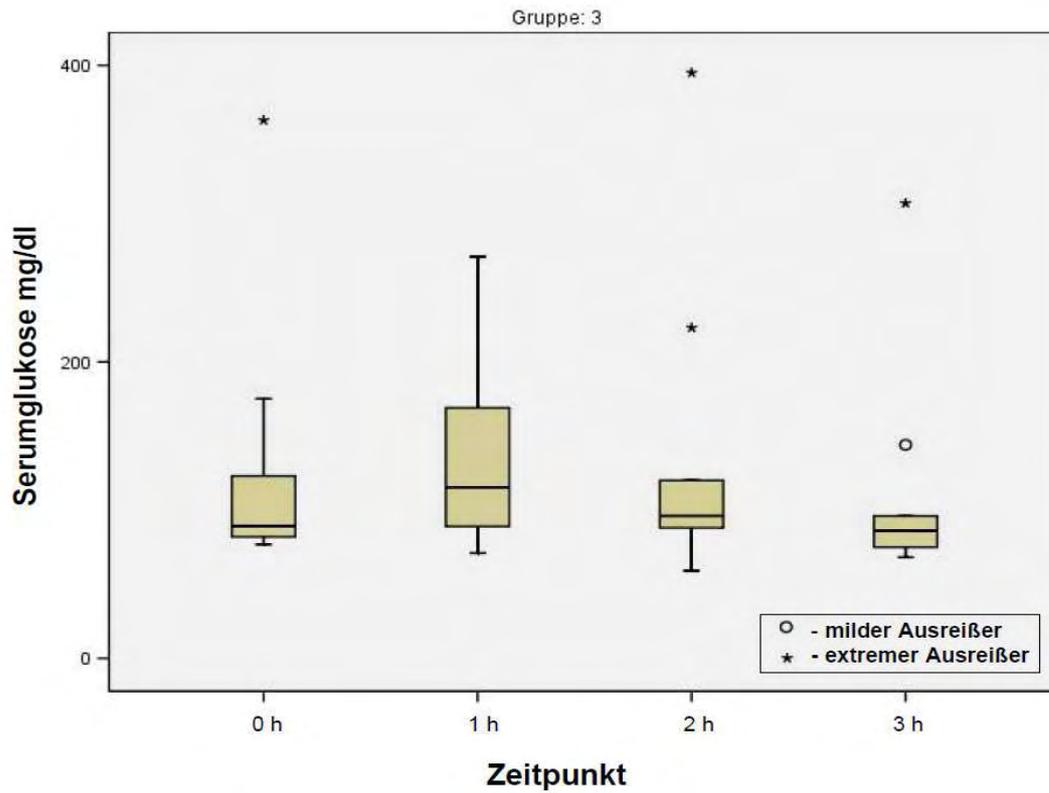


Abbildung 10 Boxplot zum Blutglukoseverlauf der Gruppe 3

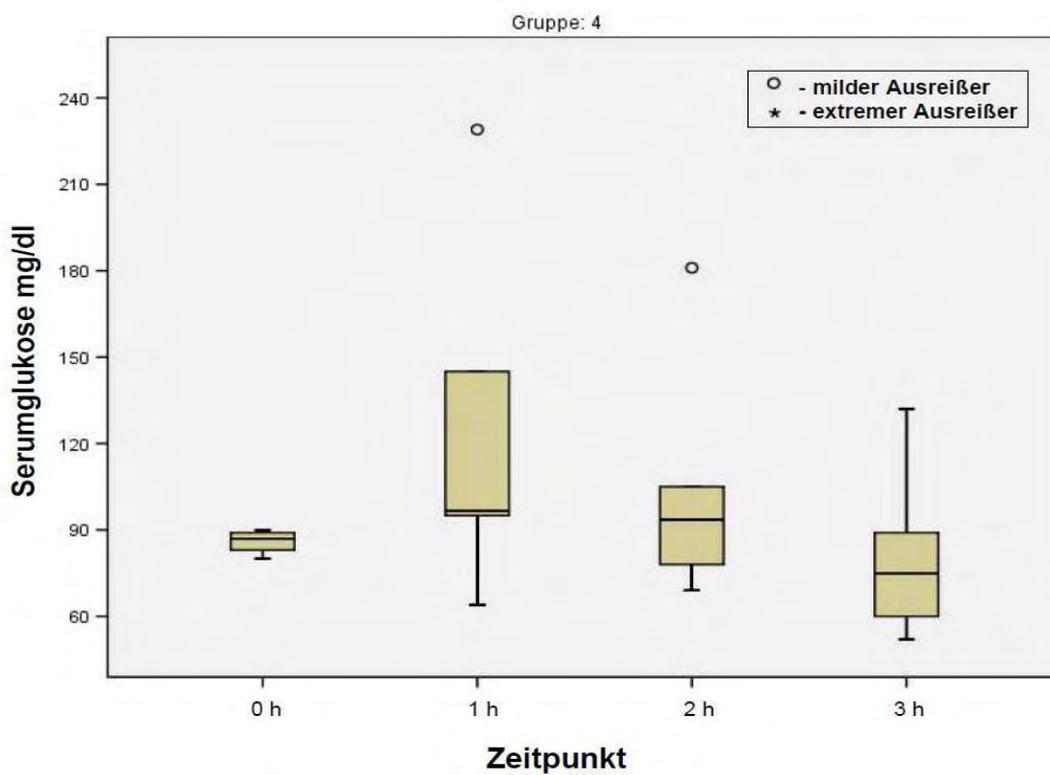


Abbildung 11 Boxplot zum Blutglukoseverlauf der Gruppe 4

Die Glukoseverläufe verliefen während der oralen Glukosebelastung in allen vier Gruppen überwiegend physiologisch. Es zeigten sich ein erwarteter deutlicher Anstieg des Glukosespiegels in der 1. Stunde und ein insulinvermittelter Abfall in der 2. und 3. Stunde nach oraler Glukosebelastung. Sowohl in Gruppe 1 als auch in Gruppe 2 fand sich jeweils ein Patient mit einer pathologischen Glukosetoleranz. In Gruppe 3 befanden sich zwei Patienten mit einem bekannten Diabetes mellitus Typ II, welcher sich in einem zu allen Messzeitpunkten pathologischen Blutzuckerplasmaspiegel bestätigte. Auch in Gruppe 4 (zwei NRTIs und ein PI) fiel bei einem Patienten ein erhöhter 2-h-Wert mit 181 mg Glukose/dl Plasma bei unauffälligem Nüchternglukosewert auf, so dass eine pathologische Glukosetoleranz unter der Proteasehemmer enthaltenden antiretroviralen Therapie neu diagnostiziert werden konnte.

Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Blutglukosewerten der Patientengruppen 1–4 zu den verschiedenen Zeitpunkten (H-Test; Zeitpunkt 0 h: $p = 0,524$; Zeitpunkt 1 h: $p = 0,689$; Zeitpunkt 2 h: $p = 0,761$; Zeitpunkt 3 h: $p = 0,439$).

Ergebnisse

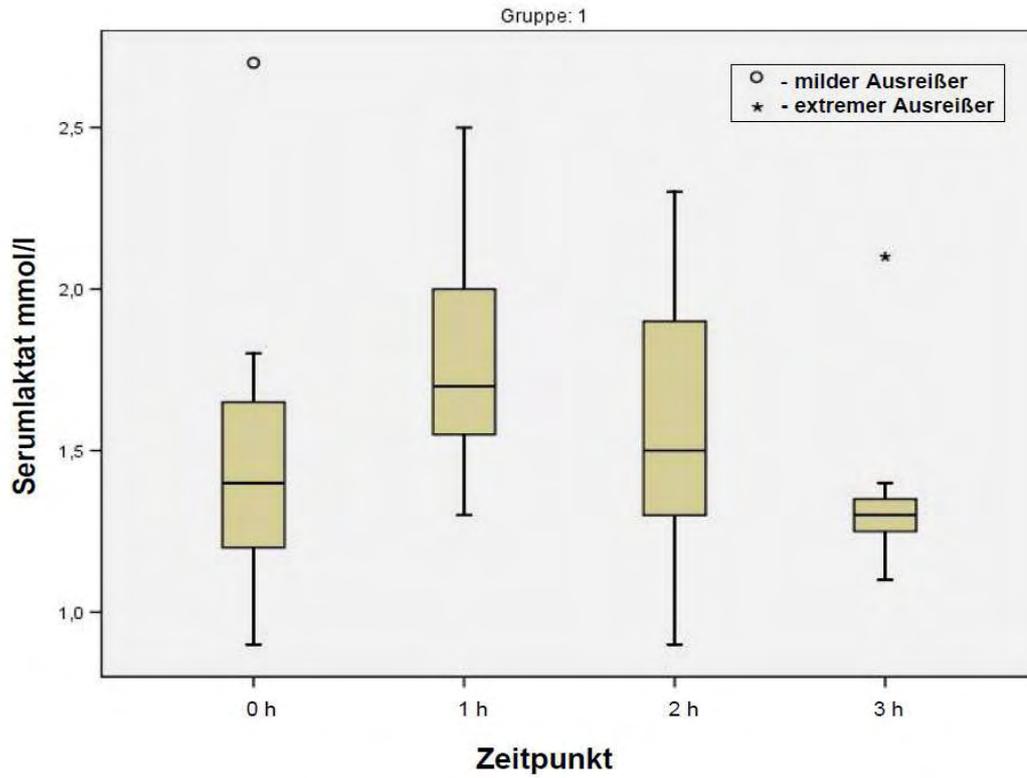


Abbildung 12 Boxplot zum Blutlaktatverlauf der Gruppe 1

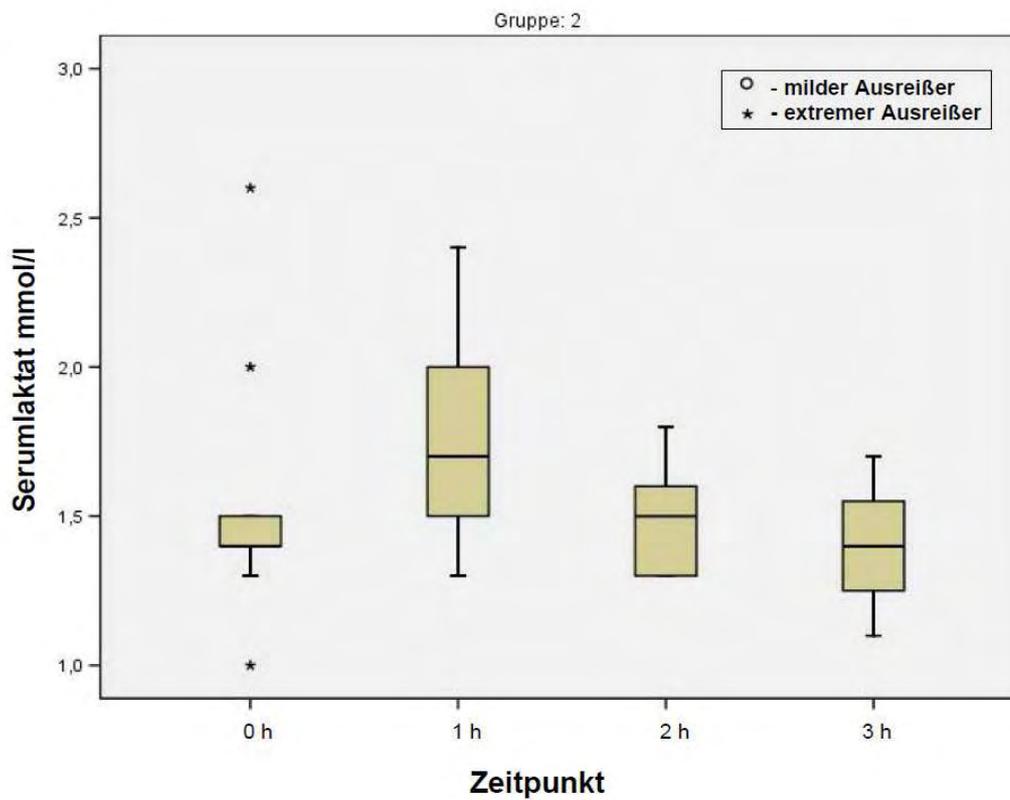


Abbildung 13 Boxplot zum Blutlaktatverlauf der Gruppe 2

Ergebnisse

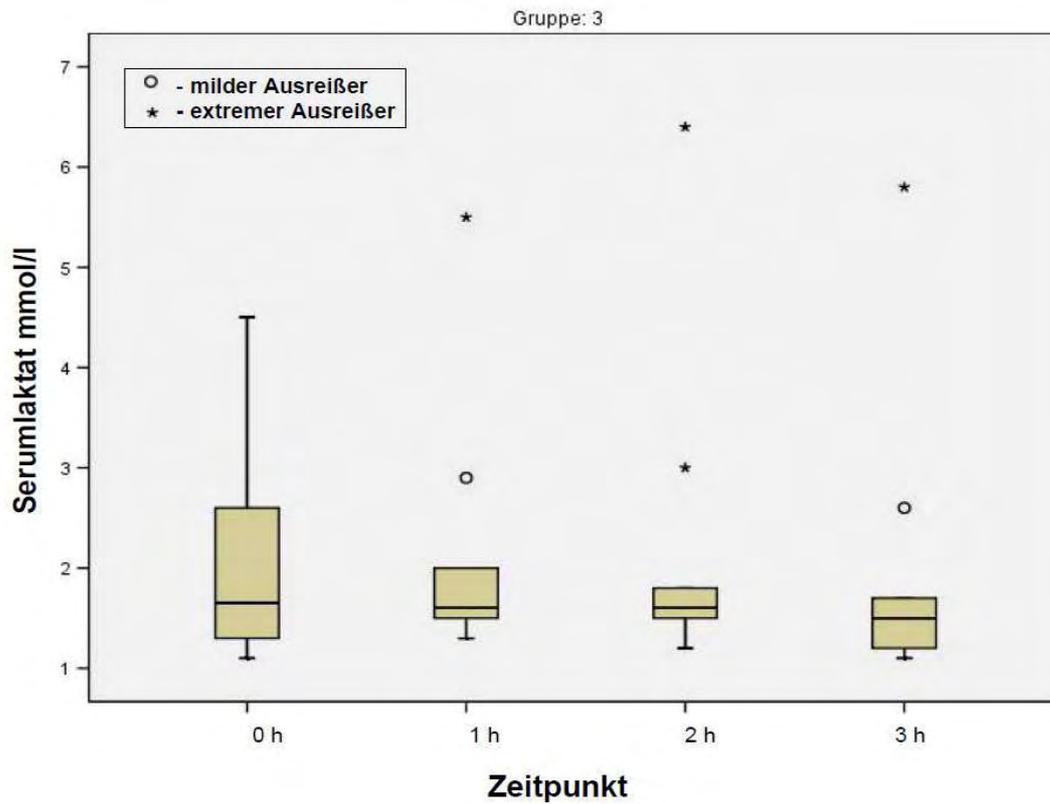


Abbildung 14 Boxplot zum Blutlaktatverlauf der Gruppe 3

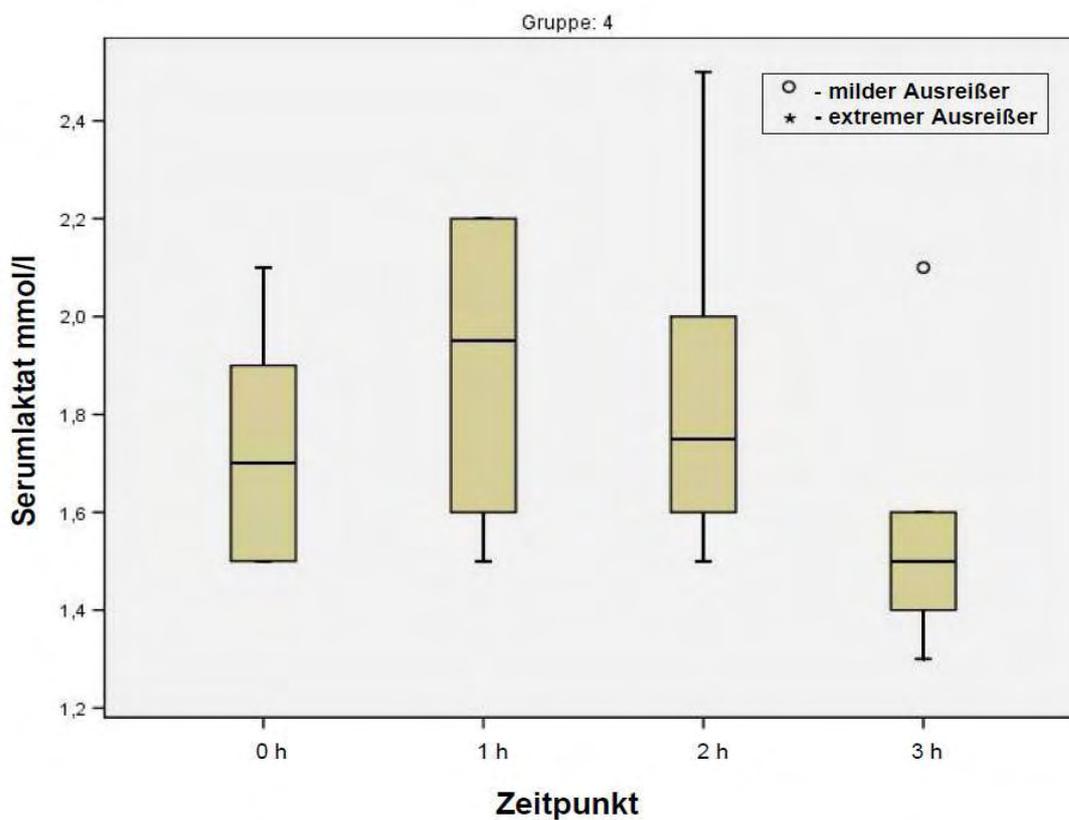


Abbildung 15 Boxplot zum Blutlaktatverlauf der Gruppe 4

Der orale Glukosetoleranztest diente in dieser Studie zur Erfassung einer gestörten Glukosetoleranz. Zusätzlich wurde der Laktatverlauf bestimmt, um latente Hyperlaktatämien, wie sie bei Insuffizienz der Atmungskette bei mitochondrialer Toxizität durch Nukleosidanaloga auftreten können, zu detektieren. Die Patientengruppen 1, 2 und 4 zeigten während der oralen Glukosebelastung insgesamt bis auf wenige Ausreißer einen regelgerechten physiologischen Verlauf der Laktatwerte. Wie erwartet, stieg das Serumlaktat nach oraler Gabe von Glukose an (60 Minuten nach Einnahme), um im weiteren Verlauf abzufallen und sich ab der zweiten Stunde nach oraler Glukosebelastung wieder dem Nüchternausgangswert anzunähern.

Auffälligkeiten fanden sich bei Gruppe 3 (zwei NRTI und ein NNRTI): Im Gegensatz zu den anderen Patientengruppen zeigte diese Gruppe nur geringe Schwankungen der Laktatwerte unter oraler Glukosebelastung über den gesamten Beobachtungszeitraum. Bei weiterer Aufschlüsselung dieser Gruppe fielen drei Patienten mit bereits nüchtern deutlich erhöhten Laktatwerten auf. Bei diesen drei Patienten zeigten sich im weiteren Verlauf unter oraler Glukosebelastung entsprechend erhöhte bzw. pathologische Laktatwerte. Diese drei Patienten hatten ein Therapieregime, welches D4T (Stavudin, Zerit[®]) als Nukleosidanalogon enthielt. Im weiteren klinischen Verlauf fielen diese drei Studienteilnehmer mit einer symptomatischen Hepatitis auf: Außer einer Erhöhung der Transaminasen zeigten die Patienten Symptome eines Atmungskettendefektes mit Abgeschlagenheit, uncharakteristischen Abdominalbeschwerden und pathologischer Glukosetoleranz. Die zur weiteren Abklärung durchgeführten Leberbiopsien ergaben bei allen drei Probanden eine Steatosis hepatis auf dem Boden einer medikamentös toxischen Schädigung. Als häufigste Ursachen für eine Steatosis hepatis finden sich z. B. chronischer Alkoholabusus, Diabetes mellitus und toxische Medikamentenwirkungen. Eine zusätzliche DNA-Analyse der gewonnenen Leberzellproben mittels rtPCR konnte bei einem dieser drei

Patienten ebenfalls eine mitochondriale Depletion in den Hepatozyten nachweisen. Nach Absetzen von D4T kam es bei allen drei Patienten zu einer Normalisierung sowohl der Transaminasen- und Cholestaseparameter als auch der Laktatwerte, einhergehend mit einer Restitutio ad integrum aus klinischer Sicht.

Statistisch bestanden jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Blutlaktatwerten der Patientengruppen 1–4 zu den verschiedenen Zeitpunkten (H-Test; Zeitpunkt 0 h: $p = 0,360$; Zeitpunkt 1 h: $p = 0,834$; Zeitpunkt 2 h: $p = 0,182$; Zeitpunkt 3 h: $p = 0,433$).

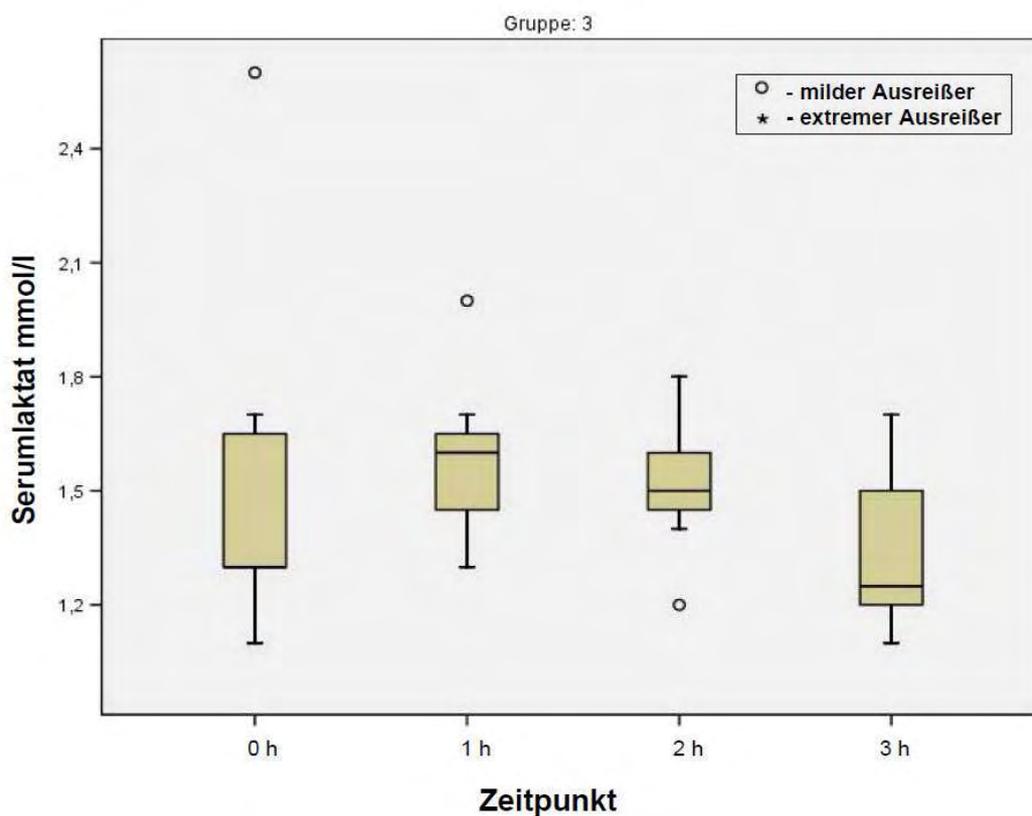


Abbildung 16 Boxplot zum Blutlaktatverlauf der Gruppe 3 mit Ausnahme der Patienten mit mtDNA-Depletion der Hepatozyten

Nach Ausschluss der Laktatverläufe der Patienten mit nachgewiesener mitochondrialer Depletion der Hepatozyten aus Gruppe 3 kommt es damit zu einer übersichtlicheren Darstellung der Laktatverläufe der übrigen Studienteilnehmer der Gruppe 3: Anstieg des Laktats nach oraler Belastung sowie harmonischer Abfall und Annäherung an die Ausgangswerte.

3.3 Bestimmung der mitochondrialen DNA zum Ausschluss einer Depletion (mtDNA-Depletion)

Die Bestimmung der mitochondrialen DNA zum Ausschluss einer Depletion (mtDNA-Depletion) aus Lymphozyten erfolgte zunächst mit Hilfe der Southernblot-Methode, welche zum Zeitpunkt der Studiendurchführung Mittel der Wahl war. Hier ergab sich erwartungsgemäß nach unserer Hypothese in der therapienaiven Gruppe 1 kein Hinweis für das Vorliegen einer Depletion. Auch in Gruppe 4 konnte keine Depletion nachgewiesen werden. Anders hingegen zeigte sich die Situation in Gruppe 2 und 3: In Gruppe 2 wurde der Verdacht auf eine Depletion bei zwei Patienten geäußert, in Gruppe 3 bei drei Patienten.

Im Frühjahr 2002 konnte das Institut für Klinische Chemie, Molekulare Diagnostik und Mitochondriale Genetik des Akademischen Lehrkrankenhauses München-Schwabing einen sensitiveren Test zur Depletionsbestimmung anbieten, so dass alle asservierten Proben mittels einer real-time PCR (rtPCR; Light Cycler, Firma Roche) erneut untersucht wurden. Mit Hilfe dieser Methodik konnten die Verdachtsfälle einer mitochondrialen Depletion nicht bestätigt werden, so dass letztendlich bei keinem der an der Studie teilnehmenden Patienten eine mitochondriale DNA-Depletion in den peripheren Blutzellen (Leukozyten) nachzuweisen war. Tabelle 6 fasst die Ergebnisse der vier Patientenkollektive zusammen:

Gruppe	Anzahl der Patienten mit Verdacht einer mtDNA-Depletion (Southernblot)	Anzahl der Patienten mit Verdacht einer mtDNA-Depletion (rtPCR)
1	0	0
2	2	0
3	3	0
4	0	0

Tabelle 6 Verdacht der mtDNA-Depletion aus Lymphozyten in den untersuchten Patientenkollektiven

Die durchgeführten DNA-Analysen aus weißen Blutzellen (Lymphozyten) mittels real-time PCR erbrachten keinen Nachweis einer mtDNA-Depletion. Dennoch zeigte sich im weiteren klinischen Verlauf der drei Patienten mit symptomatischer Hyperlaktatämie, die in diesem Fall unter anderem mit D4T behandelt wurden, dass es zu schweren Organschäden, beruhend auf einer mitochondrialen Schädigung der betreffenden Orgazellen (Hepatozyten) durch mitochondriale DNA-Depletion, gekommen war, welche mittels rtPCR aus Hepatozyten diagnostiziert werden konnte.

3.4 Virologischer Status (HIV-Surrogatmarker)

Die regelmäßige Überprüfung der HIV-Surrogatmarker (Viruslast und CD4-Zellzahl) stellen einen wesentlichen Bestandteil der Beurteilung des Krankheitsverlaufes und der Wirksamkeit der antiretroviralen Therapie dar. Anhand dieser beiden Werte kann beurteilt werden, wie stark der HIV-assoziierte Immundefekt ausgeprägt ist und welche Dynamik die Krankheitsprogression hat. Weiterhin dienen sie als wichtige Parameter, um den richtigen Zeitpunkt für eine Einleitung oder Änderung bzw. Intensivierung der antiretroviralen Therapie festzulegen. Die Patientenkollektive wurden bei Studieneintritt hinsichtlich ihrer HIV-Surrogatmarker evaluiert.

3.4.1 HIV-RNA quantitativ (Viruslast)

Die HIV-RNA wurde in Genomäquivalenten (Gä)/ml Serum bestimmt und in den verschiedenen Patientengruppen analysiert. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung lag die Nachweisgrenze des bDNA-Tests bei 50 Gä/ml Serum. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

3.4.2 CD4-Zellzahl

Durch die Bestimmung der CD4-Zellzahl (Zellen/ μ l Serum) zusammen mit der Viruslast lässt sich erkennen, inwieweit das Immunsystem des Patienten geschwächt und die Krankheit vorangeschritten ist. Zur Festlegung des Immunstatus wurden bei allen Patienten die CD4-Zellen bestimmt. Die erhobenen Patientendaten der verschiedenen Kollektive sind in Tabelle 7 dargestellt.

Ergebnisse

	Gruppe 1 n = 11 (therapienaiv)	Gruppe 2 n = 11 (3 NRTI)	Gruppe 3 n = 10 (2 NRTI+1 NNRTI)	Gruppe 4 n = 6 (2 NRTI+1 PI)
Viruslast (Gä/ml)				
Median	7 000	0	0	0
Quartile	[3 000; 20 000]	[0; 0]	[0; 0]	[0; 0]
Minimum	100	0	0	0
Maximum	40 000	0	0	0
CD4-Zellzahl (Zellen/μl)				
Median	324	452	338	404
Quartile	[192; 415]	[296; 560]	[243; 590]	[237; 501]
Minimum	68	159	134	115
Maximum	751	835	645	1004

Tabelle 7 Virologischer Status der untersuchten Patientenkollektive

In der Gruppe 1 (therapienaiv) lag der Median der Viruslast bei 7 000 Kopien/ml Serum. Fünf dieser elf Patienten begannen im Anschluss an die erste Studienteilnahme mit einer ART. Zum Zeitpunkt der 2. Messung im Rahmen dieser Studie (drei–fünf Monate nach Therapiebeginn) lag die Viruslast bei diesen Patienten unterhalb der Nachweisgrenze, welches letztendlich ein wesentliches Ziel der Behandlung mit HAART darstellt. Entsprechend den Einschlusskriterien der Studie lag die Viruslast bei den bereits unter ART stehenden Patienten (Gruppe 2–4) unter der Nachweisgrenze von 50 Gä/ml Serum.

Insgesamt wurden in allen Gruppen Patienten mit unterschiedlich stark ausgeprägten Immundefekten eingeschlossen, so dass sich in allen Gruppen erhebliche Schwankungen der CD4-Zellzahlen fanden, erwartungsgemäß am ausgeprägtesten in der terapienaiven Gruppe.

3.5 Serumanalysen

3.5.1 Laborparameter des Kohlenhydratstoffwechsels

3.5.1.1 Insulin

Insulin wird in den B-Zellen der Langerhans-Inseln des Pankreas gebildet und hat die Aufgabe, den Glukosespiegel im Serum zu senken. Der Normwert beträgt nüchtern $< 16 \mu\text{U/ml}$. Die erhobenen Werte der vier Patientenkollektive stellt Tabelle 8 dar.

3.5.1.2 C-Peptid

Während der Biosynthese des Insulins wird aus einer Vorstufe Proinsulin das C-Peptid (connecting-peptide) abgespalten und in das Serum abgegeben. Das C-Peptid gibt damit Auskunft über die Sekretionsleistung der Inselzellen des Pankreas. Der Normwert beträgt nüchtern 1–3 ng/ml. Insulin und C-Peptid werden zeitgleich und äquimolar ins Blut sezerniert. C-Peptid hat eine längere biologische Halbwertszeit, geht keine Kreuzreaktion mit Insulinantikörpern ein und die Messung bleibt von exogener Insulingabe unbeeinflusst. Die erhobenen Daten sind für die vier Patientenkollektive in Tabelle 8 zusammengefasst.

3.5.1.3 HbA_{1c}

HbA_{1c} ist der prozentuale Anteil des glykierten Hämoglobins am Gesamthämoglobin und liegt im Normalfall zwischen 3,3 und 6,1%. Während die einzelne Blutglucosebestimmung den Zustand des Patienten während der vergangenen Stunden widerspiegelt, gibt das Hämoglobin A_{1c} Auskunft über die Blutzuckerstoffwechsellage während der letzten 90

Tage und damit den wahren Status der Blutglucoseregulierung. Der Anteil des Glycohämoboglobins A_{1c} am Gesamthämoglobin ergab für die vier Patientenkollektive folgende Ergebnisse (Tabelle 8):

	Gruppe 1 n = 11 (therapienaiv)	Gruppe 2 n = 11 (3 NRTI)	Gruppe 3 n = 10 (2 NRTI+1 NNRTI)	Gruppe 4 n = 6 (2 NRTI+1 PI)
Insulin (µU/ml)				
Median	5,3	4,4	9,6	3,8
Quartile	[3,3; 9,5]	[3,8; 7,1]	[5,5; 24,3]	[1,7; 4,4]
Minimum	2,8	3,2	0,2	0,0
Maximum	68,6	24,10	70,7	4,9
C-Peptid (ng/ml)				
Median	2,1	2,0	3,0	2,0
Quartile	[2,0; 3,0]	[2,0; 2,3]	[2,0; 6,0]	[2,0; 2,0]
Minimum	1,0	1,4	1,4	2,0
Maximum	9,4	4,0	9,8	3,0
HbA_{1c} (%)				
Median	5,8	5,2	5,0	5,5
Quartile	[5,1; 6,2]	[5,0; 5,3]	[4,9; 5,3]	[5,0; 5,8]
Minimum	4,6	4,6	3,7	5,0
Maximum	6,3	5,6	7,2	6,6

Tabelle 8 Laborparameter des Kohlenhydratstoffwechsels in den untersuchten Patientenkollektiven

Die Mediane der basalen Insulinplasmaspiegel lagen in allen Patientengruppen im Normbereich. Deutlich erhöhte basale Insulinwerte fanden sich jedoch bei zwei Patienten in Gruppe 3 mit einem bekannten Diabetes mellitus Typ II. Somit lassen sich diese erhöhten Nüchternwerte als Hyperinsulinämie bei Diabetes mellitus Typ II im Sinne einer peripheren Insulinresistenz deuten.

Korrespondierend zu den basalen Plasmainsulinspiegeln lagen auch die Mediane der C-Peptide aller Patientengruppen im Normbereich. Entsprechend fanden sich bei Patienten mit einer pathologischen Glukosetoleranz bzw. eines manifesten Diabetes mellitus Typ II (Gruppe 1 und 3) bis zu dreifach erhöhte C-Peptid-Nüchternwerte (bis 9,8 ng/ml).

Bei genauerer Aufschlüsselung fanden sich in der therapienaiven Gruppe 1 und in Gruppe 4 jeweils zwei Patienten mit marginal erhöhtem HbA_{1c} bei unauffälligem Glucoseverlauf. In Gruppe 2 lagen alle Patienten im Normbereich. In Gruppe 3 lag das höchste HbA_{1c} bei 7,2% bei einem Patienten mit bekanntem Diabetes mellitus Typ II, welches eine schlechte Blutzuckerstoffwechsellage in den letzten acht–zwölf Wochen nachwies.

3.5.2 Laborparameter des Fettstoffwechsels

Der Begriff Lipodystrophie-Syndrom wird bei HIV-Patienten für einen Symptomenkomplex aus Fettverteilungsstörungen und metabolischen Veränderungen benutzt und tritt vor allem unter Therapie mit Proteasehemmern (PI) und Nukleosidanaloga (NRTI) auf. Zu den metabolischen Veränderungen gehören Glukosetoleranzstörungen bis hin zum Diabetes mellitus Typ II mit entsprechender Insulinresistenz, Hypertriglyzeridämie, Hypercholesterinämie, erhöhtem LDL (Low Density Lipoprotein) und erniedrigtem HDL (High Density Lipoprotein). Der Normwert (nüchtern) für Triglyceride liegt zwischen 55 und 245 mg/dl, für Cholesterin zwischen 120 und 220 mg/dl, für HDL zwischen 40 und 80 mg/dl und für LDL zwischen 65 und 150 mg/dl. Die erhobenen Daten der verschiedenen Patientenkollektive sind in Tabelle 9 wiedergegeben:

Ergebnisse

	Gruppe 1 n = 11 (therapienaiv)	Gruppe 2 n = 11 (3 NRTI)	Gruppe 3 n = 10 (2 NRTI+1 NNRTI)	Gruppe 4 n = 6 (2 NRTI+1 PI)
Triglyceride (mg/dl)				
Median	94	102	146	159
Quartile	[70; 105]	[76; 173]	[104; 235]	[121; 207]
Minimum	55	59	56	111
Maximum	155	224	594	218
Cholesterin (mg/dl)				
Median	170	200	199	210
Quartile	[153; 201]	[152; 220]	[185; 258]	[205; 224]
Minimum	114	98	136	143
Maximum	217	253	341	234
HDL (mg/dl)				
Median	40	52	48	39
Quartile	[32; 53]	[41; 57]	[46; 58]	[32; 49]
Minimum	30	33	24	24
Maximum	65	78	94	60
LDL (mg/dl)				
Median	98	112	124	138
Quartile	[90; 134]	[80; 125]	[81; 135]	[125; 146]
Minimum	59	49	62	78
Maximum	154	148	174	150

Tabelle 9 Laborparameter des Fettstoffwechsels in den untersuchten Patientenkollektiven

In der therapienaiven Gruppe zeigten sich bei allen Patienten unauffällige basale Triglycerid- und Cholesterinwerte. Ein Patient fiel mit einem marginal erhöhten LDL-Spiegel auf: Dieser Patient zeigte zusätzlich auch ein leicht erniedrigtes HDL, welches auch bei weiteren vier Patienten dieser Gruppe leicht- bis mäßiggradig erniedrigt war.

In Gruppe 2 lagen alle Triglycerid- und LDL-Werte im Normbereich. Drei Patienten zeigten einen erhöhten Cholesterinspiegel von über 220 mg/dl

bis maximal 253 mg/dl, hierunter eine Patientin mit einem Cholesterinwert von 244 mg/dl sowie einem erniedrigtem HDL von 43 mg/dl. Eine weitere Patientin fiel mit einem isolierten, mäßig erniedrigten HDL von 33 mg/dl auf. In Gruppe 3 zeigten zwei Patienten erhöhte Triglyceride, wobei ein Patient mit bekanntem Diabetes mellitus Typ II einen Wert von 594 mg/dl aufwies und auch ein deutlich erhöhtes Cholesterin mit 341 mg/dl hatte. Weitere zwei Patienten zeigten erhöhte Cholesterin- und LDL-Werte. Bei insgesamt drei Patienten war das HDL zum Teil deutlich, mit 24 mg/dl bei einer weiblichen Probandin, erniedrigt. In Patientengruppe 4 lagen alle Triglycerid- und LDL-Werte im mittleren bis oberen Normbereich. Zwei Patienten zeigten zusätzlich erhöhte Cholesterinwerte, wobei jedoch die übrigen Fettstoffwechselfparameter alle im ebenfalls im oberen Normbereich angesiedelt waren. Zusätzlich fiel bei drei Patienten der Gruppe 4 ein erniedrigtes HDL auf.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die Mediane der untersuchten Fettstoffwechselfparameter (Triglyceride, Cholesterin und LDL) der Gruppe 4 über denen der übrigen Patientengruppen lagen, wohingegen der Median des HDL am niedrigsten war.

3.5.3 Laborparameter des Pankreas

Zum Ausschluss einer chronischen Pankreatitis (z. B. ART-induziert) mit daraus resultierenden möglichen Störungen der endokrinen, aber auch der exokrinen Pankreasfunktion als Ursache für metabolische Veränderungen wurden bei allen Patienten zusätzlich Amylase und Lipase aus dem Serum bestimmt. Diese Parameter können als frühes Zeichen einer akuten Pankreatitis bzw. bei einem erneuten Schub einer chronischen Pankreatitis erhöht sein. Dementsprechend kann es zu Störungen in der Glucoseverwertung bzw. der Lipidverstoffwechselfung kommen. Hierbei ist zu beachten, dass bei ca. 10% der Patienten mit vorliegender HIV-

Infektion erhöhte Amylaseserumspiegel durch eine HIV-bedingte Entzündung der Speicheldrüsen vorliegen können [1]. Die erhobenen Patientendaten der vier Patientenkollektive finden sich in der unten stehenden Tabelle 10, wobei die Normwerte (nüchtern) für Amylase < 53 U/l Serum und für Lipase zwischen 20 und 160 U/l Serum liegen.

	Gruppe 1 n = 11 (therapienaiv)	Gruppe 2 n = 11 (3 NRTI)	Gruppe 3 n = 10 (2 NRTI+1 NNRTI)	Gruppe 4 n = 6 (2 NRTI+1 PI)
Amylase (U/l)				
Median	73,0	54,5	62,5	57,5
Quartile	[51,0; 111,0]	[43,0; 77,0]	[40,0; 94,0]	[50,0; 67,0]
Minimum	41,0	34,0	29,0	31,0
Maximum	131,0	87,0	149,0	84,0
Lipase (U/l)				
Median	25,0	23,0	23,0	27,0
Quartile	[19,0; 40,0]	[18,0; 25,0]	[21,0; 32,0]	[18,0; 36,0]
Minimum	16,0	14,0	14,0	18,0
Maximum	49,0	27,0	55,0	37,0

Tabelle 10 Laborparameter des Pankreas in den untersuchten Patientenkollektiven

Die Mediane der Amylase lagen in den unter Therapie stehenden Patientenkollektiven zwischen 54,5–62,5 U/l, in der therapienaiven Gruppe war der Median noch höher und lag bei 73 U/l (Normwert < 53 U/l). Bei der Lipasebestimmung gab es jedoch bis auf wenige Patienten keine Auffälligkeiten. Insgesamt ergab sich somit kein Hinweis für eine akute Pankreatitis in den untersuchten Patientengruppen.

3.5.4 Laborparameter der Schilddrüse

Die Schilddrüse beeinflusst die Stoffwechselaktivität vieler Gewebearten. Zum Ausschluss einer Schilddrüsenstoffwechselerkrankung wurden bei allen an der Studie teilnehmenden Patienten TSH (Thyroidea stimulierendes Hormon, Normwert 0,4–5,0 mU/l), T3 (Trijodthyronin, Normwert 0,8–2,0 ng/ml) sowie T4 (Thyroxin, Normwert 4,5–12 µg/dl) im peripheren Blut bestimmt. Die erhobenen Daten der vier Patientenkollektive sind in Tabelle 11 zusammengefasst:

	Gruppe 1 n = 11 (therapienaiv)	Gruppe 2 n = 11 (3 NRTI)	Gruppe 3 n = 10 (2 NRTI+1 NNRTI)	Gruppe 4 n = 6 (2 NRTI+1 PI)
TSH (mU/l)				
Median	1,42	1,25	1,495	1,195
Quartile	[1,32; 3,75]	[0,97; 1,38]	[1,02; 2,61]	[0,82; 1,87]
Minimum	0,90	0,450	0,510	0,550
Maximum	6,64	1,800	5,470	3,030
T3 (ng/ml)				
Median	1,33	1,25	1,04	1,29
Quartile	[1,05; 1,61]	[1,03; 1,45]	[1,01; 1,23]	[1,17; 1,46]
Minimum	0,84	0,86	0,92	1,10
Maximum	2,36	1,68	1,29	1,60
T4 (µg/dl)				
Median	8,40	7,25	5,85	7,10
Quartile	[7,10; 10,6]	[6,80; 8,00]	[4,90; 7,40]	[7,00; 7,30]
Minimum	5,40	5,80	4,30	5,80
Maximum	12,90	9,40	7,90	9,30

Tabelle 11 Laborparameter der Schilddrüse in den untersuchten Patientenkollektiven

Bis auf eine latente Hyperthyreose (T3 und T4 normal, TSH erniedrigt) bei zwei Patienten in Gruppe 1 und 3 zeigten alle übrigen Patienten normale Schilddrüsenfunktionsparameter. Die weitere selektive Betrachtung der übrigen untersuchten Stoffwechselfparameter dieser zwei Patienten ergab keine weiteren Auffälligkeiten, so dass eine pathologische Beeinflussung anderer Stoffwechselkreisläufe durch eine latente Hyperthyreose ausgeschlossen werden konnte.

3.5.5 Carnitinbestimmung

Eine mögliche Ursache für angeborene Störungen des Fettsäurestoffwechsels sind mitochondrial lokalisierte Enzymdefekte. Um zu überprüfen, ob Veränderungen im Fettstoffwechsel in den untersuchten Patientenkollektiven durch mitochondrial lokalisierte Enzymdefekte verursacht wurden, wurde der Carnitinstoffwechsel mit Hilfe des Radioimmunoassays und der Tandem-Massenspektrometrie in den vier Patientenkollektiven analysiert. Die Radioimmunoassay und die Tandem-Massenspektrometrie erlauben eine zuverlässige Bestimmung dieser Metabolite im Patientenserum und somit eine Diagnostik der speziellen Stoffwechselstörungen. In dieser Studie wurde mittels des Radioimmunoassays Gesamt-Carnitin, freies Carnitin und Acylcarnitin sowie mit der Tandem-Massenspektrometrie das gesamte Carnitin-Muster mit freiem Carnitin, Acetyl-Carnitin, Propionyl-Carnitin, Butyryl-Carnitin, Hexanoyl-Carnitin, Octanoyl-Carnitin, Decanoyl-Carnitin, C14-Carnitin und C16-Carnitin bestimmt. Die Ergebnisse sind für die verschiedenen Patientengruppen in Tabelle 12 und 13 zusammengefasst:

Ergebnisse

	Gruppe 1 n = 11 therapienaiv	Gruppe 2 n = 11 3 NRTI	Gruppe 3 n = 10 2 NRTI+1 NNRTI	Gruppe 4 n = 6 2 NRTI+1 PI	Normwert
Gesamt-Carnitin (µmol/l)					
Median	49,0	44,0	49,1	43,7	54,0±12,6
Quartile	[38,5; 60,1]	[35,1; 49,8]	[39,7; 51,5]	[36,1;51,0]	
Minimum	32,4	32,3	34,2	35,9	
Maximum	65,9	83,9	55,4	60,8	
Freies Carnitin (FC) (µmol/l)					
Median	42,0	37,9	38,4	33,4	39,1±8,6
Quartile	[32,8; 46,9]	[29,0; 43,6]	[32,0; 42,1]	[30,0;47,1]	
Minimum	25,7	23,6	22,9	26,2	
Maximum	49,0	79,5	43,5	52,5	
Acylcarnitin (AC) (µmol/l)					
Median	6,7	5,0	8,8	8,3	14,9±7,0
Quartile	[3,0; 14,5]	[3,3; 9,3]	[6,7; 10,7]	[6,1; 9,7]	
Minimum	1,9	1,4	1,3	3,9	
Maximum	16,9	11,5	28,6	10,3	
AC/ FC					
Median	0,25	0,15	0,24	0,20	0,39±0,17
Quartile	[0,09; 0,30]	[0,06; 0,30]	[0,18; 0,30]	[0,16;0,31]	
Minimum	0,05	0,03	0,04	0,08	
Maximum	0,40	0,50	1,20	0,40	

Tabelle 12 Serum-Carnitinbestimmung mittels Radioimmunoassay in den untersuchten Patientenkollektiven

Insgesamt fanden sich in der mittels Radioimmunoassay durchgeführten Analyse keine tiefgreifenden Veränderungen der Carnitinfraktionen im Serum der vier Patientengruppen.

Ergebnisse

	Gruppe 1 n = 11 therapienaiv	Gruppe 2 n = 11 3 NRTI	Gruppe 3 n = 10 2 NRTI+1 NNRTI	Gruppe 4 n = 6 2 NRTI+1 PI	Normwert
Freies Carnitin (µmol/l)					
Median	31,6	26,2	30,2	26,1	21,4-44,4
Quartile	[31,0; 38,1]	[21,6; 36,1]	[26,9; 38,4]	[26,1;26,3]	
Minimum	17,6	15,4	22,4	22,8	
Maximum	53,3	39,4	51,5	37,1	
Acetyl-Carnitin (µmol/l)					
Median	10,54	7,43	10,35	9,43	4,10-20,30
Quartile	[9,97;11,73]	[6,81; 8,70]	[8,71;13,18]	[9,27;10,14]	
Minimum	8,23	4,35	7,05	7,20	
Maximum	16,22	14,14	15,26	14,43	
Propionyl-Carnitin (µmol/l)					
Median	0,46	0,35	0,41	0,67	0,00-1,20
Quartile	[0,40; 0,53]	[0,25; 0,57]	[0,31; 0,76]	[0,55; 0,67]	
Minimum	0,23	0,21	0,07	0,48	
Maximum	0,86	1,12	0,92	0,89	
Butyryl-Carnitin (µmol/l)					
Median	0,39	0,27	0,47	0,43	0,00-3,00
Quartile	[0,35; 0,41]	[0,19; 0,39]	[0,33; 0,62]	[0,35;0,55]	
Minimum	0,20	0,16	0,20	0,15	
Maximum	0,57	0,75	0,72	0,67	
Hexanoyl-Carnitin (µmol/l)					
Median	0,28	0,25	0,25	0,21	0,00-1,20
Quartile	[0,26; 0,30]	[0,21; 0,31]	[0,22; 0,30]	[0,19;0,22]	
Minimum	0,11	0,02	0,14	0,14	
Maximum	0,38	0,45	0,36	0,22	

Ergebnisse

Octanoyl-Carnitin (µmol/l)					
Median	0,13	0,13	0,15	0,12	0,00-0,30
Quartile	[0,13; 0,26]	[0,08; 0,23]	[0,09; 0,20]	[0,09;0,14]	
Minimum	0,12	0,04	0,05	0,08	
Maximum	0,37	0,45	0,28	0,33	
Decanoyl-Carnitin (µmol/l)					
Median	0,25	0,17	0,24	0,21	0,00-0,50
Quartile	[0,15; 0,41]	[0,09; 0,48]	[0,19; 0,26]	[0,12;0,21]	
Minimum	0,12	0,06	0,08	0,10	
Maximum	0,51	0,66	0,50	0,64	
C14-Carnitin (µmol/l)					
Median	0,05	0,06	0,07	0,07	0,00-0,20
Quartile	[0,04; 0,07]	[0,04; 0,07]	[0,05; 0,08]	[0,03;0,10]	
Minimum	0,02	0,02	0,04	0,02	
Maximum	0,12	0,09	0,08	0,18	
C16-Carnitin (µmol/l)					
Median	0,10	0,11	0,20	0,12	0,00-0,30
Quartile	[0,09; 0,13]	[0,06; 0,15]	[0,13; 0,22]	[0,09;0,23]	
Minimum	0,08	0,04	0,11	0,08	
Maximum	0,16	0,16	0,29	0,33	

Tabelle 13 Carnitin-Musterbestimmung mittels TMS in den untersuchten Patientenkollektiven

Zusammenfassend fanden sich bis auf einzelne marginal erhöhte/erniedrigte Carnitinwerte ohne Krankheitswert keine Hinweise für pathologisch veränderte Carnitinfraktionen sowohl im Radioimmunoassay als auch in der Tandem-Massenspektrometrie im Serum unter den therapienaiven sowie bei den unter HAART stehenden Studienteilnehmern.

Somit ergab sich kein Hinweis für einen mitochondrial lokalisierten Enzymdefekt in den vier Patientengruppen.

3.6 Body-Mass-Index (BMI) und Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA)

Die bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) diene in dieser Studie zur Analyse der Körperzusammensetzung und damit zur Aufdeckung einer möglichen Lipodystrophie. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass mit Hilfe dieser Methode nur das Gesamtkörperfett, nicht aber dessen anatomische Verteilung erfasst wird, wie dies mit anderen Methoden, z. B. DEXA, möglich ist. Sie hat jedoch den Vorteil einer einfachen und schnellen Untersuchungsmodalität ohne mögliche schädigende Einflüsse (Röntgenstrahlung bei der DEXA-Methode) auf den Patienten. Die Auswertung des BMI und der Parameter der bioelektrischen Impedanzanalyse (TBW, BF, LBM, BCM und ECM) erfolgte innerhalb der verschiedenen Kollektive nach dem Geschlecht getrennt, da unterschiedliche Normwerte für beide Geschlechter existieren.

3.6.1 Body-Mass-Index (BMI)

Die beiden anthropometrischen Parameter Körpergröße und Körpergewicht der Patienten wurden geschlechtsspezifisch betrachtet und dienten der Berechnung des BMI (Körpergewicht in kg/[Körpergröße in m]²). Anhand des BMI ist eine Einteilung der Patienten in die Kategorie normal-, unter- oder übergewichtig möglich, wobei Übergewicht in ein mäßiges, ein deutliches und in ein extremes Übergewicht eingeteilt wird. Als Referenzwert wird ein BMI für Männer von 20–25 sowie für Frauen ein BMI zwischen 19 und 24 angesehen. Von Untergewicht wird bei einem BMI von < 20, von einem mäßigen Übergewicht zwischen 25 und 30, einem deutlichen Übergewicht zwischen 30 und 40 und extremen Übergewicht

von > 40 gesprochen [6, 21]. Die erhobenen Daten zeigen Tabelle 14 und 15:

Gruppe	Niedrigster BMI	1. Quartil BMI	Median BMI	3. Quartil BMI	Höchster BMI
1	16,00	20,00	21,00	24,00	31,00
2	19,00	21,50	24,00	26,00	31,00
3	20,00	22,50	24,00	25,75	33,00
4	23,00	23,00	23,50	25,50	27,00

Tabelle 14 BMI der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Gruppe	Niedrigster BMI	1. Quartil BMI	Median BMI	3. Quartil BMI	Höchster BMI
1	22,00	22,00	22,00	23,00	24,00
2	21,00	23,25	24,50	27,00	33,00
3	22,00	23,00	24,00	25,00	26,00

Tabelle 15 BMI der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Die ermittelten Mediane lagen bei den männlichen Patientengruppen zum Zeitpunkt der Datenerhebung im Normbereich. Der Median der Gruppe 2 der weiblichen Patientinnen lagen mit 24,50 gerade im Bereich des mäßigen Übergewichts. Die Mediane lagen damit im Wesentlichen im Normbereich. Es zeigten sich keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Gruppen.

3.6.2 Gesamtkörperwasser (Total Body Water, TBW)

Das Gesamtkörperwasser ist das in den Geweben enthaltene Elektrolytwasser. Es wird in Litern (l) angegeben. Das TBW der männlichen und weiblichen Studienteilnehmern ist in den unten aufgeführten Tabellen 16 und 17 wiedergegeben:

Gruppe	Geringstes TBW (l)	1. Quartil TBW (l)	Median TBW (l)	3. Quartil TBW (l)	Höchstes TBW (l)
1	38,10	39,05	47,10	52,50	57,20
2	35,50	44,03	48,20	50,20	61,40
3	42,40	44,00	45,20	47,45	68,20
4	40,30	44,30	47,30	47,90	50,90

Tabelle 16 Körperwasser der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Gruppe	Geringstes TBW (l)	1. Quartil TBW (l)	Median TBW (l)	3. Quartil TBW (l)	Höchstes TBW (l)
1	29,20	30,10	31,00	31,90	32,80
2	32,60	32,98	36,15	40,43	44,10
3	27,90	28,82	31,75	33,68	35,60

Tabelle 17 Körperwasser der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Das Gesamtkörperwasser, welches mit 40–60% das größte Körperkompartiment darstellt, zeigt deutliche Unterschiede zwischen den männlichen und weiblichen Studienteilnehmern: Der deutlich höhere Wassergehalt bei Männern ist durch das im Mittel höhere Körpergewicht und den niedrigeren Körperfettanteil zu erklären. Es finden sich keine wesentlichen Unterschiede der Mediane innerhalb der männlichen und weiblichen Patientengruppen.

3.6.3 Körperfett (Body Fat, BF)

Das Körperfett wird in Kilogramm (kg) angegeben und stellt den Anteil am Gesamtkörpergewicht dar: 10–15% beim normalgewichtigen Mann und 20–25% bei der normalgewichtigen Frau. Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 und 19 dargestellt.

Gruppe	Kleinstes BF (kg)	1. Quartil BF (kg)	Median BF (kg)	3. Quartil BF (kg)	Größtes BF (kg)
1	2,10	6,65	8,10	12,25	31,90
2	6,40	10,67	11,80	22,75	69,40
3	3,20	9,90	19,90	42,40	65,90
4	2,90	5,00	9,65	10,70	15,50

Tabelle 18 Fettmasse der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Gruppe	Kleinstes BF (kg)	1. Quartil BF (kg)	Median BF (kg)	3. Quartil BF (kg)	Größtes BF (kg)
1	8,20	12,65	17,10	18,85	20,60
2	14,80	19,07	20,50	22,82	29,80
3	15,90	18,00	20,10	22,20	24,30

Tabelle 19 Fettmasse der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Bei Frauen findet sich ein größerer Fettgewebsanteil als bei Männern. Dies spiegelt sich auch in den Ergebnissen wider. Insgesamt lassen sich keine wesentlichen Unterschiede innerhalb der männlichen als auch der weiblichen Gruppen feststellen.

3.6.4 Magermasse (Lean Body Mass, LBM)

Die Magermasse (kg) ist die Summe aus BCM und ECM [4]. Die Analyse erfolgte gruppen- und geschlechtsspezifisch und ist in Tabelle 20 und 21 wiedergegeben.

Gruppe	Kleinste LBM (kg)	1. Quartil LBM (kg)	Median LBM (kg)	3. Quartil LBM (kg)	Größte LBM (kg)
1	52,00	53,30	64,30	71,70	78,10
2	20,60	50,88	61,95	65,97	83,90
3	9,10	34,25	58,80	62,75	93,10
4	55,10	60,52	64,60	65,38	69,50

Tabelle 20 Magermasse der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Gruppe	Kleinste LBM (kg)	1. Quartil LBM (kg)	Median LBM (kg)	3. Quartil LBM (kg)	Größte LBM (kg)
1	39,90	41,15	42,40	43,60	44,80
2	44,50	45,03	49,35	55,17	60,20
3	38,10	40,75	43,40	46,05	48,70

Tabelle 21 Magermasse der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Die Mediane der Magermassen liegen bei den männlichen Probanden durchweg höher als bei den weiblichen Studienteilnehmern, welches v. a. aufgrund der höheren Körperzellmasse (Muskulatur) zu erklären ist. Es fanden sich keine wesentlichen Unterschiede innerhalb der männlichen und innerhalb der weiblichen Patientengruppen.

3.6.5 Körperzellmasse (Body Cell Mass, BCM)

Die Körperzellmasse (kg) ist die Summe der sauerstoffverbrauchenden, glucoseoxidierenden Zellen (z.B. Muskelzellen, Zellen der inneren Organe, des Nervensystems und des Blutes) und damit eine Teilkomponente der Magermasse. Normalwerte lassen sich über den Anteil der Zellmasse in der Magermasse definieren: Männer sollten zwischen 53 und 60% und Frauen zwischen 51 und 58% BCM in der Magermasse haben [4]. Die Ergebnisse sind geschlechtsspezifisch in Tabelle 22 und 23 zusammengefasst.

Gruppe	Kleinste BCM (kg)	1. Quartil BCM (kg)	Median BCM (kg)	3. Quartil BCM (kg)	Größte BCM (kg)
1	26,10	29,55	33,40	40,00	45,90
2	25,60	33,43	36,15	38,12	47,70
3	33,30	34,20	34,60	35,45	52,90
4	32,40	33,80	34,60	36,98	39,80

Tabelle 22 Körperzellmasse der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Gruppe	Kleinste BCM (kg)	1. Quartil BCM (kg)	Median BCM (kg)	3. Quartil BCM (kg)	Größte BCM (kg)
1	23,00	23,45	23,90	24,75	25,60
2	23,50	25,98	27,30	29,28	33,70
3	21,00	21,90	22,80	23,70	24,60

Tabelle 23 Körperzellmasse der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Entsprechend des geringeren Anteils an Muskulatur an der BCM findet man bei weiblichen Studienteilnehmern kleinere Mediane der Körperzellmassen im Vergleich zu männlichen Probanden. Innerhalb der

männlichen und weiblichen Patientengruppen lagen die Mediane im Wesentlichen im Normbereich. Es lassen sich keine Unterschiede unter den männlichen und unter den weiblichen Patientengruppen ausmachen.

3.6.6 Extrazelluläres Volumen (Extracellular Mass, ECM)

Das extrazelluläre Volumen (in Kilogramm, kg) ist der Teil der Magermasse, der sich außerhalb der Zellen befindet. Die geschlechtsspezifische Gruppenanalyse zeigt Tabelle 24 und 25:

Gruppe	Kleinste ECM (kg)	1. Quartil ECM (kg)	Median ECM (kg)	3. Quartil ECM (kg)	Größte ECM (kg)
1	22,70	24,55	27,80	32,85	34,60
2	-18,00	23,50	27,50	29,85	36,20
3	-25,20	-0,15	24,20	28,00	40,20
4	21,50	25,50	28,35	29,62	33,10

Tabelle 24 Bestimmung des extrazellulären Volumens der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Gruppe	Kleinste ECM (kg)	1. Quartil ECM (kg)	Median ECM (kg)	3. Quartil ECM (kg)	Größte ECM (kg)
1	16,80	16,85	16,90	18,90	20,90
2	17,70	20,70	23,70	25,90	26,50
3	17,10	18,85	20,60	22,35	24,10

Tabelle 25 Bestimmung des extrazellulären Volumens der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Es fanden sich Unterschiede zwischen den Geschlechtern, jedoch keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Gruppen.

3.6.7 Phasenwinkel (PA)

Der Phasenwinkel ist ein direkter Messparameter und stellt ein generelles Maß für die Membranintegrität der Zellen des Organismus dar. Mit ihm lassen sich deshalb Aussagen über den Zustand der Zellen und damit über den Gesundheitszustand des Organismus machen. Der Normwert liegt für beide Geschlechter zwischen 5,0–9,0°. Ein Absinken des Phasenwinkels unter 4° wird als ein prognostisch ungünstiges Zeichen bei HIV-Infektion gewertet. Die Ergebnisse der männlichen und weiblichen Studienteilnehmer sind gruppenspezifisch in Tabelle 26 und 27 zusammengefasst:

Gruppe	Kleinster Phasenwinkel	1. Quartil Phasenwinkel	Median Phasenwinkel	3. Quartil Phasenwinkel	Größter Phasenwinkel
1	5,300	6,350	6,900	7,225	7,700
2	6,200	6,575	6,800	6,875	7,100
3	5,700	6,750	7,100	7,500	7,600
4	5,500	6,675	7,300	7,400	8,200

Tabelle 26 Phasenwinkel der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Gruppe	Kleinster Phasenwinkel	1. Quartil Phasenwinkel	Median Phasenwinkel	3. Quartil Phasenwinkel	Größter Phasenwinkel
1	6,300	6,800	7,300	7,650	8,000
2	6,000	6,675	7,450	8,000	8,000
3	5,700	5,950	6,200	6,450	6,700

Tabelle 27 Phasenwinkels der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Insgesamt lagen alle Studienteilnehmer im Normbereich. Damit ergibt sich kein Hinweis für eine Zellschädigung.

3.6.8 Zellanteil

Der Zellanteil wird in % angegeben und gibt den prozentualen Anteil der Zellmasse der BCM in der Magermasse an. Die geschlechts- und gruppenspezifischen Ergebnisse zeigen die Tabellen 28 und 29:

Gruppe	Kleinster Zellanteil (%)	1. Quartil Zellanteil (%)	Median Zellanteil (%)	3. Quartil Zellanteil (%)	Größter Zellanteil (%)
1	48,40	52,35	56,00	57,85	59,30
2	52,90	54,60	55,80	56,70	187,40
3	55,20	56,20	58,80	199,40	365,90
4	49,50	54,98	57,65	58,00	61,00

Tabelle 28 Zellanteile der männlichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Gruppe	Kleinster Zellanteil (%)	1. Quartil Zellanteil (%)	Median Zellanteil (%)	3. Quartil Zellanteil (%)	Größter Zellanteil (%)
1	53,30	55,45	57,60	59,00	60,40
2	52,00	52,00	54,00	57,05	60,20
3	50,50	51,65	52,80	53,95	55,10

Tabelle 29 Zellanteile der weiblichen Studienteilnehmer in den untersuchten Patientenkollektiven

Die Mediane aller Patientengruppen lagen im Normbereich. Zusammenfassend betrachtet ergab die bioelektrische Impedanzanalyse keinen Hinweis für das Vorliegen einer ausgeprägten Lipodystrophie in den untersuchten Patientengruppen.

3.7 Erschöpflichkeits-Fragebogen (Fatigue-Fragebogen)

Die Erschöpflichkeit (Fatigue) ist ein Kardinalsymptom mitochondrialer Störungen und somit eine typische klinische Manifestation bei der ART-assoziierten symptomatischen Hyperlaktatämie oder Laktatazidose. Bei dem in der Studie verwendeten Fatigue-Fragebogen von Herrn Prof. Dr. W. A. Nix und Herrn Dr. J. Hardt vom Institut für Psychosomatische Medizin und Psychotherapie der Universität Mainz wurde zunächst Cronbachs Alpha bestimmt, um die interne Konsistenz zu überprüfen, da dieser Fragebogen für Deutschland noch nicht validiert war. Cronbachs Alpha, das Maß für die interne Konsistenz, liegt bei 95,5%. Wenn Cronbachs Alpha wie in diesem Fall einen relativ hohen Wert erreicht, ist dies ein sicheres Zeichen, dass dasselbe unterliegende Konstrukt gemessen wird, also eine hohe interne Konsistenz vorliegt. Erst bei einer hohen internen Konsistenz wie in diesem Fall dürfen die Ergebnisse dieses Fragebogens interpretiert werden. Mit Hilfe des Fragebogens wurde überprüft, ob sich in den verschiedenen Gruppen Unterschiede hinsichtlich

der Fatiguerate ergeben. Tabelle 30 gibt die erhobenen Patientendaten wieder:

	Gruppe 1 n = 11 (therapienaiv)	Gruppe 2 n = 11 (3 NRTI)	Gruppe 3 n = 10 (2 NRTI+1 NNRTI)	Gruppe 4 n = 6 (2 NRTI+1 PI)
Anzahl der Patienten				
erschöpft (absolut)	3	3	3	2
(%)	27,3	27,3	30,0	33,3
nicht erschöpft (absolut)	8	8	7	4
(%)	72,7	72,7	70,0	66,7

Tabelle 30 Erschöpflichkeits-Fragebogen (Fatigue-Fragebogen)

Die Auswertung der Fragebögen ergab, dass insgesamt nur elf der an der Studie teilgenommenen Patienten (29%) sich in ihrem täglichen Leben erschöpft fühlten. Prozentual ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede zwischen den verschiedenen Patientengruppen hinsichtlich der Fatiguerate.

4. Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, im Rahmen einer Pilotstudie Veränderungen im Stoffwechsel HIV-infizierter Patienten zu detektieren, die auf eine mögliche Prädisposition für klinisch relevante Laktatazidosen als Nebenwirkung einer antiretroviralen Therapie hinweisen. Dazu wurde bei HIV-Patienten mit unterschiedlichen antiretroviralen Therapieregimen ein oraler Glukosetoleranztest (oGTT) mit Bestimmung der Glukose- und Laktatverläufe durchgeführt, um latente Störungen der Atmungskette aufzudecken [60]. Zur Detektion von ART-induzierten Enzymdefekten der mitochondrialen Atmungskette wurden zusätzlich das Serumcarnitin quantitativ mittels Radioimmunoassay [48] und das Carnitin-Muster mittels Tandem-Massenspektrometrie überprüft [22, 27] sowie der Gehalt an mitochondrialer DNA in peripheren Blut-Lymphozyten bestimmt. Ergänzend wurden weitere zentrale Laborparameter des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels erfasst, um einen umfassenden Überblick über die Stoffwechselsituation der in die Studie eingeschlossenen Patienten zu erhalten.

Die bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) diente der Evaluierung der Körperzusammensetzung und damit der Aufdeckung einer möglichen Lipodystrophie. Die subjektive Bewertung der Patienten zur eigenen Erschöpflichkeit wurde mittels eines standardisierten Fatigue-Fragebogens erhoben.

Die Blutglukosespiegel nach oraler Glukosebelastung zeigten bis auf wenige Ausnahmen bei allen untersuchten HIV-Patienten einen normalen Verlauf. Es fanden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den vier Patientengruppen zu den verschiedenen Messpunkten.

Korrespondierend zu dem Glukoseanstieg fand sich eine Stunde nach oraler Glukosebelastung ein Anstieg des Serumlaktats, welches in der 2. und 3. Stunde wieder abfiel. Statistisch ließen sich keine signifikanten Unterschiede der Serumlaktatspiegel nach Glukosebelastung zwischen den vier Patientengruppen feststellen.

Allerdings zeigten drei Patienten aus der Patientengruppe 3, welche mit einem Therapieregime, bestehend aus zwei NRTIs und einem NNRTI behandelt wurden (Gruppe 3) bereits nüchtern sowie auch nach Glukosebelastung deutlich erhöhte Laktatwerte. Die drei Patienten erhielten D4T (Stavudin, Zerit®) als eines der beiden Nukleosidanaloga des „NRTI-Backbone“. Klinisch entwickelten die drei Patienten im weiteren Verlauf außerhalb des Studienzeitraumes eine symptomatische Hepatitis mit Transaminasenerhöhung und Symptomen eines Atmungskettendefektes (Abgeschlagenheit, uncharakteristische Abdominalbeschwerden und pathologische Glukosetoleranz). Die Leberbiopsien ergaben bei allen drei Probanden eine Steatosis hepatis auf dem Boden einer medikamentös toxischen Schädigung. Eine zusätzliche DNA-Analyse der gewonnenen Leberzellproben mittels rtPCR konnte bei einem der drei Patienten eine mitochondriale DNA-Depletion in den Hepatozyten nachweisen. Auch Walker [65, 66, 68] konnte eine Assoziation von hepatischen Steatosen unter NRTI-Einnahme mit mitochondrialer Toxizität zeigen. In In-vitro-Versuchen [44] konnte weiterhin demonstriert werden, dass Stavudin (D4T) durch Depletion der mitochondrialen DNA eine mitochondriale Toxizität vermittelt. Nach Absetzen von D4T kam es bei allen drei Patienten zu einer Normalisierung der Laktat-, Transaminasen- und Cholestaseparameter. Dieses deutet auf einen Zusammenhang von

Hepatotoxizität und mitochondrialer Dysfunktion mit der Einnahme von Stavudin hin.

Um zu prüfen, ob es unter antiretroviraler Therapie zu einer Depletion von mitochondrialer DNA in peripheren Blutzellen kommt, wurde der mitochondriale DNA-Gehalt in peripheren Blut-Lymphozyten in allen Patientengruppen untersucht. Mit der zum Zeitpunkt der Studie verfügbaren Methode der Wahl (Southernblot) ergab sich erwartungsgemäß in Gruppe 1 (therapienaiv) kein Hinweis für das Vorliegen einer mtDNA-Depletion in zirkulierenden Lymphozyten. In den unter antiretroviraler Therapie stehenden Patientengruppen 2 und 3 wurde hingegen bei zwei (Gruppe 2) bzw. drei (Gruppe 3) Patienten der Verdacht auf eine mitochondriale DNA-Depletion gestellt. Die asservierten Blutproben aller vier Patientengruppen wurden zusätzlich mit Hilfe eines später etablierten sensitiveren Testverfahrens, der real-time PCR (rtPCR), auf das Vorliegen einer mtDNA-Depletion untersucht. Mit dieser Methode ließen sich die Verdachtsfälle einer mtDNA-Depletion nach der Southernblot-Untersuchung nicht bestätigen. Die rtPCR erbrachte bei keinem der an der Studie teilnehmenden Patienten den Nachweis einer mtDNA-Depletion in peripheren Blut-Lymphozyten. Dennoch zeigte sich bei den bereits oben beschriebenen drei Patienten der Gruppe 3 im weiteren klinischen Verlauf eine symptomatische Hepatitis mit Hyperlaktatämie. Diese basierte auf einer mitochondrialen Schädigung der betreffenden Organzellen (Hepatozyten) durch mitochondriale DNA-Depletion, welche bei einem Patienten mittels der rtPCR in der Leberbiopsie nachgewiesen werden konnte. Bei begründetem Verdacht ist daher eine organspezifische DNA-Analyse mittels rtPCR, bei Hepatotoxizität aus Hepatozyten, zur ätiologischen Abklärung sinnvoll. Zu diesem Schluss kommt auch Walker [71]. Er hält die Bestimmung der mtDNA aus dem betreffenden Gewebe mittels Biopsie für einen sensitiven Parameter, weist jedoch auf die Invasivität der Methode sowie die fehlende klinische Evaluierung in Studien hin.

Mittlerweile sind folgende Pathomechanismen der mitochondrialen Toxizität bekannt, welche sich mit unseren Ergebnissen decken [69]:

1. Es besteht eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen der NRTI-Konzentration und dem Ausmaß der mtDNA-Depletion. Die empfohlenen Dosierungen einiger Nukleosidanaloga liegen hinsichtlich „mitochondrialer“ Nebenwirkungen an der oberen Grenze der Verträglichkeit.
2. Die mtDNA-Depletion entwickelt sich meist erst mit prolongierter NRTI-Exposition. Bei lang andauernder Exposition können auch niedrige NRTI-Spiegel diese Nebenwirkungen induzieren.
3. Die in der ART eingesetzten Nukleosid- und Nukleotidanaloga interagieren unterschiedlich stark mit der mitochondrialen Polymerase γ . Für die aktiven Metabolite der NRTI besteht die folgende Hierarchie der Hemmkapazität für die mitochondriale Polymerase γ : ddC (HIVID[®]) > DDI (Videx[®]) > D4T (Zerit[®]) > 3TC (Epivir[®]) \geq ABC (Ziagen[®]) \geq TDF (Viread[®]) \geq FTC (Emtriva[®]) [69].
4. Der NRTI AZT ist ein Sonderfall. AZT-Triphosphat ist nur ein sehr schwacher Inhibitor der Polymerase γ . Für die unter AZT beobachtete mtDNA-Depletion wird deshalb ein von der γ -Polymerasehemmung unabhängiger Mechanismus diskutiert. AZT ist ein Hemmer der intrazellulär lokalisierten Thymidinkinasen und kann dadurch die Synthese von DNA-Bausteinen inhibieren und eine mtDNA-Depletion induzieren [49, 56]. AZT scheint in einigen Körperzellen darüber hinaus zu D4T verstoffwechselt zu werden [3, 7].
5. Die mitochondriale Toxizität der NRTI ist gewebespezifisch, da die intrazelluläre und intramitochondriale Aufnahme sowie die Aktivierung der NRTIs durch Phosphorylierung von Zelltyp zu Zelltyp sehr unterschiedlich ablaufen können.
6. Mehrere NRTIs können sich in ihrer Toxizität gegenseitig verstärken.

7. Zusätzlich wird unabhängig von mtDNA-Depletionen eine Beeinträchtigung der mitochondrialen Transkription unter ART diskutiert [47].

Zur Beurteilung des Kohlenhydratstoffwechsels wurden neben Glukose und Laktat Insulin, C-Peptid und HbA_{1c} bestimmt. Das C-Peptid (connecting-peptide) wird aus dem Vorläufermolekül Proinsulin während der Biosynthese des Insulins abgespalten und in das Serum abgegeben. Es korreliert mit der Sekretionsleistung der Inselzellen des Pankreas. Der Anteil von Hämoglobin A_{1c} korreliert mit der Blutzuckerstoffwechsellage der letzten 90 Tage und ist damit ein wesentlich stabilerer Parameter zur Langzeiterfassung des Blutglukosespiegels als die einzelne Blutglukosebestimmung.

Die Mediane der basalen Insulinplasmaspiegel der verschiedenen Patientengruppen lagen allesamt im Normbereich. Bei einem Patienten aus der therapienaiven Patientengruppe mit einem leicht erhöhten Nüchternglukosewert fand sich eine erhöhte Insulinkonzentration vor oraler Glukosebelastung, so dass hier eine pathologische Glukosetoleranz vorlag oder aber der Patient vor der ersten Blutentnahme, entgegen dem Studienprotokoll, nicht zwölf Stunden nüchtern war. Bei zwei Patienten der Gruppe 3 mit einem bekannten Diabetes mellitus Typ II fanden sich erwartungsgemäß erhöhte basale Insulinwerte. Diese erhöhten Nüchternwerte entsprechen einer Hyperinsulinämie bei peripherer Insulinresistenz bei Diabetes mellitus Typ II [63].

Analog zu den Medianen der basalen Plasmainsulinspiegel lagen die Mediane der C-Peptid-Konzentrationen für alle Patientengruppen ebenfalls im Normbereich. Es fanden sich jedoch bei den drei bereits oben erwähnten Patienten aus Gruppe 1 und 3 bis zu dreifach erhöhte basale C-Peptid-Konzentrationen von bis zu 9,8 ng/ml (Normwert 1–3 ng/ml nüchtern) analog zu den basal erhöhten Insulinwerten.

Hämoglobin A_{1c} (HbA_{1c}) gibt Auskunft über die Blutzuckerstoffwechsellage während der letzten 120 Tage: Zucker wird im Blutstrom an Erythrozyten gebunden (Glykolierung) und bleibt dort für die gesamte Lebenszeit des Erythrozyten gebunden. Insgesamt lagen die Mediane der HbA_{1c}-Werte aller Patientengruppen im Normbereich. In der therapienaiven Gruppe 1 und in Gruppe 4 fanden sich jeweils zwei Patienten mit marginal erhöhtem HbA_{1c} bei ansonsten unauffälligen Glukoseverläufen. In Gruppe 3 lag das höchste HbA_{1c} bei 7,2% bei einem Patienten mit bekanntem Diabetes mellitus Typ II, welches eine schlechte Blutzuckerstoffwechsellage in den letzten acht-zwölf Wochen dokumentiert [58].

Unter dem sogenannten Lipodystrophie-Syndrom wird bei HIV-Patienten ein Symptomenkomplex aus Fettumverteilungsstörungen und metabolischen Veränderungen verstanden [10], der vor allem unter Therapie mit Proteasehemmern (PI) und Nukleosidanaloga (NRTI) auftritt. Hierbei kommt es insbesondere unter Therapie mit Proteasehemmern zu ausgeprägteren Fettstoffwechseleränderungen. Allerdings haben die sog. Thymidinanaloga wie Stavudin und Didanosin ebenfalls einen ungünstigen Effekt auf den Fettstoffwechsel. Zu den metabolischen Veränderungen gehören neben Glucosetoleranzstörungen bis hin zum Diabetes mellitus Typ II Hypertriglyzeridämie, Hypercholesterinämie, erhöhtes Low Density Lipoprotein (LDL) und erniedrigtes High Density Lipoprotein (HDL).

In der therapienaiven Gruppe fanden sich keine tiefgreifenden Fettstoffwechselstörungen. In der mit Proteaseinhibitoren behandelten Patientengruppe (Gruppe 4) hingegen lagen die Mediane der untersuchten Fettstoffwechselfparameter (Cholesterin, Triglyzeride und LDL) über denen der übrigen Patientengruppen, während der Median für HDL in dieser Gruppe am niedrigsten war. Somit fanden sich, übereinstimmend mit anderen Studien [61, 62], Tendenzen zu Fettstoffwechselstörungen am häufigsten in der Patientengruppe 4, deren ART-Regime einen Proteasehemmer enthielt.

Zum Ausschluss einer chronischen Pankreatitis (z.B. ART-induziert) mit hieraus resultierenden Störungen der endokrinen oder exokrinen Pankreasfunktion als Ursache für metabolische Veränderungen (Störungen in der Glucoseutilisation bzw. der Lipidverstoffwechslung) wurden neben Insulin bei allen Patienten zusätzlich Amylase und Lipase aus dem Serum bestimmt. Hierbei ist zu beachten, dass durch eine HIV-bedingte Entzündung der Speicheldrüsen bei ca. 10% der Patienten erhöhte Amylaseserumspiegel vorliegen können [1]. In der Tat lag der Median der Amylasewerte in der therapienaiven Gruppe (73 U/l) am höchsten. Auch die Medianwerte der unter ART stehenden Patientenkollektive waren mit 54,5–62,5 U/l gegenüber dem Normwert (< 53 U/l) noch leicht erhöht.

Die Schilddrüse beeinflusst die Stoffwechselaktivität vieler Gewebearten. Zum Ausschluss einer Schilddrüsenstoffwechselstörung mit entsprechenden Auswirkungen auf den Intermediärstoffwechsel wurden bei allen an der Studie teilnehmenden Patienten TSH (Thyroidea stimulierendes Hormon), T3 (Trijodthyronin) sowie T4 (Thyroxin) im peripheren Blut bestimmt. Bis auf zwei Patienten mit einer latenten Hyperthyreose in Gruppe 1 und 3 zeigten alle übrigen Patienten normale Schilddrüsenfunktionsparameter. Die weitere selektive Betrachtung der übrigen untersuchten Stoffwechselfparameter dieser zwei Patienten ergab keine weiteren Auffälligkeiten, so dass eine pathologische Beeinflussung anderer Stoffwechselkreisläufe durch eine latente Hyperthyreose ausgeschlossen werden konnte.

Angeborene Störungen des Fettsäurestoffwechsels werden typischerweise durch mitochondrial lokalisierte Enzymdefekte verursacht. Die Diagnostik dieser speziellen Stoffwechselstörungen erfolgt mittels quantitativer Bestimmung der Metabolite im Patientenserum durch Radioimmunoassay [48] und Tandem-Massenspektrometrie [22, 27]. In dieser Studie wurden mit dem Radioimmunoassay Gesamt-Carnitin, freies Carnitin und Acylcarnitin sowie mit der Tandem-Massenspektrometrie das gesamte

Carnitin-Muster mit freiem Carnitin, Acetyl-Carnitin, Propionyl-Carnitin, Butyryl-Carnitin, Hexanoyl-Carnitin, Octanoyl-Carnitin, Decanoyl-Carnitin, C14-Carnitin und C16-Carnitin bestimmt. Korrespondierend zu den negativen Ergebnissen der mitochondrialen DNA-Analyse mittels rtPCR, mit welcher bei keinem der an der Studie teilnehmenden Patienten eine mtDNA-Depletion in peripheren Blutlymphozyten festgestellt werden konnte, fanden sich sowohl bei den therapienaiven als auch bei den unter ART stehenden Studienteilnehmern keine Hinweise für pathologisch veränderte Carnitinfraktionen im Radioimmunoassay und in der Tandem-Massenspektrometrie.

Die Analyse der Körperzusammensetzung zur Aufdeckung einer möglichen Lipodystrophie erfolgte mittels bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA) in jeder Gruppe nach dem Geschlecht getrennt. Insgesamt lagen die Mediane der BMIs (Body-Mass-Index) aller Patientengruppen im Normbereich. Auch bei den Medianen des Gesamtkörperwassers fanden sich keine Normabweichungen. Bei Männern ist der deutlich höhere Wassergehalt durch das im Mittel höhere Körpergewicht und den niedrigeren Körperfettanteil zu erklären, was sich auch bei den in dieser Studie beteiligten männlichen und weiblichen Patienten widerspiegelte. Bei der Beurteilung des Körperfettes fielen höhere Mediane in den weiblichen Patientenkollektiven auf, wobei dieses durch einen physiologisch höheren Anteil von Fettgewebe (20–25%) an der Gesamtkörpermasse bedingt wird. Die Mediane der Magermasse, die sich aus BCM und ECM zusammensetzen, fielen entsprechend höher bei den männlichen als den weiblichen Patientenkollektiven aus. Insgesamt ergab sich aus der bioelektrischen Impedanzanalyse kein Hinweis für das Vorliegen einer gruppenspezifisch ausgeprägten Lipodystrophie im untersuchten Patientengut.

Ein Kardinalsymptom mitochondrialer Störungen ist die Erschöpflichkeit (Fatigue; CFS, chronic fatigue syndrome) [52]. Diese wurde als mögliche klinische Manifestation einer ART-assoziierten symptomatischen Hyperlaktatämie oder Laktatazidose mit Hilfe eines Fatigue-Fragebogens erfasst. Bei dem in der Studie verwendeten Fatigue-Fragebogen wurde zunächst „Cronbachs Alpha“ als Maß für die interne Konsistenz überprüft. Der hierbei für Cronbachs Alpha ermittelte Wert von 95,5% dokumentiert eine hohe interne Konsistenz, so dass dieser Fragebogen die statistische Interpretation der Ergebnisse zulässt. Da sich jedoch lediglich elf der an der Studie teilnehmenden Patienten (29%) in ihrem täglichen Leben erschöpft fühlten, ergaben sich durch eine Subklassifikation dieser Patienten in die vier verschiedenen Therapiegruppen sehr kleine Fallzahlen mit prozentual ähnlichen Werten (circa 30% der Patienten pro Gruppe fühlten sich erschöpft). Aufgrund dieser kleinen Fallzahlen ließ sich keine sichere Aussage über einen Zusammenhang zwischen Erschöpflichkeit und antiretroviraler Therapie oder mit spezifischen ART-Regimen machen.

Zusammenfassend fanden sich bei dem Vergleich der drei unter ART stehenden Therapiegruppen (Gruppen 2–4) hinsichtlich der Verläufe der Laktatkonzentrationen untereinander keine statistisch signifikanten Unterschiede. Allerdings muss dabei berücksichtigt werden, dass die drei Patientengruppen nur eine geringe Anzahl an Patienten aufwiesen und hinsichtlich der Therapiedauer nicht strukturgleich waren. In einer fortführenden Multicenter-Studie mit entsprechend großer Patientenzahl müssten bei homogener Gruppengestaltung in Bezug auf Therapiedauer die unterschiedlichen Nukleosidanaloga gegeneinander untersucht werden, um hier einen möglichen Einfluss unterschiedlicher NRTIs auf den Laktatverlauf unter oraler Glucosebelastung zu erfassen.

Auch mtDNA-Analysen aus peripheren Blutlymphozyten mittels rtPCR korrelieren nach den von uns erhobenen Daten nicht mit dem Nachweis einer mitochondrialen Organschädigung. Vielmehr zeigte sich, dass es bei

HIV-infizierten Patienten mit symptomatischer Hyperlaktatämie zu schweren Organschäden kam, beruhend auf einer mitochondrialen Schädigung der betreffenden Organzellen (v. a. Hepatozyten) durch mtDNA-Depletion. Bei begründetem Verdacht ist daher eine organspezifische DNA-Analyse zur ätiologischen Abklärung notwendig.

5. Zusammenfassung

Die symptomatische Hyperlaktatämie oder Laktatazidose ist eine seltene lebensbedrohliche Nebenwirkung, die unter Einnahme von Nukleosidanaloga, insbesondere Thymidinanaloga, im Rahmen der antiretroviralen Therapie (ART) bei HIV-Infektion auftreten kann. Circa 15–35% der mit Nukleosidanaloga behandelten Patienten zeigen zudem regelmäßig einen leicht erhöhten Serum-Laktatspiegel, ohne dabei klinische Symptome einer Hyperlaktatämie zu entwickeln. Der dafür zumindest teilweise verantwortliche Mechanismus ist die Hemmung der mitochondrialen Polymerase γ durch Thymidinanaloga mit konsekutiver Depletion der mitochondrialen DNA (mtDNA). Ein prädiktiver klinischer oder laborchemischer Marker für die Entwicklung einer Laktatazidose unter ART existiert bislang nicht.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb, im Rahmen einer Pilotstudie Veränderungen im Stoffwechsel HIV-infizierter Patienten zu analysieren, die mit einer Prädisposition für klinisch relevante Laktatazidosen unter ART-Therapie assoziiert sind. Dazu wurden bei Patienten einer HIV-Kohorte ohne Therapie und unter verschiedenen antiretroviralen Therapieformen (Dreifachkombination von drei Nukleosidanaloga, Kombination von zwei Nukleosidanaloga plus Nicht-Nukleosidaler Reverse-Transkriptase-Inhibitor, Kombination von zwei Nukleosidanaloga plus Proteaseinhibitor,) zentrale Parameter des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels bestimmt und ein oraler Glukosetoleranztest mit Bestimmung der Glukose- und Laktatverläufe durchgeführt, um latente Störungen der Atmungskette aufzudecken. Der Vergleich der

unbehandelten und der drei unter ART stehenden Patientengruppen ergab hinsichtlich der Verläufe der Laktatkonzentrationen nach oraler Glukosebelastung, bei allerdings kleinen Patientenzahlen, keine statistisch signifikanten Unterschiede. Zusätzlich wurde zur Erfassung von ART-induzierten Enzymdefekten der mitochondrialen Atmungskette das Serumcarnitin quantitativ mittels Radioimmunoassay und das Carnitin-Muster mittels Tandemmassenspektrometrie überprüft sowie der Gehalt an mitochondrialer DNA in peripheren Blutlymphozyten mittels real-time PCR analysiert. Bei keinem der therapienaiven aber auch bei keinem der unter ART stehenden Patienten ließen sich pathologisch veränderte Carnitinfraktionen im Radioimmunoassay und in der Tandem-Massenspektrometrie oder eine mtDNA-Depletion in peripheren Blutlymphozyten nachweisen.

Drei Patienten zeigten im oralen Glukosebelastungstest bereits nüchtern einen erhöhten Laktatspiegel. Unter oraler Glucosebelastung kam es zu einem weiteren pathologischen Anstieg der Laktatwerte mit zum Teil verzögerter Laktatclearance als Hinweis auf einen gestörten Laktatstoffwechsel. Im weiteren Verlauf außerhalb des Studienzeitraumes entwickelten diese Patienten erhöhte Transaminasespiegel im Blut sowie sonographische Zeichen einer Steatosis hepatis. Die daraufhin durchgeführten histologischen Untersuchungen von Leberbiopsien zeigten bei allen drei Patienten das histologische Bild einer medikamentös-toxischen Steatosis hepatis. Die parallel am Biopsiematerial durchgeführte real-time PCR aus Hepatozyten zeigte bei einem der drei Patienten eine signifikante mtDNA-Depletion um 70%. Allen drei Patienten war eine Medikation mit D4T (Stavudin, Zerit[®]) gemeinsam. Nach Absetzen von D4T kam es bei allen drei Patienten zu einer Normalisierung der Leber- und Laktatwerte.

Insgesamt ließen sich in dieser Pilotstudie mit kleinen Patientenzahlen durch die zusätzlich zum Nüchternlaktat im Plasma durchgeführte

Bestimmung der Laktatverläufe nach oraler Belastung keine zusätzlichen pathologischen Veränderungen bei HIV-Patienten unter antiretroviraler Therapie detektieren. Durch Bestimmung der Carnitinfraktionen im Serum und die Analytik der mtDNA in peripheren Blutlymphozyten ließen sich ebenfalls keine Atmungskettendefekte unter ART erfassen. Demgegenüber ergab die mtDNA-Analyse mittels real-time PCR in der Leberbiopsie bei einem Patienten mit symptomatischer Laktatazidose trotz normaler mtDNA in peripheren Blutlymphozyten eine drastische mtDNA-Depletion in Hepatozyten unter Therapie mit Stavudin. Bei Organtoxizitäten unter Nukleosidtherapie sollte deshalb eine organspezifische mtDNA-Analyse mittels real-time PCR, bei Hepatotoxizität aus Hepatozyten, zur ätiologischen Abklärung in Erwägung gezogen werden.

6. Summary

Symptomatic hyperlactatemia or lactic acidosis is a rare life-threatening side effect, which can occur, when nucleoside analogues, particularly thymidine analogues, are taken during antiretroviral therapy (ART) for HIV infection. In addition, about 15–35% of all patients treated with nucleoside analogue show slightly elevated serum lactate levels without developing the clinical symptoms of hyperlactatemia. This seems to be at least partly mediated through inhibition of the mitochondrial polymerase γ by thymidine analogues with consecutive depletion of mitochondrial DNA (mtDNA). A predictive clinical or biochemical marker for the development of lactic acidosis during ART has not been identified yet.

Therefore, the goal of this thesis was to evaluate metabolic alterations under ART for their association with a predisposition for clinically relevant lactic acidosis in a pilot HIV cohort study. For this, central parameters of carbohydrate and lipid metabolism were determined in HIV patients without ART as well as in patients treated with different anti-retroviral drug combinations (three nucleoside analogues, two nucleoside analogues plus non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, two nucleoside analogues plus protease inhibitor). In addition, an oral glucose tolerance test with serial determination of glucose and lactate levels was performed in order to detect latent dysfunctions in the mitochondrial respiratory chain. The comparison of serial lactate serum levels after oral glucose load did not reveal any statistically significant differences between the non-treated and the three ART treated patient groups, however with small patient numbers in all groups. Furthermore, serum carnitine levels were

quantified by radioimmunoassay and carnitine patterns were analyzed with tandem mass spectrometry in order to reveal ART-induced enzyme defects of the mitochondrial respiratory chain. None of the non-treated, but also none of the ART-treated patients showed pathologically altered carnitine plasma levels or fractions and in none of the patients a depletion of mtDNA in peripheral blood lymphocytes was detectable.

Three patients showed elevated baseline lactate levels in the oral glucose load test. Under oral glucose load, further pathological increase of lactate levels occurred, partly with delayed lactate clearance suggesting disturbed lactate metabolism. Subsequently, these patients developed elevated transaminase blood levels together with sonographic hints of steatosis hepatis. Histological examination of respective liver biopsies confirmed toxic steatosis hepatis in all three patients. Evaluation of the liver biopsy material by real-time PCR revealed drastic mtDNA depletion of 70% in one of the patients. All three patients had received ART which included D4T (stavudine). After stopping medication with D4T (stavudine) all three patients showed a normalization of their elevated liver enzymes and lactate plasma values.

Overall, no additional pathological alterations of HIV patients under ART therapy were revealed by determining serial lactate levels after oral glucose load in addition to baseline lactate levels in this pilot study with a limited number of patients. Likewise, no mitochondrial respiratory chain defects could be detected under ART by determining the carnitine serum fractions or by mtDNA analysis in peripheral blood lymphocytes. However, mtDNA analysis with real-time PCR of liver biopsy material showed drastic mtDNA depletion of hepatocytes despite normal mtDNA levels in peripheral blood lymphocytes in one patient with symptomatic lactic acidosis under D4T (stavudine) therapy. Therefore, an organ-specific mtDNA analysis with real-time PCR, in case of hepatotoxicity in

hepatocytes, should be considered in case of organ toxicity during nucleoside therapy.

7. Literaturverzeichnis

- [1] Argiris, A.; Mathur-Wagh, U.; Wilets, I.; Mildvan, D.:
Abnormalities of serum amylase and lipase in HIV-positive patients.
Am J Gastroenterol 1999 May; 94 (5): 1248–52.
- [2] Barré-Sinoussi, F.; Cherman, J.C.; Rey, F.; Nugeyre, M.T.;
Chamaret, S.; Gruest, J.; Dauguet, C.; Axler-Blin, C.; Vézinet-Brun,
F.; Rouzioux, C.; Rozenbaum, W.; Montagnier, L.:
Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for
acquired immune deficiency syndrome (AIDS).
Science 1983 May 20; 220 (4599): 868–71.
- [3] Becher, F.; Pruvost, A.G.; Schlemmer, D.D. et al.:
Significant levels of intracellular stavudine triphosphate are found in
HIV-infected zidovudine-treated patients.
AIDS 2003 Mar 7; 17 (4): 555–61.
- [4] B.I.A.-Kompendium
Biophysikalische Grundlagen, Körperzusammensetzung, Ernäh-
rungszustand, Klinische Anwendungsbeispiele, Fallbeispiele.
Data Input GmbH. Hofheim. 1996.
- [5] Biesalski, H.K.; Fürst, P.:
Ernährungsmedizin, Forum Ernährungsmedizin.
Georg Thieme Verlag. Stuttgart. 1995.
- [6] BMI-Klassifikation
Deutsche Gesellschaft für Ernährung. 1992.
- [7] Bonora, S.; Boffito, M.; D`Avolio, A. et al.:
Detection of stavudine concentrations in plasma of HIV-infected
patients taking zidovudine.
AIDS 2004 Feb 20; 18 (3): 577–8.

- [8] Brinkman, K.; Smeitink, J.A.; Romijn, J.A.; Reiss, P.:
Mitochondrial toxicity induced by nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors is a key factor in the pathogenesis of antiretroviral-therapy-related lipodystrophy.
Lancet 1999 Sep 25; 354 (9184): 1112–5.
- [9] Brinkman, K.:
Management of hyperlactatemia: no need for routine lactate measurements.
AIDS 2001 Apr 13; 15 (6): 795–7.
- [10] Carr, A.; Samaras, K.; Burton, S. et al.:
A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors.
AIDS 1998 May 7; 12 (7): F51–8.
- [11] Carr, A.; Samaras, K.; Thorisdottir, A. et al.:
Diagnosis, prediction, and natural course of HIV-1 protease-inhibitor-associated lipodystrophy, hyperlipidaemia, and diabetes mellitus: a cohort study.
Lancet 1999 Jun 19; 353 (9170): 2093–9.
- [12] Carr, A.; Cooper, D.A.:
Adverse effects of antiretroviral therapy.
Lancet 2000 Oct 21; 356 (9239): 1423–30.
- [13] Carr, A.; Morey, A.; Mallon, P. et al.:
Fatal portal hypertension, liver failure, and mitochondrial dysfunction after HIV-1 nucleoside analogue-induced hepatitis and lactic acidemia.
Lancet 2001 May 5; 357 (9266): 1412–4.
- [14] Carr, A.:
Lactic acidemia in infection with human immunodeficiency virus.
Clin Infect Dis 2003 Apr 1; 36 (Suppl 2): S96–S100.
- [15] Carr, A.:
Toxicity of antiretroviral therapy and implications for drug development.
Nat Rev Drug Discov 2003 Aug; 2 (8): 624–34.
- [16] Carr, A.; Emery, S.; Law, M.; Puls, R. et al.:
An objective case definition of lipodystrophy in HIV-infected adults: a case-control study.
Lancet 2003 Mar 1; 361 (9359): 726–35.

- [17] Carr, A.; Law, M.:
An objective lipodystrophy severity grading scale derived from the Lipodystrophy Case Definition Score.
J Acquir Immune Defic Syndr 2003 Aug 15; 33 (5): 571–6.
- [18] Centers for Disease Control (1993b)
1993 Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults.
MMWR 1992 Dec 18; 41 (RR-17).
- [19] Chêne, G.; Sterne, J.A.; May, M. et al.:
Prognostic importance of initial response in HIV-1 infected patients starting potent antiretroviral therapy: analysis of prospective studies.
Lancet 2003 Aug 30; 362 (9385): 679–86.
- [20] d'Arminio Monforte, A.; Testa, L.; Adorni, F. et al.:
Clinical outcome and predictive factors of failure of highly active antiretroviral therapy in antiretroviral-experienced patients in advanced stages of HIV-1 infection.
AIDS 1998 Sep 10; 12 (13): 1631–7.
- [21] Dörhöfer, R.P.:
Bioelektrische Impedanz-Analyse (B.I.A.) – Grundlagen und klinische Anwendungsbereiche unter besonderer Berücksichtigung der HIV-Infektion.
In: Jäger H. (Hrsg.): AIDS – Management der Erkrankung. Szenarien zur Verbesserung der Diagnose und Behandlung. Ecomed Verlagsgesellschaft. Landsberg. 1996. Seite 317–21.
- [22] Eckerskorn, C.:
Massenspektrometrie.
In: Lottspeich F.; Zorbas H. (Hrsg.): Bioanalytik. Spektrum Akademischer Verlag. Heidelberg. 1998. Seite 323–68.
- [23] Epidemiologisches Bulletin
25. Mai 2009
Robert Koch-Institut. 2009.
- [24] Falcó, V.; Rodríguez, D.; Ribera, E. et al.:
Severe nucleoside-associated lactic acidosis in human immunodeficiency virus-infected patients: report of 12 cases and review of the literature.
Clin Infect Dis 2002 Mar; 34 (6): 838–46.

- [25] Fischer, H.; Lembcke, B.:
Die Anwendung der bioelektrischen Impedanzanalyse (BIA) zur Beurteilung der Körperzusammensetzung und des Ernährungszustandes.
Innere Medizin Aktuell 18 (1/91), 13–17.
- [26] Friese, G.:
Evaluierung der Ernährungs- und Stoffwechselsituation bei HIV-Infektion und AIDS.
Tectum Verlag. Marburg. 2000. Seite 26–30.
- [27] Gempel, K.; Bauer, M.F.; Gerbitz, K.D.:
Mitochondriale Erkrankungen.
Dt Ärztebl 1999; 96: A-3035-3042 [Heft 47].
- [28] Gleichauf, C.N.; Roe, D.A.:
The menstrual cycle`s effect on the reliability of bioimpedance measurements for assessing body composition.
Am J Clin Nutr 1989 Nov; 50 (5): 903–7.
- [29] Goebel, F.D.; Walli R.:
Stoffwechselstörungen als Nebenwirkung der antiretroviralen Therapie.
Dt Ärztebl 2001; 98: A 459–462 [Heft 8].
- [30] HIV/AIDS in Deutschland-Eckdaten
Epidemiologische Kurzinformation des Robert Koch-Instituts.
Robert Koch-Institut. Berlin. 2008.
- [31] Hocqueloux, L.; Alberti, C.; Feugeas, J.P. et al.:
Prevalence, risk factors and outcome of hyperlactataemia in HIV-infected patients.
HIV Med 2003 Jan; 4 (1): 18–23.
- [32] Hoffmann, C.:
ART 2008.
In: Hoffmann C., Rockstroh J., Kamps B.S. (Hrsg.): HIV.NET 2008.
Steinhäuser Verlag. Wuppertal. 2008. Seite 97–107.
- [33] Hofmann, S.; Jaksch, M.; Bezold, R. et al.:
Population genetics and disease susceptibility: characterization of central European haplogroups by mtDNA gene mutations, correlation with D loop variants and association with disease.
Hum Mol Genet 1997 Oct; 6 (11): 1835–46.

- [34] John, M.; Moore, C.B.; James, I.R.; et al.:
Chronic hyperlactatemia in HIV-infected patients taking
antiretroviral therapy.
AIDS 2001 Apr 13; 15 (6): 717–23.
- [35] Kakuda, T.N.:
Pharmacology of nucleoside and nucleotide reverse transcriptase
inhibitor-induced mitochondrial toxicity.
Clin Ther 2000 Jun; 22 (6): 685–708.
- [36] Kamps, B.S.:
Übertragungswege.
In: Hoffmann C., Rockstroh J., Kamps B.S. (Hrsg.): HIV.NET 2008.
Steinhäuser Verlag. Wuppertal. 2008. Seite 27–34.
- [37] Katzenstein, D.A.; Hammer, S.M.; Hughes M.D. et al.:
The relation of virologic and immunologic markers to clinical
outcomes after nucleoside therapy in HIV-infected adults with 200
to 500 CD4 cells per cubic millimeter.
N Engl J Med 1996 Oct 10; 335 (15): 1091–8.
- [38] Kayser, F.H.:
Virologie.
In: Medizinische Mikrobiologie.
Georg Thieme Verlag. Stuttgart. 1998. Seite 380–97.
- [39] Kayser, F.H.:
Viren als Krankheitserreger.
In: Medizinische Mikrobiologie.
Georg Thieme Verlag. Stuttgart. 1998. Seite 472–9.
- [40] Klassifikationen von HIV-Infektion und AIDS.
Therapien bei AIDS.
Deutsche AIDS-Hilfe e.V. Berlin. 1998.
- [41] Klietmann, W.:
Acht Jahre AIDS: Eine Standortbestimmung.
Schattauer Verlag. Stuttgart. 1990. Seite 1–4.
- [42] Koch, M.G.:
Kapitel Virologie.
In: AIDS, vom Molekül zur Pandemie.
Verlag Spektrum der Wissenschaft. Heidelberg. 1989.

- [43] Lackritz, E.M.; Satten, G.A.; Aberle-Grasse, J. et al.:
Estimated risk of transmission of the HIV by screened blood in the United States.
N Engl J Med 1995 Dec 28; 333 (26): 1721–5.
- [44] Lewis, W.; Day, B.J.; Copeland, W.C.:
Mitochondrial toxicity of NRTI antiviral drugs: an integrated cellular perspective.
Nat Rev Drug Discov 2003 Oct; 2 (10): 812–22.
- [45] Lukaski H.C.:
Methods for the assessment of human body composition: traditional and new.
Am J Clin Nutr 1987; 46: 537–56.
- [46] Mallon, P.W.; Miller, J.; Cooper, D.A.; Carr, A.:
Prospective evaluation of the effects of antiretroviral therapy on body composition in HIV-1-infected men starting therapy.
AIDS 2003 May 2; 17 (7): 971–9.
- [47] Mallon, P.W.; Unemori, P.; Sedwell, R. et al.:
In vivo, nucleoside reverse-transcriptase inhibitors alter expression of both mitochondrial and lipid metabolism genes in the absence of depletion of mitochondrial DNA.
J Infect Dis 2005 May 15; 191 (10): 1686–96.
- [48] McGarry, J.D.; Foster D.W.:
An improved simplified radioisotopic assay for the determination of free and esterified carnitine.
J Lipid Res 1976 may; 17: 277–81.
- [49] McKee, E.E.; Bentley, A.T.; Hatch, M. et al.:
Phosphorylation of thymidine and AZT in heart mitochondria: elucidation of a novel mechanism of AZT cardiotoxicity.
Cardiovasc Toxicol 2004; 4 (2): 155–67.
- [50] Mellors, J.W.; Kingsley, L.A.; Rinaldo, C.R.; Todd, J.A. et al.:
Quantitation of HIV-1 RNA in plasma predicts outcome after seroconversion.
Ann Intern Med 1995 Apr 15; 122 (8): 573–9.
- [51] Mellors, J.W.; Munoz, A.; Giorgi, J.V. et al.:
Plasma viral load and CD4+lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection.
Ann of Intern Med 1997 Jun 15; 126 (12): 946–54.

- [52] Myhill, S.; Booth, N.E.; McLaren-Howard, J.:
Chronic fatigue syndrome and mitochondrial dysfunction.
Inst J Clin Exp Med 2009; 2: 1–16.
- [53] Nolan, D.; John, M.; Mallal, S.:
Antiretroviral therapy and the lipodystrophy syndrome, part 2:
concepts in aetiopathogenesis.
Antivir Ther 2001 Sep; 6(3): 145–60.
- [54] Pschyrembel Klinisches Wörterbuch
257., neu bearbeitete Auflage.
Bearbeitet von der Wörterbuch-Redaktion des Verlages unter der
Leitung von Helmut Hildebrandt.
Walter de Gruyter Verlag. Berlin. 1994. Seite 556.
- [55] Renz-Polster, H.; Braun, J.:
Basislehrbuch Innere Medizin. 1. Auflage.
Urban & Fischer Verlag. München. 2000. Seite 1093–101.
- [56] Saada, A.; Shaag, A.; Mandel, H.; Nevo, Y.; Eriksson, S.;
Elpeleg, O.:
Mutant mitochondrial thymidine kinase in mitochondrial DNA
depletion myopathy.
Nat Genet 2001 Nov; 29(3): 342–4.
- [57] Saint-Marc, T.; Touraine, JL.:
The effects of discontinuing stavudine therapy on clinical and
metabolic abnormalities in patients suffering from lipodystrophy
AIDS 1999 Oct 22; 13(15): 2188–9.
- [58] Scherbaum, W.A.:
Praxis-Leitlinien der Deutschen Diabetes-Gesellschaft.
Aktualisierte Version 2008.
Diabetologie und Stoffwechsel 2008; S2: 127-205.
- [59] Schettler, G.; Greten, H.:
Innere Medizin. 9. Auflage.
Georg Thieme Verlag. Stuttgart. 1998. Seite 1104–11.
- [60] Sperl, W.:
Diagnose und Therapie von Mitochondriopathien.
Wien Klin Wochenschr 1997; 109/3: 93–9.
- [61] Stocker, D.N.; Meier P.J.; Stoller, R.; Fattinger, K.E.:
„Buffalo hump“ in HIV-1 infection.
Lancet 1998 Jul 25;352 (9124): 320–1.

- [62] Sullivan, A.K.; Nelson M.R.:
Marked hyperlipidaemia on ritonavir therapy.
AIDS 1997 Jun; 11 (7): 938–9.
- [63] The Expert Committee on the Diagnosis and classification of
Diabetes Mellitus:
Report of the expert committee on the diagnosis and classification
of diabetes mellitus.
Diabetes Care 1997; 20: 1183–97.
- [64] Vrouenraets, S.M.; Treskes, M.; Regez, R.M. et al.:
Hyperlactataemia in HIV-infected patients: the role of NRTI-
treatment.
Antivir Ther 2002 Dec; 7 (4): 239–44.
- [65] Walker, U.A.; Setzer, B.; Venhoff, N.:
Increased long-term mitochondrial toxicity in combinations of
nucleoside analogue reverse-transcriptase inhibitors.
AIDS 2002 Nov 8; 16 (16): 2165–73.
- [66] Walker, U.A.; Bickel, M.; Lütke Volksbeck, S.I. et al.:
Evidence of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor-
associated genetic and structural defects of mitochondria in adipose
tissue of HIV-infected patients.
J Acquir Immune Defic Syndr 2002 Feb 1; 29 (2): 117–21.
- [67] Walker, U.A.; Venhoff, N.; Koch, E.C.; Olschewski, M.; Schneider,
J.; Setzer, B.:
Uridine abrogates mitochondrial toxicity related to nucleoside
analogue reverse transcriptase inhibitors in HepG2 cells.
Antivir Ther 2003 Oct; 8 (5): 463–70.
- [68] Walker, U.A.; Bäuerle, J.; Laguno, M. et al.:
Depletion of mitochondrial DNA in liver under antiretroviral therapy
with didanosine, stavudine, or zalcitabine.
Hepatology 2004 Feb, 39 (2): 311–7.
- [69] Walker, U.A.:
Mitochondriale Toxizität.
In: Hoffmann C.; Rockstroh J.; Kamps B.S.(Hrsg.): HIV.NET 2008.
Steinhäuser Verlag. Wuppertal. 2008. Seite 319–20.
- [70] Walker, U.A.:
Mitochondriale Toxizität.
In: Hoffmann C.; Rockstroh J.; Kamps B.S.(Hrsg.): HIV.NET 2008.
Steinhäuser Verlag. Wuppertal. 2008. Seite 321.

- [71] Walker, U.A.:
Mitochondriale Toxizität.
In: Hoffmann C.; Rockstroh J.; Kamps B.S.(Hrsg.): HIV.NET 2008.
Steinhäuser Verlag. Wuppertal. 2008. Seite 323.

8. Publikationen

Friese G.; Froese K.; Discher T.; Lohmeyer J.:
Detektion mitochondrialer Stoffwechselstörungen durch orale
Glukosebelastung bei antiretroviral behandelten und therapienaiven HIV-
Patienten.

Vortrag und Abstract zum 8. Deutschen AIDS-Kongress 2001 in Berlin.
Eur J Med Res 2001, Vol. 6 (Suppl I), Abstract DPII6.

Friese G.; Froese K.; Jaksch M.; Kreuder J.; Discher T.; Lohmeyer J.:
Acetyl-carnitine deficiency and mitochondrial DNA-depletion in HIV
patients treated with antiretroviral therapy.

Antivir Ther 2001, Vol. 6 (Suppl 4), 44 Abstract 63.

Danksagung

Danken möchte ich allen, die mir bei der Erstellung der Dissertation geholfen haben. Insbesondere gilt mein Dank:

Herrn Prof. Dr. med. Jürgen Lohmeyer für die Überlassung des Themas sowie für seine Unterstützung bei der Vorbereitung und Erarbeitung meiner Dissertationsarbeit;

Herrn Dr. med. Georg Friese für seine engagierte Betreuung;

allen Patienten, die sich durch mich bereitwillig untersuchen und befragen ließen;

den Mitarbeitern der Station 15 des Universitätsklinikums Gießen für die gute Zusammenarbeit;

Frau Marion Mann (†) und Herrn Dr. Jörn Pons-Kühnemann der Arbeitsgruppe Medizinische Statistik des Instituts für Medizinische Informatik der Universität Gießen für ihre Hilfe bei der statistischen Auswertung;

meinem Ehemann Johannes Müller, der mich immer wieder motiviert hat, für seine Unterstützung.

Nicht zuletzt möchte ich meinen Großeltern und Eltern danken, die mir meine Ausbildung überhaupt erst ermöglicht haben.

Erklärung

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Gießen, im Oktober 2010

Kirstin Antje Froese



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFBENGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-5788-6



9 783835 195788 6

Cover photo: © oconner - Fotolia.com