



## 18. Challenge in Virology Meeting

Saanen, 19.-21. Januar 2006

Zusammenfassung  
von Patrick Schmid und Pietro Vernazza, St. Gallen

### Inhalt

<b>SAANEN MEETING: EIN BEWÄHRTES KONZEPT AN BEWÄHRTEM ORT .....</b>	<b>2</b>
<b>SHERLOCK HOLMES DER VIROLOGIE – DIE EVOLUTION VON RNA VIREN.....</b>	<b>2</b>
RNA-AHNENFORSCHUNG: PHYLOGENETIK VERSAGT .....	2
EMERGING VIRUSES: EIN VERWIRRENDEDER BEGRIFF .....	2
RNA VIREN – DAS HARTE LEBEN AM LIMIT .....	2
SUPERINFEKTION – METHODE DER RNA-VIREN ZUR GEN-DUPLIKATION.....	3
<b>CMV – VIELLEICHT DOCH NICHT EIN SO HARMLOSES VIRUS .....</b>	<b>4</b>
HERPESVIREN – EIN ALTES RELIKT DER ENTWICKLUNGSGESCHICHTE.....	4
KONGENITALE CMV-INFEKTION UND GEHÖRVERLUST: OFT VERNACHLÄSSIGT .....	4
IST CMV DENN EIN AGGRESSIVES VIRUS? .....	4
EINE IMPFUNG IST MÖGLICH.....	5
<b>HEPATITIS C: EIN FASZINIERENDE FEUERWERK SCHWEIZER QUALITÄT .....</b>	<b>5</b>
PATHOGENESE DES BISHER UNSICHTBAREN VIRUS .....	6
<b>WEITE REISE FÜR EIN VERNACHLÄSSIGTES VIRUS.....</b>	<b>7</b>
HBV EPIDEMIE WELTWEIT ZU WENIG BEACHTET .....	7
KONSEQUENZEN FÜR DIE THERAPIE .....	7
RESISTENZPROBLEMATIK: BEI HBV UNTERBEWERTET .....	7
<b>HIV-INTEGRATION: GEZIELT UND HOCH EFFIZIENT .....</b>	<b>8</b>
INTEGRATION – EIN NEUES FELD.....	8
MAKE HAY WHILE THE SUN IS SHINING .....	8
HIV-INTEGRASE: EIN KOMPLEXES MOLEKÜL.....	8
<b>FROM BENCH TO BEDSIDE: DIE NEUEN MEDIKAMENTE FÜR HIV .....</b>	<b>9</b>
RALTEGRAVIR – EIN BESTENS VERTRÄGLICHER INTEGRASEHEMMER.....	9
MARAVIROC – SCHWIERIGER EINSATZ EINES GUTEN MEDIKAMENTES.....	10

### Disclaimer

Die hier wiedergegebene Zusammenfassung ist eine persönliche Notiz der Autoren. Als solche hat sie weder den Anspruch auf Korrektheit, Vollständigkeit oder gar einer Behandlungsempfehlung. Korrekturvorschläge bitte an: [saanen@infekt.ch](mailto:saanen@infekt.ch)

© www.infekt.ch, 2007. Kopien unter Quellenangabe ([www.infekt.ch](http://www.infekt.ch)) selbstverständlich erwünscht.

## Saanen Meeting: Ein bewährtes Konzept an bewährtem Ort

Was Ernesto Bertarelli nun für seine Familie entdeckt hat, weiss der Clan der Schweizer Infektiologinnen und Infektiologen schon lange: Saanen/Gstaad ist eine wunderschöne Gegend, die problemlos eine grosse Schar von virologisch interessierten Infektiologen, Hepatologen, Mikrobiologen, praktizierende wie forschende KollegInnen aus der Schweiz für ein Wochenende zusammenführen kann. Schon zum 18. Mal jährt sich das Meeting in den Schweizer Bergen, immer an demselben Ort, oft mit wiederkehrenden Referenten und immer mit der gleich hohen attraktiven Qualität von Präsentationen und interaktiven Diskussionen. Möglich, dass bei Bertarelli auch steuerliche Argumente eine Rolle seinen Wohnortwechsel motiviert haben, doch das Meeting hat – wie der Initiator Michel Glauser in der Einleitung betont hat – nebst der Weiterbildung im Bereich Virologie auch eine wichtige Funktion zur Förderung der kollegialen Kontakte in der immer noch überschaubaren Familie der Infektiologinnen und Infektiologen der Schweiz. Ein grosser Dank an alle Sponsoren und Organisatoren für dieses fast schon legendäre Meeting.



## Sherlock Holmes der Virologie – Die Evolution von RNA Viren

[Edward Holmes](#), Penn State University, PA USA

### RNA-Ahnenforschung: Phylogenetik versagt

Edward Holmes vermittelte mit seinem an einen Kriminalroman erinnernden Vortrag einen fantastischen Einblick in die Welt der RNA Viren. Im Einstieg musste er die Zuhörer aber enttäuschen, denn er musste mitteilen, dass es unmöglich ist, einen Stammbaum aller RNA Viren zu generieren. So hat er gezeigt, dass es möglich ist, aufgrund von Sequenzhomologien einen phylogenetischen Stammbaum innerhalb einer Familie von RNA Viren zu gestalten, doch wenn er versucht hat, Flaviviren, Lyssaviren, Arenaviren und Coronaviren in einem Stammbaum zusammenzufassen, so findet sich in der Erbsubstanz keinerlei Übereinstimmung. Die Gründe dafür wurden dann im Späteren Verlauf des Vortrages evident. Holmes hofft nun, dass es ihm gelingt, aufgrund von Proteinstrukturen von RNA-Viren Ahnenforschung zu betreiben, doch Zweifel sind dabei angebracht.

### Emerging Viruses: ein verwirrender Begriff

Seit der Beschreibung von Emerging Viruses durch Morse 1990 im JID sind bereits wieder neue Viren in dieser Liste dazugekommen: HCV, Sin Nombre Virus, NapaValley, West Nile Virus, SARS, etc. es lohnt sich allerdings, die *Emerging Viruses* in drei Gruppen einzuteilen:

- Spillover (Keine Mensch-zu-Mensch Übertragung, Bsp: H5N1, West Nile)
- Limited Transmission (kaum M-z-M-Übertragung, Bsp. Ebola)
- Evolved sustained infection (etablierte Infektion, Bsp.: HIV, SARS)

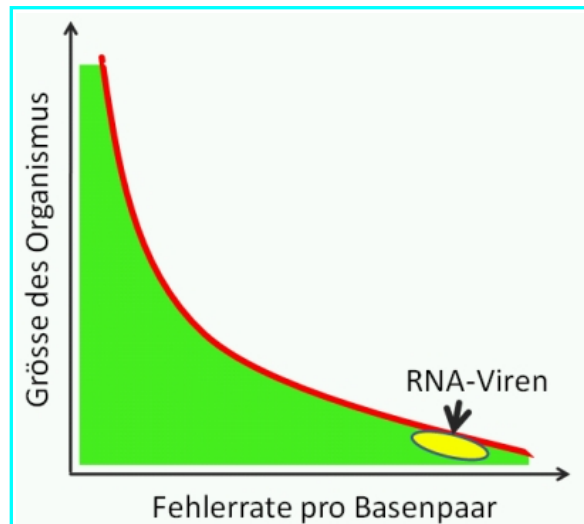
Die letzte Gruppe ist eindeutig die Seltenste. Die Evolution läuft natürlich in die Richtung der cross-spezies Transmission. Interessant ist, dass all diese Viren, bis auf die Ausnahme von Monkeypox, RNA Viren sind. Die grosse Mutationsrate der RNA-Viren bringt diese erst in die Lage, den Wettlauf zu bestehen. Nebenstehende Tabelle vergleicht die Mutationsrate von Bakterien und Eukaryonten mit derjenigen von RNA Viren. Die hohe Mutationsrate von RNA Viren führt dazu, dass jede beliebige Mutation in einem RNA Virus im Verlaufe eines Jahres mit der Wahrscheinlichkeit von 1:1000 auftreten kann. Interessant ist auch, dass ssDNA-Viren sich mit derselben schnellen Evolutionsrate verändern können.

Spezies	Mutationsrate	
	Pro Replikation und pro genom	Pro Aminosäure pro Jahr
Bakterien	0.003	$10^{-7} - 10^{-9}$
Eukaryonten	0.01	$10^{-8} - 10^{-9}$
RNA-Viren	1	$10^{-3} - 10^{-4}$

### RNA Viren – Das harte Leben am Limit

Die Frage ist nun, weshalb die RNA Viren sich nicht noch besser anpassen können. Interessant ist, dass die RNA Viren sehr klein sind, im Median umfassen sie gerade mal 8000 Basenpaare (8KB) und sind nie grösser als 30KB. Dasselbe gilt auch für ssDNA Viren. Die Erklärung liegt darin, dass die Genomgrösse und die Mutationsrate in einem Zusammenhang stehen. Eine Eigenschaft, die unter „Error Threshold“ zusammengefasst wird. An dieses Grundlegende Prinzip müssen sich alle

Lebewesen halten: Wird ein Organismus mit einer hohen Mutationsrate zu gross, so ist die Wahrscheinlichkeit, dass die Mutationsrate einen grossen Teil zerstört und den Organismus lebensunfähig macht gross. Die nebenstehende Kurve illustriert dieses Phänomen der „Fehlerlimite“. Ein Organismus ist nur lebensfähig, wenn er sich im „grünen“ Bereich aufhält. Wird er bei einer bestimmten Fehlerrate zu gross, so überschreitet er die rote Grenzlinie und wird absterben. An dieser Limite des Möglichen halten sich offenbar die RNA Viren auf und so müssen sie ständig ihre Grösse limitieren. Der „error threshold“ limitiert somit die Virus-Evolution aber auch die Grösse der Viren. Diese Beschränkung auf das Wesentliche hat zwei Konsequenzen: Sie führt dazu, dass die RNA-Viren unnötigen Ballast aus ihrer Entwicklungsgeschichte abstreifen müssen. Eine Erklärung für die Probleme bei der Erstellung eines phylogenetischen Stammbaumes.



Wichtiger noch: Viren müssen ihre Gene mehrfach verwenden. Die sogenannten „overlapping reading frames“ illustrieren dies. Eine Gensequenz kann gleichzeitig zwei oder mehr Proteine kodieren, je nachdem, wo der Ablesevorgang beginnt. Die Viren müssen aber dadurch auch mit jeder Mutation Einbussen in ihrer Fitness in Kauf nehmen.

Die Konsequenzen für die RNA-Viren sind:

- Häufiger Einsatz von „overlapping reading frames“
- Die wichtigsten Phänotypischen Eigenschaften ändern selten
- Lateraler Gen-Transfer, wie von Bakterien eingesetzt, ist aufgrund der Grössenlimite selten
- Gen-Duplikation, wie dies Eukaryonten tun um neue Gene zu entwickeln, sind ebenso selten

Als Folge des Fitnessverlustes von Mutationen sind mit jeder Mutation oft sekundäre kompensatorische Mutationen in der Nähe der primären Mutation zu finden. Diese Veränderungen der Fitness hat Holmes sehr schön mit der DNS-Fitness Analyse gezeigt. Man bedient sich dabei der Tatsache, dass die meisten Aminosäuren durch mehrere Nukleotid-sequenzen kodiert sind. Somit gibt es Mutationen auf Nukleotid-Ebene, die nicht zu einer Veränderung der Proteine führen (S: Synonymous) oder solche, welche zu einer neuen Aminosäure führen (N: non-Synonymous). Man bestimmt nun das Verhältnis der Mutationen die eine Änderungen der Proteine bewirken ( $d_N$ ) über die stummen Mutationen ( $d_S$ ). Je kleiner die  $d_N/d_S$ -Rate ist, desto stärker ist die Einschränkung für den Organismus infolge Fitnessverlust.

Ein sehr schöner Vergleich ist dabei der Vergleich der Mutationsraten in Viren, welche Sexuell übertragen werden mit solchen, welchen durch Vektoren übertragen werden. Die Fitness-Einschränkung ist viel grösser bei Vektor-übertragenen Viren was mit einer tieferen  $d_N/d_S$ -Rate gezeigt ist. Die Erklärung liegt auf der Hand: Diese Viren müssen in zwei Wirtsorganismen, im Vektor und im Wirt überleben können. Da diese völlig verschieden sind, müssen diese Viren sich so adaptieren.

### **Superinfektion – Methode der RNA-Viren zur Gen-Duplikation**

Wir haben schon erwähnt, dass das RNA Viren die bei Eukaryonten beliebte Methode der Gen-Duplizierung infolge Grössenlimite nicht einsetzen können. Nun zeigt das Beispiel von Dengue-Virus eine wunderbare Kompensation für diese Einschränkung. Wenn Mäuse ein Protein in grossen Mengen produzieren müssen, dann kann eine Genduplikation diesen Prozess verbessern. Nun fand man bei Dengue-Virus Mutationen, welche ein Stop-Codon hatten. Das bedeutet, es ist ein Virus, welches nicht mehr replikationsfähig ist. Doch Studien über 30 Jahre zeigen, dass diese Viren immer noch in einem grossen Prozentsatz vorkommen. Tatsächlich handelt es sich bei diesen häufig vorkommenden Mutanten um Viren, welche nicht vermehrungsfähig sind. Doch die Viren kommen immer gemeinsam mit einem anderen Intakten Virus in der Wirtszelle vor. Da der intakte Teil vor dem Stopp Codon Kapsid-Proteine des Virus kodiert, geht man nun davon aus, dass diese partiell defekten Viren einen Vorteil bringen, weil sie die Virusproduktion erleichtern. Das zweite, defekte Virus in der infizierten Zelle kann somit fast als Gen-Duplikation angesehen werden.

## CMV – vielleicht doch nicht ein so harmloses Virus

Paul Griffith, Royal Free Hospital, London UK.

### Herpesviren – ein altes Relikt der Entwicklungsgeschichte

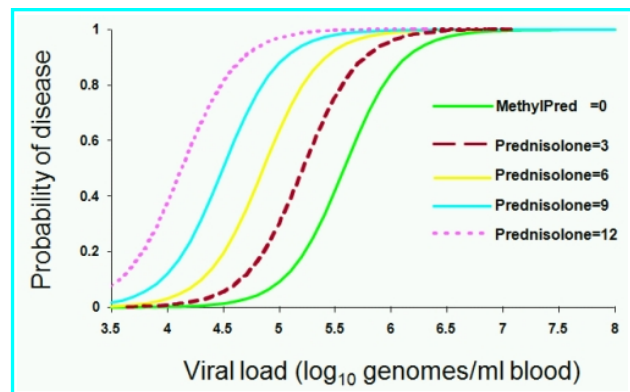
Ganz anders als bei den RNA-Viren kennen wir den phylogenetischen Stammbaum der Herpesviren heute gut. Herpesviren gehören zu den ältesten Viren der Entwicklungsgeschichte der Lebewesen. Wir finden Sie praktisch bei allen Tierarten und auch bei Pflanzen. Cytomegalovirus (CMV) ist ein prominentes Beispiel in dieser Virengruppe. Griffith ist mit einem historischen Überblick in das Thema eingestiegen. 1960 galt CMV als ein langsam wachsendes, gut adaptiertes Virus, welches nur bei Immungeschwächten zu Problemen führt und 60-100% der Bevölkerung infiziert.

Doch Griffith hat mit aus seiner Sicht überholten Vorurteilen aufgeräumt: Denn die Virologie von CMV in den 70-er Jahren war seiner Meinung nach völlig überholt. Man hat das falsche Virus (den adaptierten Laborstamm AD169) in der falschen Zelle (Fibroblasten) mit den falschen Endpunkten (Virustiter) untersucht. Diese Argumente hat Griffith im Verlaufe des Referates sehr deutlich ausgeführt.

### Kongenitale CMV-Infektion und Gehörverlust: Oft Vernachlässigt

Der Hörverlust im Rahmen einer kongenitalen CMV-Infektion wird auch heute noch vernachlässigt. Wir wissen zu wenig über die Prävention und haben auch zu wenig Therapieoptionen studiert. Doch CMV ist heute noch die häufigste Ursache der Taubheit. Das zweite Problem im Zusammenhang mit CMV sind die hohen Kosten der Komplikationen bei Transplantierten. Hier richtet die CMV Infektion einen Grossen Schaden an. Alleine die Kosten für die Schulung/Behandlung von tauben Kindern respektive Transplantationsempfängern betragen für die USA 4 Mia US\$. Diese Zahl bringt Griffith dann wieder ins Spiel, wenn er vom Kosten-Nutzen-Verhältnis einer Globalen Impfstrategie gegen CMV spricht.

Eine Kongenitale CMV-Infektion kann nicht nur im Rahmen einer Primoinfektion während der Schwangerschaft auftreten. Es gibt auch Situationen mit Reinfektionen, welche zur Infektion beim Föten führen. Mit den heutigen Messmethoden



der Viruslast konnte man auch sehr gut zeigen, dass das Risiko einer Innenohrerkrankung beim Kind deutlich abhängig ist von der Viruslast im Urin. Die grüne sigmoide Kurve in der nebenstehenden Abbildung zeigt, dass es einen Schwellenwert gibt für die Viruskonzentration im Blut. Sobald diese über einen Schwellenwert ansteigt, nimmt die Erkrankungsrate massiv zu. Die weiteren Farben zeigen eine Rechtsverschiebung der Kurve bei zusätzlicher Gabe von Prednison. Dies zeigt deutlich, dass bereits eine niedrigdosierte Steroid-Therapie das Risiko einer Infektion massiv erhöht. Wenn es also möglich wäre, im Rahmen einer kongenitalen Infektion auch nur die Viruslast um einen log zu senken, könnte eine grosse Wirkung erzielt werden.

Eine kleine Fallserie von 39 Kindern, welche zum Zeitpunkt der Geburt eine CMV Exposition hatten zeigt, dass nur 1 von 5 Kindern, welche während 3 Monaten mit Gancyclovir behandelt wurden einen Hörschaden hatten, während 25 von 34 ohne Therapie einen Hörschaden erlitten (Walter S. Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal, 2007). Dies bestätigt die Bedeutung des Schwellenwertes. Jede Senkung desselben ist also nützlich.

Dass CMV auch in der Form von Reaktivierung zu Problemen führen kann zeigte sich an einer Studie von Fowler et al (JAMA 2003). Hier wurden 3397 Frauen in ihrer zweiten Schwangerschaft beobachtet. 2844 waren seropositiv, 553 seronegativ. In der letzten Gruppe hatten 18 (also 3.3%) eine kongenitale Infektion der Neugeborenen, während es in der ersten Gruppe „nur“ 1%, aber eben 29 waren. Damit ist die Komplikation insgesamt sogar noch häufiger in der Gruppe der seropositiven Frauen.

### Ist CMV denn ein aggressives Virus?

Natürlich ist CMV für die meisten von uns ein harmloses Virus, mit dem wir zeitlebens umgehen. Doch wenn man schon die Immunantwort ansieht erkennt man, welch grossen Aufwand das Immunsystem macht, um die CMV-Infektion unter Kontrolle zu halten. Es gibt kein einziges Virus, gegen welches das menschliche Immunsystem eine so breite und ausgeprägte Immunantwort aufbaut. Alle Abwehrsysteme (Komplement, Chemokine und Chemokin-Rezeptoren, Interferon, Antikörper und Th1/Th2-



Zellen) sind an der Abwehr beteiligt. Diese Immunantwort hat auch eine Konsequenz. Sie führt zur Immunaktivierung und wir wissen heute, dass dies der dominierende Faktor ist, welche die Alterung des Immunsystems (Immunesenescence) aber auch andere Alterungsprozesse (Arteriosklerose etc.) beschleunigt. Griffith unterstreicht damit, welche Priorität die Bekämpfung einer CMV-Infektion einnimmt und illustriert damit die schwere Belastung des Organismus durch CMV.

Tatsächlich wissen wir heute, dass CMV-positive Menschen eine höhere Mortalität aufweisen als CMV-negative. Und es ist bisher noch kein Faktor bekannt, der zeigen würde, dass eine CMV-Infektion einen positiven Einfluss auf die Gesundheit haben könnte (z.B. Schutz vor bakteriellen Infektionen durch chronische Immunaktivierung).

### Eine Impfung ist möglich

Wenn wir somit CMV wirksam verhindern wollen, so ist eine Impfung notwendig. Eine solche ist tatsächlich heute möglich und mehr noch, es sollte sogar relativ einfach sein, das CMV zu eradizieren. Dies ist zwar bisher erst für das Pockenvirus gelungen, doch Griffith hat überzeugende Argumente präsentiert, wonach es auch bei CMV klappen könnte.

Ein wichtiges Argument ist die Frage das Konzept der basalen Reproduktionsrate ( $R_0$ ) von CMV.  $R_0$  bezeichnet die Anzahl neuer Infektionen, welche von einer Person ausgehen. Diese Zahl beeinflusst direkt die Durchimpftrate ( $P_c$ ) welche notwendig ist, um eine Herdimmunität zu erreichen. Wie wir der nebenstehenden Abbildung entnehmen können, ist  $R_0$  von CMV sehr tief, etwa in der Größenordnung von Pocken. Damit ist es nicht nötig, dass wir eine sehr hohe Durchimpfungsraten erzielen müssen, er rechnet mit ca. 60%.

Virus	$R_0$	$P_c$ (%)	Status
Measles	16	93 - 94	controlled
Rubella	8	87	controlled
Mumps	7	86	controlled
Polio	6	83	controlled +
Smallpox	2.8	57-70	eradicated
CMV	2.6	59-62	ignored

Doch kann man überhaupt gegen CMV impfen: Jawohl! CMV hat zwar die Eigenschaft, der Immunantwort auszuweichen, doch es gibt seriöse Ansätze für eine CMV Impfung. Diese sind gegen die Proteine gB, pp65 und MIE gerichtet. Und wie uns Stratton et al. 2001 vorgerechnet haben, würde die Entwicklung einer Impfung selbst bei Entwicklungskosten von 360 Mio US\$, einer Wirksamkeit von 75% und einer Durchimpftrate von 50% zu einer Einsparung von 50'000. pro QALY führen. Ein Netto-Benefit ist eigentlich selten in der Medizin!

Die ersten positiven Berichte von der Impffront kommen von der Entwicklung eines Impfstoffes gegen gB-Protein, MF59. Der Impfstoff hat bei CMV-negativen Transplantatempfängern schon eine gute Immunisierung erzielen können.

Die ersten Resultate einer Studie bei seronegativen postpartalen Frauen sind so hervorragend, dass die Studie durch das DSMB gestoppt wurde! 441 Frauen wurden in die Placebo-kontrollierte Impfstudie eingeschlossen, 51 Serokonversionen beobachtet.

Die Vaccine-Efficacy (gemessen an Serokonversion) war in den ersten 12 Monaten 70%, etwas tiefer (64%) in den folgenden 12 Monaten. Drei von 98 Frauen hatten in der Placebogruppe bei der nächsten Geburt eine Infektion des Kindes verglichen mit 1 von 81 geimpften Frauen. Der Erfolg hat nun dazu geführt, dass den anderen Frauen vor einer nächsten Schwangerschaft auch die Impfung angeboten werden muss.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass wir CMV vermutlich als Problem unterschätzen und dass eine Impfung, ja sogar eine Eradikation – warum eigentlich nicht ? – durchaus möglich wäre. **Let's look ahead!**

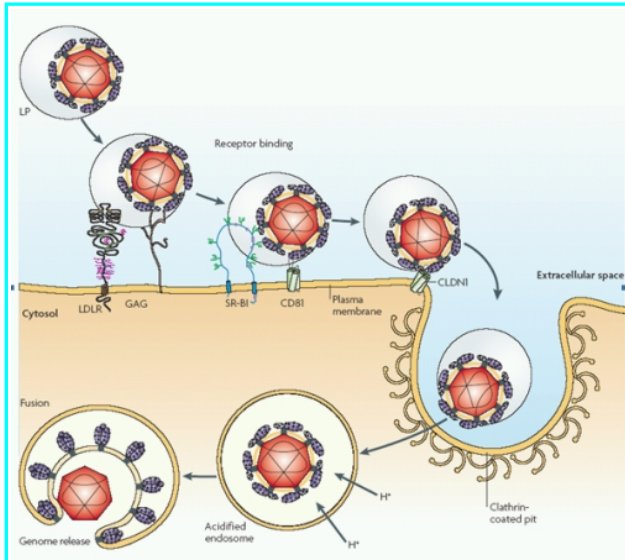
### Hepatitis C: ein faszinierende Feuerwerk Schweizer Qualität

[Darius Moradpour](#), CHUV, Lausanne

Darius Moadpour hat in einer hervorragend präsentierten Übersicht das Aktuelle Wissen zur Pathogenese und Therapie von Hepatitis C zusammengefasst. Es ist immer schön zu sehen, dass auch Schweizer Qualität in Saanen auf hohem internationalen Niveau mithalten kann.

## Pathogenese des bisher unsichtbaren Virus

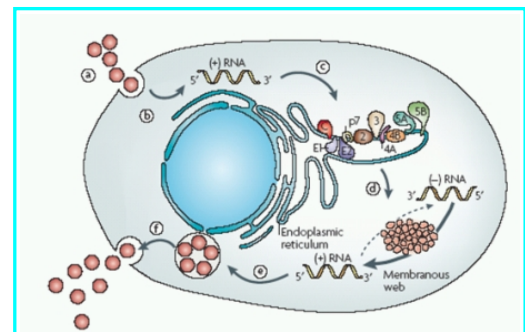
Ein definitives Bild des Hepatitis C Virus gibt es bis heute nicht. Aufgrund elektronenmikroskopischer Untersuchungen und Vergleichen mit dem verwandten Denguevirus wurden die bekannten Virus-Modelle entworfen. Im Blut kommt das Virus an Lipoproteine (LDL, VLDL), an Immunglobuline gebunden oder als freie Virionen vor. Die Lipoproteine dürften im Lebenszyklus von HCV eine spezielle Rolle einnehmen.



Ein erster Meilenstein in der Erforschung des Hepatitis C Virus war die Entwicklung eines Replicon-Systems 1999. Der entscheidende Durchbruch erfolgte wohl mit dem Gelingen eines ersten Gewebekultur-Systems im Jahr 2005 durch japanische Forscher. Erst dies ermöglichte es, den ganzen Replikationszyklus *in vitro* zu untersuchen.

Nach wie vor ist nicht vollständig geklärt, wie das Virus in die Wirtszelle gelangt. Der LDL-Rezeptor, CD81, SR-B1 und Claudin-1 spielen eine Rolle, es muss aber noch weitere, bisher unbekannte Faktoren geben. Durch Endozytose bildet sich ein Endosom, welches azidifiziert wird und in der Folge kommt es über eine Porenbildung im Endosom zur Freisetzung des Virusgenoms (RNA) ins Cytoplasma.

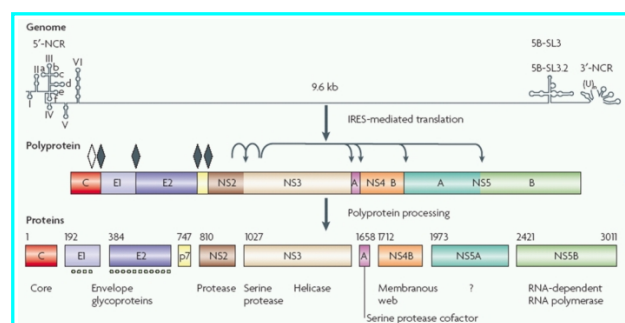
Der nächste Schritt ist die Bindung des Virusgenoms mit Hilfe der sogenannten IRES (Internal Ribosome Entry Site, enthalten in der 5'-NCR) an die Ribosomen, wodurch die Translation und die Proteinsynthese in Gang gesetzt werden. Interessant ist, dass die ganze Replikation in einem im Cytoplasma abgegrenzten Mikrokompartment, dem sogenannten „replication complex“ stattfindet. Abgegrenzt wird dieses Kompartiment durch veränderte Membranen des endoplasmatischen Retikulums der Wirtszelle. Der Rest der Zelle wird durch die Virusreplikation kaum beeinträchtigt, was auch erklärt, weshalb HCV nicht zytolytisch ist.



Der nächste Schritt im Replikationszyklus des Virus, die Prozessierung des Polyproteins. Für die nichtstrukturellen Proteine geschieht dies durch die viruseigenen Proteasen (NS2-3 und NS 3-4A).

Die NS3-4A Serine-Protease war bisher das wichtigste Ziel bei der Entwicklung neuer Anti-HCV-Medikamente. Der aktuell vielversprechendste und bereits am besten untersuchte Proteasehemmer ist VX 950 (Telaprevir) der Firma Vertex. Nach 1 Dosis kommt es zu einem 3Log Abfall der HCV-Viruslast innert 3 Tagen. Problem ist, dass es zu einer raschen Selektion von escape-Mutanten kommt, sodass im Moment nur Studien (Phase 3) nur in Kombination mit PegInterferon durchgeführt werden.

Nach dem assembly neuer Viruspartikel interessiert vor allem wie das Virus aus der Wirtszelle freigesetzt wird. Hier ist noch vieles unbekannt. Neu wurde kürzlich gezeigt, dass für diesen Freisetzungprozess Lipide essentiell sind (HCV-core wird um Lipidtröpfchen gewickelt). Somit scheint es nun klar, dass HCV auf der einen Seite Veränderungen des zellulären Fettstoffwechsels bewirkt, andererseits aber auch Medikamente, die den Lipidstoffwechsel beeinflussen, die HCV-Replikation hemmen könnten.



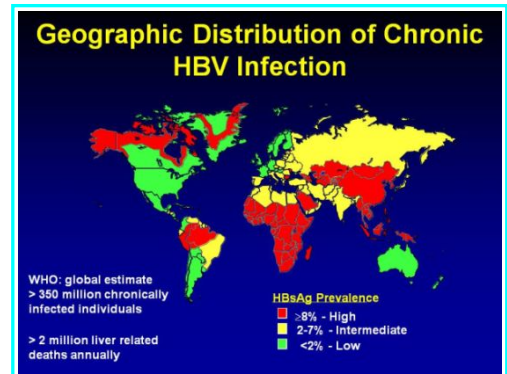
## Weite Reise für ein vernachlässigtes Virus

Stephen Locarnini, University of Melbourne, Australien

Eine weite Reise von downunder zu unternehmen, nur um für 24 Stunden dabei zu sein, ist schon eine Leistung. Das Referat von Locarnini war geprägt von einer enthusiastisch geführten politischen Mission: Die weltweite Epidemie von HBV muss bekannt werden. Daneben hat er sich auch für die von Infektiologen längst geforderten Kombinationstherapie bei HBV eingesetzt.

### HBV Epidemie weltweit zu wenig beachtet

Die chronische Hepatitis B ist bei uns (Europa, USA) nicht ein so grosses Thema. Weltweit ist aber die chronische Hepatitis B ein riesiges Problem, v.a. im asiatischen Raum und in Afrika. Durch die zunehmende Migration ist es absehbar, dass wir in naher Zukunft gehäuft Patienten mit chronischer Hepatitis B sehen werden. Wichtig ist, bei Migranten die CHB zu suchen. Es erstaunt, dass es bis heute unklar ist, wie das HBV in die Wirtszelle eindringt. Im Gegensatz zu Patienten mit Hepatitis C kommt es bei der Hepatitis B wohl nie zu einer vollständigen Heilung der Infektion, denn das Virusergut bleibt in den Hepatozyten in Form der cccDNA vorhanden.

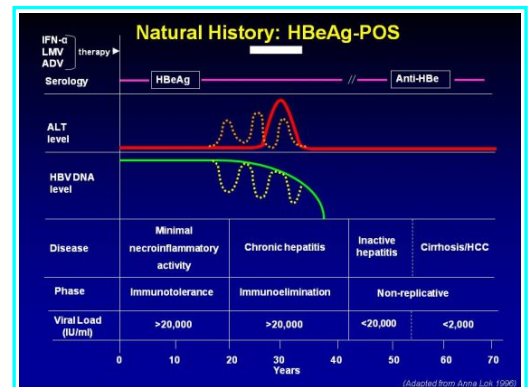


### Konsequenzen für die Therapie

Dies bedeutet, dass bei Patienten mit positiven Seromarkern einer Hepatitis B (auch wenn Anti-HBs positiv) nie vollständig ausgeheilt ist. So muss bei Lymphompatienten, unter Chemotherapie oder Steroidbehandlung an die Möglichkeit einer Reaktivierung der Hepatitis B gedacht werden. Bei einem Lymphompatienten mit Chemotherapie (Falldiskussion) ist die monatliche Bestimmung der HBV-DNA im Blut oder sogar eine präemptive Therapie mit Lamivudin über 6-12 Monate empfohlen.

Der typische Verlauf der Hepatitis B in Hochprävalenzländern verläuft in Phasen.

- 1) Die Phase der Immuntoleranz dauert oft Jahrzehnte, die Viruslast ist hoch (>20'000 IU/ml) aber die Transaminasen sind normal.
- 2) Nach Jahren kann es zu einem Wechsel in die Phase der Immunelimination kommen, die Transaminasen steigen an, die Viruslast fällt ab. Die Dauer dieser Phase ist individuell sehr unterschiedlich lang. Je länger sie dauert, desto grösser der entstehende Leberschaden.
- 3) Oft kommt es zu einem Übergang in den sog Status des inaktiven Trägers (Anti HBe positiv, tiefe Viruslast, normale Transaminasen). Leider ist dies nicht das Ende der Geschichte.
- 4) Es können escape-Mutanten entstehen durch Mutationen in der Precore- oder Core Promotor-Region. Es kommt zur eAg-negativen chronischen Hepatitis mit schlechter Prognose, d.h. grossem Risiko für eine Leberzirrhose.



### Resistenzproblematik: bei HBV unterbewertet

Neben den bekannten Behandlungsmöglichkeiten mit Interferon resp. Peginterferon und Lamivudin stehen seit kurzem diverse neue Nukleosidanaloga zur Verfügung: Adefovir, Entecavir, Telbivudin und das (allerdings für die alleinige Hepatitis B noch nicht zugelassene) Tenofovir. Erwartungsgemäss sind auch die neueren Substanzen mit dem Risiko einer Resistenzentwicklung behaftet, wenn diese auch nicht so rasch eintritt wie unter Lamivudin (s. Abb).

Medikament	Resistenzrate nach Jahren (%)				
	1	2	3	4	5
Lamivudine <sup>a</sup>	23	46	55	71	80
Adefovir <sup>b</sup> (naïve HBeAg-neg)	0	3	11	18	29
Adefovir (LAM resistant) <sup>c</sup>	0-18	-	-	-	-
Entecavir <sup>d</sup> (naïve)	0.1	0.4	1.1	1.1	-
Entecavir <sup>d</sup> (LAM resistant)	6	15	35	43	-
Emtricitabine <sup>e</sup>	9-16	19-37	-	-	-
Telbivudine <sup>e</sup> (HBeAg-pos) <sup>f</sup>	4.4 <sup>g</sup>	21.6 <sup>g</sup>			
(HBeAg-neg) <sup>f</sup>	2.7	8.6			

Aus infektiologischer Sicht, sind die aktuell praktizierten Behandlungsstrategien (switch, ad on) unverstänlich. Besorgniserregend ist, dass die escape-Mutanten Veränderungen in der Virushülle aufweisen und möglicherweise die HBV-Impfung nicht oder weniger gut gegen diese Mutanten schützt. Da-



ten zu Kombinationstherapien von Nukleotidanaloga fehlen aber weitgehend (abgesehen von den enttäuschenden Resultaten von Kombinationen von mit PegInterferon). PegInterferon ist übrigens bei vielen Patienten mit CHB nach wie vor eine gute Therapie-Option (Chance für anhaltende HBSe-Serokonversion mit klar begrenzter Behandlungsdauer). Prof. Reichen (Bern) plädiert dafür, auch bei der Hepatitis B vor einer Behandlung mit PegInterferon eine Genotypbestimmung erfolgen soll, da das Ansprechen Genotyp-abhängig ist. Wie bei HIV wird bei Patienten mit Therapieversagen unter NUKs in Zukunft auch bei HBV eine Resistenzprüfung weiterhelfen um (wegen Kreuzresistenzen) die optimale Behandlung herauszufinden.

Resistenzmutationen im Polymerase-Gen						
I(G)	II(F)	A	B	C	D	E
LMV Resistenz			rtA181T/V	rtM204V/I		
L-dT Resistenz			rtA181T/V	rtM204I		
ADV Resistenz			rtA181T/V			rtN236T
TDF Resistenz		rtL180M	rtA181T/V	rtA194T/rtM204V/I		rtN236T
ETV Resistenz		rtI169T	rtL180M	rtT184S/A/I/I/L/G/C/I/M	rtS202C/G/I	rtM204V
						rtM250I/V

## HIV-Integration: Gezielt und hoch effizient

[Frederic Bushmann](#) Pen University, Philadelphia, USA

### Integration – ein neues Feld

Mit der Entwicklung von Integrase-Hemmern hat auch das Interesse für den Prozess der Integration von HIV zugenommen. Frederic Bushmann ist ein profunder Kenner der Materie und hat in seiner eindrücklichen Präsentation einige interessante Details zum Vorgang der Integration präsentiert. Wie alle Retroviren, muss HIV in der Zelle zunächst in eine doppelsträngige DNA umgeschrieben, und ins Wirtschromosom integriert werden, um sich überhaupt zu replizieren. Für HIV ist es wichtig, dass es unmittelbar nach der Infektion der Zelle gleich wieder weiter geht. Das integrierte DNA-Segment muss abgelesen und in mRNA übersetzt werden, womit das neue Virus entstehen kann. Im grössten Teil der infizierten Zellen geschieht dieser Prozess tatsächlich innert weniger als einem Tag.

### Make hay while the sun is shining

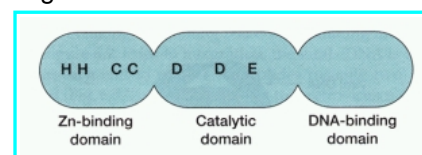
Bushman hat nun sehr schön gezeigt, dass HIV auch den Integrationsprozess so optimiert hat, dass es rasch vorwärts geht. Denn die Integration des HIV-Provirus (DNA) erfolgt nicht zufällig sondern sie geschieht präferentiell in aktivierten Genen. Und auch innerhalb des Gens ist die Integration in der Mehrzahl der Fälle jeweils nach dem Promotor-Gen, dort wo die DNA abgelesen wird. Damit erreicht das Virus eine höchste Effizienz. Es nützt die gute Gelegenheit (*die scheinende Sonne*) um seinen Hauptjob, die Replikation (*das Trocknen des Grases*) zu erledigen.

Dieser gezielte Prozess wird durch die Integrase selbst geleitet, denn wenn Bushman in einem HIV-Virus die Integrase mit derjenigen des MLV (onkogenes Lentivirus der Maus) ersetzt, so erfolgt die Integration dort, wo es für MLV charakteristisch ist, vor der Promotor Sequenz. Es gibt aber noch weitere nur knapp verstandene Prozesse. So scheinen auch die Nukleoporen, Öffnungen in der Zellkernhülle, den Prozess der Integration zu beeinflussen. Es gibt aber auch Zellproteine, (z.B. LEDGF), welche den Integrationsprozess beeinflussen. LEDGF (Synonym p75 oder PSIP1) ist ein Cofaktor, der bei der Aktivierung einer Transkription eine Rolle spielt, also sich dort aufhält, wo auch HIV hin will. HIV bindet sich stark an LEDGF. Knock-out Zellen ohne LEDGF haben eine massiv eingeschränkte HIV-Integration.

### HIV-Integrase: Ein komplexes Molekül

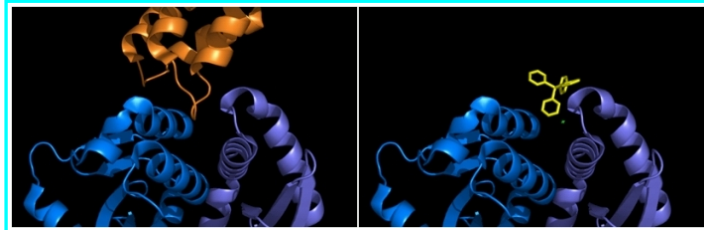
Die HIV Integrase hat drei grössere Abschnitte (domains). Zentral ist die katalytische Domain, also dort, wo das Enzym die Wirts-DNA schneidet und die HIV-DNA integriert. Flankiert wird diese von einer DNA-bindenden Domain (schleppt die HIV-DNA mit) und von einer Zink-bindenden Domain (Abb. rechts). Das LEDGF bindet nun an der zentralen katalytischen Domain, aber ausserhalb der katalytischen Stelle. Damit chartert sich die Integrase einen Führer, der seine katalytische Domain dort hin bringt, wo diese ihre Arbeit erledigen kann, die Wirts-DNA auftrennen und das HIV-Genom einfügen.

Bereits wurden nun kleine Moleküle entdeckt (TPA, Greenberg 2001), welche die Bindungsstelle von LEDGF auf der Integrase blockieren (Abb. links, LDGBF braun, TPA gelb rechte Seite). Dies wäre ein anderer Ansatzpunkt und könnte die Erfolge der Integrase-Hemmer deutlich verbessern, ähnlich wie sich die Nukleosid- und non-Nukleosid Analoga der RT-Hemmer ergänzen.





Dieser Einblick in die Geheimnisse der Integrase haben doch gezeigt, dass dieses virale Protein noch eine Grosses Potential für die Medikamentenentwicklung hat. Im Gegensatz zu unseren herkömmlichen Therapieansätzen (Hemmung von Transkription oder Protease) geht es hier um ein Enzym welches einen Vorgang hemmt, welcher in der menschlichen Biochemie nirgends vorkommt.



## From Bench to Bedside: Die Neuen Medikamente für HIV

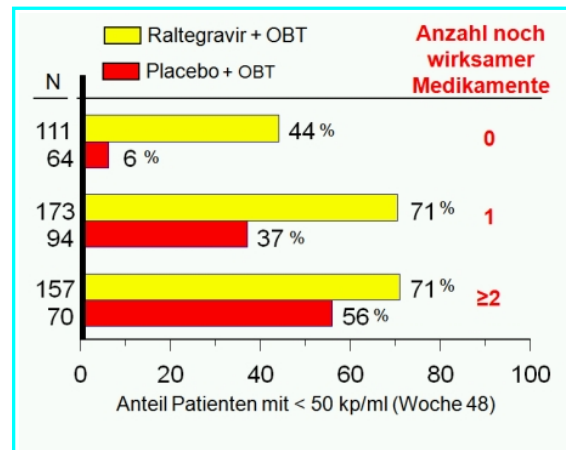
[Douglas Richman](#), UCSD, San Diego, USA.

Richman hat in seiner Übersicht die wichtigsten Daten der beiden kürzlich in den USA zugelassenen neuen Medikamentenklassen beschrieben.

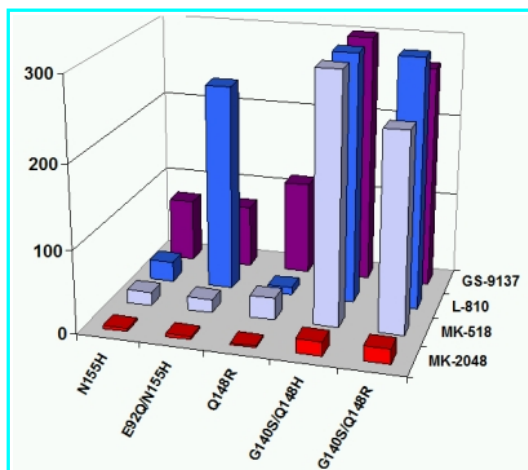
### Raltegravir – ein bestens verträglicher Integrasehemmer

Tatsächlich: Der erste klinisch verfügbare Hemmer der Integrase, Raltegravir, zeichnet sich durch eine ausgezeichnete Verträglichkeit aus. Diesen Punkt konnte Richman nicht genug betonen. Kein Zeichen, auch nicht das leiseste Signal einer Toxizität, weder klinisch noch bei den Laboruntersuchungen. Dabei hat die Substanz bisher eigentlich vor allem durch ihre hohe Potenz überzeugt. Die deutlich schnellere Suppression der Viruslast (verglichen mit Efavirenz) ist ein deutliches Zeichen für die hohe Potenz der Substanz. Richman ist zwar kein Anhänger dieser Interpretation, doch seine Erklärung des Unterschiedes durch den unterschiedlichen Ansatzpunkt hat die wenigstens wirklich überzeugt.

Wie dem auch sei: Die Substanz ist bei therapieerfahrenen Personen sehr gut wirksam, doch auch hier muss sie mit anderen wirksamen Substanzen kombiniert werden. Wie nebenstehende Abbildung zeigt, hängt die Wirkung sehr davon ab, ob in der Therapiekombination noch weitere Substanzen sind, welche gemäss Genotypisierung eine Wirksamkeit haben. Ist noch eine weitere solche Substanz im Team, so hat die Therapie mit 71% Suppressionsrate bei diesen Patienten mit Multiresistenz eine sehr gute Wirkung. Interessant auch, dass eine weitere wirksame Substanz das Therapieresultat nicht weiter verbessert.



Natürlich kann HIV auch gegen Raltegravir Resistenzen bilden. Es gibt grundsätzlich zwei Resistenz-Pathways (entweder Q148S oder N155H). Die weiteren Mutationen führen zur Erhöhung der Fitness, wie wir uns dies von den bisherigen Resistenzen gewohnt sind. Die weiteren Integrasehemmer, die zur Zeit in Entwicklung sind zeigen mehr oder weniger das gleiche Resistenzverhalte, wie die beiliegende Abbildung von Daria Hazuda (Antiviral Therapy, 2007) zeigt. Richman hat betont, dass der Integrasehemmer von Gilead (GS-9137, Eltegravir) gegenüber Raltegravir keinerlei Vorzüge hat. Doch Merck hat bereits eine neue Substanz in Entwicklung (MK-2048, vorderste Reihe), welche sich durch eine praktisch fehlende Kreuzresistenz mit den bisher in Entwicklung stehenden Substanzen auszeichnet.



Wir können also getrost in die Zukunft blicken, die Entwicklung scheint ungebremst weiter zu gehen.

### ***Maraviroc – Schwieriger Einsatz eines guten Medikamentes***

Richman's Bericht über das zweite neu zugelassene Medikament war grundsätzlich doch recht positiv, doch seine Beurteilung liess durchsickern, dass er grundsätzlich Bedenken haben bezüglich der Vor-  
testung auf R5 Phänotyp des Virus. Wenn es zum Therapieversagen unter Maraviroc kommt, so handelt es sich seltener um eine echte Therapieresistenz. Richman hat gezeigt, dass auch kleinste Mengen vorbestehender X4 Viren unter Maraviroc selektioniert werden. Wollte man diese vorbestehenden Sequenzen auch nur in einer Häufigkeit von 1% detektieren, so müsste man 500 bis 1000 Klone sequenzieren müssen um eine Sicherheit von 95% resp. 99% zu erreichen. Dieser Aufwand ist immens. Doch Richman hat der Substanz bei therapieerfahrenen Personen mit Multiresistenz eine gute Wirksamkeit attestiert. Die Nebenwirkungen hat er als mild zusammengefasst aber doch die Frage offen gelassen, ob eine Hemmung von CCR5 nicht auch noch weitere unbekannte Folgen zur Folge haben könnte.