

Dr. Hauke Walter

Virale Fitness – was weiss man wirklich?

Resistente Viren sprechen weniger gut auf Medikamente an, sind dafür aber weniger fit. So einfach ist der Zusammenhang von Resistenz und viraler Fitness leider nicht. Dennoch lohnt sich die Beschäftigung mit dem Thema, denn die Replikationskapazität wird sowohl für die Therapie als auch für die Virus-Transmission zunehmend wichtiger. Der Weg zur „virtuellen“ Replikationskapazität hat begonnen.

Wenn von Resistenz die Rede ist, wird auch immer wieder der Begriff virale Fitness genannt.

Dieser Begriff wird allerdings häufig nicht richtig oder unpräzise verwendet. Grundsätzlich beschreibt „virale Fitness“ die Fähigkeit eines Virus, sich zu vermehren. Diese Fähigkeit umfasst alle Schritte des Replikationszyklus vom Entry über die reverse Transkription und Reifung der Viruspartikel bis hin zum Budding. Die virale Fitness bzw. Fähigkeit zur Replikation wird daher auch vom Wirt bestimmt, d.h. den infizierbaren Zellen, dem Immunsystem und vielen anderen Faktoren.

Diese allgemeine Definition der viralen Fitness ist für vergleichende Untersuchungen ungeeignet. Denn eine Virus-Variante kann bei zwei infizierten Menschen unterschiedlich pathogen sein und umgekehrt können zwei unterschiedlich pathogene Varianten bei verschiedenen Menschen zu einer ähnlichen Reaktion führen. Worum es also eigentlich geht, ist die Bestimmung

einer umgebungsunabhängigen, streng viralen Eigenschaft, also der Fähigkeit zur Replikation, möglichst unter Ausschluss von Umgebungsbedingungen. So gesehen ist es offensichtlich, dass in vivo Bedingungen nicht zu standardisieren sind, wenn sie auch die wären, an denen man am meisten interessiert ist, will man denn klinisch Relevantes eruieren. Also versucht man stattdessen, das Virus in einer möglichst naturgetreuen Umgebung zu untersuchen, was aber eine Interpretation der Ergebnisse notwendig macht. **Fazit:** In der Praxis erfolgt die Messung der Fitness in klar definierbaren Umgebungsbedingungen. Dadurch wird nur ein Teilaspekt der viralen Fitness erfasst.

Fitness und Resistenz – die virale Replikationskapazität

Die virale Fitness wird am häufigsten im Zusammenhang mit der Resistenz diskutiert. Resistenz wurde zunächst ausschließlich in den Genen der Zielproteine der antiretroviralen Therapie beschrieben, also der viralen Protease und der reversen Transkriptase. Diese Gene sind, wie alle für die Replikation essentiellen Gene, die nicht Rezeptor oder Struktur des Virus codieren, im pol-Gen von HIV codiert. Angesichts dieser Einschränkung erscheint es sinnvoll, von viraler Replikationskapazität zu sprechen. Dies gilt umso mehr, da nahezu alle Daten zur Fitness von HIV mit Hilfe von rekombinanten Viren erzeugt wurden, die nur im pol-Gen aus aktuellen Isolaten stammende Sequenzbereiche tragen. Deshalb können nur die Auswirkungen von Mutationen im pol-Gen aufgezeigt werden. Veränderungen in anderen Genen werden nicht erfasst, selbst wenn sie maßgeblich für ein verändertes Replikationsverhalten sind. Wie relevant auch andere Genabschnitte sein können, hat Simon vom Aaron Diamond Research Center in NYC bereits

vor einigen Jahren gezeigt. Sie ging der Frage nach, warum hochresistente Viren von frisch Infizierten nicht wie in Therapiepausen üblich zu Wildtyp-artigen Varianten revertieren. Die naheliegende Annahme, dies sei durch eine dem Wildtyp ähnliche Fitness bedingt, bewahrheitete sich überraschenderweise nicht.

Die Replikationskapazität der rekombinanten Viren waren im entsprechenden Test (ViroLogic, San Francisco) stark reduziert. Erst als in neu generierten rekombinanten Viren immer größere Teile des gag-Gens aus den Patientenviren zum pol-Gen hinzugefügt wurden, stieg die Replikationskapazität an und erreichte schließlich bei Vollängen-gag Wildtyp-artige Fitness – und das trotz Resistenz. Der Schock über diese Erkenntnis war doppelte, denn offenbar können auch resistente HIV-Varianten ebenso schnell replizieren wie Wildtypvirus und gängige rekombinante Verfahren können die wahre Fitness der Viren unterschätzen, da sie Kompensationsmechanismen außerhalb des pol-Gens nicht mitefassen. **Fazit:** Fast alle HIV-1-Gene können mit Veränderungen der Replikationskapazität einhergehen (Abb. 1).

Klinische Relevanz

Warum also, spricht dann alle Welt immer wieder von viraler Fitness? Der Grund dafür sind klinische Beobachtungen. Rund 40% aller Patienten mit Therapieversagen haben anhaltend hohe oder sogar steigende CD4-Zahlen (Perrin und Telenti, 1998). Dies scheint mit einer Resistenz gegen Proteaseinhibitoren zu korrelieren. Patienten mit PI-resistenten HI-Viren wiesen nämlich als deutliches klinisches Zeichen einer verminderten Pathogenität der resistenten Viren auch einen geringeren CD4-Zell-Turnover auf. Arbeiten aus überwiegend virologisch orientierten Arbeitsgruppen stützen diese Beobachtung. Eine starke PI-Resistenz hat eine verminderte Prozessierung

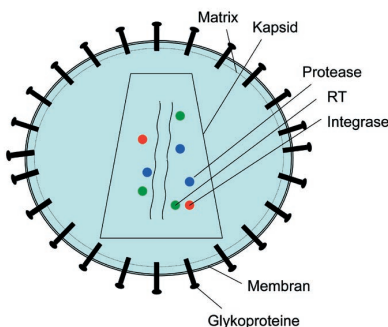


Abb. 1: Aufbau des HI-Virus. Die einzelnen Bestandteile des Virus interagieren miteinander und sind fein aufeinander abgestimmt. So nehmen Veränderungen in der Struktur des Virus Einfluss auf die Infektiosität, und Veränderungen der Infektiosität bestimmen die Replikationsgeschwindigkeit mit. Daher ist es wahrscheinlich, dass Kompensation für pol-Gen assoziierte Resistenz und damit einhergehende Verluste der Replikationskapazität auch außerhalb des pol-Gens erfolgen kann.

der viralen Strukturproteine (gag) mit Reifungsstörungen zur Folge, was die Infektiosität vermindert. Bereits Mitte der 90er Jahre wurde gezeigt, dass HIV die verminderte Protease-Aktivität durch Mutationen in den Protease-Schnittstellen des Gag-Proteins (und damit außerhalb des pol-Gens) ausgleichen kann. Diese Kompensationsmechanismen führen aber nicht vollständig bis hin zur Wildtyp-Fitness. **Fazit:** Selbst „Fitness-kompensierte“ PI-resistente Viren haben oft eine geringere Replikationskapazität als das Wildtypvirus und sind daher klinisch günstiger (Abb. 2).

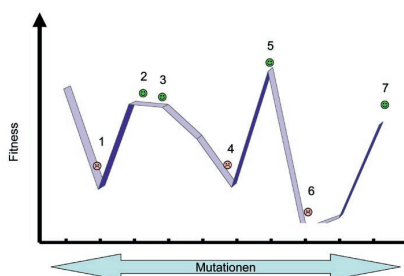


Abb. 2: Fitness und Evolution. Wenn ein Virus sich durch Mutation verändert, bedeutet das nicht unbedingt einen Vorteil. Daher kann der Weg zu einer vorteilhaften Variante über Zwischen-Varianten gehen, die mit erheblichen Fitness-Nachteilen behaftet sind. So müssten z.B. die fitten Viren 2 und 3 erst zu Variante 4 mutieren, um hinterher zur super-fitten Variante 5 werden zu können. Da die Variante 4 noch deutlicher fitter ist als Variante 6, wäre es für die Viren 2 und 3 wahrscheinlicher zu Variante 5 zu werden als für Variante 7, obwohl für alle drei Varianten die gleiche Anzahl an Mutationen notwendig wäre.

M184V – Gut oder böse?

Eine zweite wichtige Mutation mit klinischer Relevanz ist die M184V. Diese Mutation entsteht unter der Behandlung mit 3TC, FTC, ABC und ddI. Sie vermittelt die Resistenz gegen alle diese Substanzen, doch nur die Resistenz gegen 3TC und FTC ist auch klinisch relevant. Die Mutation M184V erhöht zudem die Lesegenauigkeit („fidelity“) der reversen Transkriptase und sollte daher theoretisch der Akkumulation von weiteren Resistenzen entgegenwirken. Für diese These gibt es allerdings keinen Beweis in Form einer klinischen Studie, der angesichts der Korrelation von Replikations- und Mutationsrate, aber auch extrem schwer zu führen ist. Offensichtlich dagegen war schnell, dass die Viruslast bei Therapieversagen unter



Abb. 3: Das unfitte Virus – ein Krüppel? Die klinische Relevanz der verminderten Replikationskapazität zeigt sich in anhaltend hohen CD4-Zellzahlen trotz Wiederanstieg der Viruslast unter ART. Man spricht auch von Entkopplung des immunologischen und virologischen Therapieversagens

3TC-Monotherapie nicht wieder auf den Ausgangswert steigt. Als mögliche Ursache wurde ein Verlust der Replikationskapazität durch M184V diskutiert.

3TC-Erhaltungstherapie

Deshalb wird heute, selbst wenn die M184V vorliegt, 3TC meist im Regime belassen. Ob dies sinnvoll ist, wurde in einigen jüngeren Studien untersucht. In einer Arbeit wurde 3TC ohne Ersatz einfach abgesetzt, wenn die Mutation M184V vorlag. In der Folge stieg die Viruslast und die CD4-Zellzahl fiel ab, was retrospektiven Analysen zufolge mit dem Verschwinden der M184V-Mutation assoziiert war. Obwohl im weiteren Verlauf der Studie 3TC wieder angesetzt wurde, kam es trotz des erneuten Erscheinens der M184V nicht zur erwarteten virologischen oder immunologischen Rekonstitution. Diese Beobachtung ist sowohl erschreckend als auch unerklärlich. Weder eine residuelle Aktivität von 3TC noch ein Fitness-assoziiertes Effekt scheinen wegen der Irreversibilität des Phänomens als Erklärung plausibel.

In einer weiteren Studie wurden in einem Arm alle Medikamente und im anderen Arm alle Medikamente außer 3TC abgesetzt (E-184V). Unter 3TC als Erhaltungstherapie fiel die CD4-Zellzahl signifikant weniger ab. Die Replikationskapazität der Viren nach 24 Wochen war in der Pausen-Gruppe um den Faktor 11 gestiegen, unter 3TC jedoch nahezu gleich geblieben. Offenbar reichte der Selektionsdruck durch 3TC aus, um die resistenten Varianten zu erhalten. **Fazit:** Es ist bis heute unklar, ob die M184V eine „gute“ und damit eine erstrebenswerte Mutation ist. Dagegen ist es klinisch eindeutig günstig,

den Selektionsdruck (durch 3TC oder FTC) aufrecht zu erhalten, selbst wenn M184V vorliegt.

Replikationskapazität – sollen wir testen?

Soll man die Replikationskapazität testen? Die Antwort des Virologen: Es gibt nicht genug Daten, um diese Frage klar zu beantworten, also ja. Immerhin gibt es erhebliche Fortschritte. Die Zahl der Laboratorien steigt, in denen man die Replikationskapazität im rekombinanten Verfahren testen lassen kann, und der Zugang zu Daten zur Replikationskapazität wird dadurch langsam erleichtert. Das ist zwar grundsätzlich begrüßenswert, die Frage nach dem klinischen Nutzen der Untersuchung bleibt allerdings offen. Man bräuhete aussagekräftige Daten aus dem klinischen Alltag, doch es ist eher unwahrscheinlich, dass diese angesichts des hohen Aufwands in absehbarer Zukunft zur Verfügung stehen werden. Ein Ausweg ist die „virtuelle“ Replikationskapazität, d.h. ein Verfahren mit dem man anhand einer gewöhnlichen Sequenzanalyse (wie bei der genotypischen Resistenzbestimmung) die wahrscheinliche Replikationskapazität vorhersagen kann. Solche Verfahren basieren auf bioinformatischen Methoden, wie sie beispielsweise dem System geno2pheno zur Vorhersage der phänotypischer Resistenz zu Grunde liegen. Erste Untersuchungen in dieser Richtung unterstreichen die Komplexität der „virtuellen“ Replikationskapazität, denn die Bedeutung einzelner Mutationen scheint maßgeblich vom Vorhandensein anderer Mutationen abhängig zu sein (siehe auch Abb. 3). Eingehende Analysen laufen derzeit. Nach ihrem Abschluss wird ein entsprechendes Vorhersagesystem im geno2pheno-System implementiert werden und öffentlich online zur Verfügung stehen. **Fazit:** Mittels bioinformatischer Vorhersagesysteme können ausreichend viele Daten gesammelt werden, um die klinische Bedeutung der Replikationskapazität im geeigneten Maßstab zu untersuchen. ■

Literatur beim Verfasser

Dr. Hauke Walter
National Referenzzentrum für Retroviren
Universität Erlangen-Nürnberg
Schlossgarten 4 · 91054 Erlangen
Fax: ++49 (0) 9131/8526485
Email: Hauke.Walter@viro.med.uni-erlangen.de