

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR INNERE MEDIZIN I
DIREKTORIN PROF. DR. MARTINA MÜLLER-SCHILLING
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**Sicherheit und Verträglichkeit
der DNA-C- und NYVAC-C-Impfstoffe
in der „EuroVacc03“-HIV-Impfstudie**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Fakultät für Medizin der Universität Regensburg

vorgelegt von
Benedikt Jochem

2014

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR INNERE MEDIZIN I
DIREKTORIN PROF. DR. MARTINA MÜLLER-SCHILLING
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**Sicherheit und Verträglichkeit
der DNA-C- und NYVAC-C-Impfstoffe
in der „EuroVacc03“-HIV-Impfstudie**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Fakultät für Medizin der Universität Regensburg

vorgelegt von
Benedikt Jochem

2014

Dekan: Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Bernd Salzberger

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Ralf Wagner

Tag der mündlichen Prüfung: 18. März 2014

Unser Nächster ist nicht nur der Mensch. Unsere Nächsten sind alle Wesen. Deshalb glaube ich, daß der Begriff der Ehrfurcht vor dem Leben unseren Gedanken der Humanität mehr Tiefe, mehr Größe und mehr Wirksamkeit verleiht.

Albert Schweitzer

Inhaltsverzeichnis

1 Einführung	3
1.1 Geschichtliche Entwicklung und Konzepte von Vakzinen	3
1.1.1 Geschichte der Pocken-Variolation und -Vakzine	4
1.1.2 Entwicklung von Vakzinen gegen weitere Infektionskrankheiten	7
1.1.3 Formen von Immunisierung	9
1.2 Toxizitäten von Vakzinen.....	14
1.2.1 Akute Toxizität.....	16
1.2.1.1 Lokale Reaktionen	17
1.2.1.2 Systemische Reaktionen	17
1.2.2 Langzeittoxizität.....	20
1.2.3 Impfkomplicationen.....	22
1.2.4 Maßnahmen zur Verbesserung der Impfsicherheit	23
1.3 Das Humane Immunodefizienz Virus.....	26
1.3.1 Das Humane Immunodefizienz Virus.....	26
1.3.2 Infektionswege und klinischer Verlauf.....	35
1.3.3 Epidemiologie der HIV-Erkrankung.....	36
1.4 HIV-Vakzinen	42
1.4.1 Konzepte präventiver und therapeutischer von HIV- Impfungen.....	42
1.4.1.1 Attenuierte und inaktivierte Vakzinen, sowie Virus-ähnliche Partikel	44
1.4.1.2 Induktion von Antikörpern	45
1.4.1.3 Induktion spezifischer zytotoxischer T-Zellen.....	46
1.4.2 HIV-Vakzine-Studien	47
1.4.3 Toxizität von HIV-Vakzinen.....	51
2 Fragestellung und Zielsetzung der Dissertation	58
3 Methodisches Vorgehen und Probanden	59
3.1 Vorbereitung.....	59
3.2 Probandengewinnung.....	59
3.3 Durchführung und Dokumentation der Studie	61
3.4 Probandentagebuch	62
3.5 Labortechnische Auswertungen.....	63
4 Ergebnisse	64

4.1 Aufgezeichnete Nebenwirkungen	64
4.1.1 Lokale Reaktionen.....	65
4.1.2 Systemische Reaktionen	67
4.1.3 Akutreaktionen der beiden Impfregime im Vergleich.....	69
4.2 Ergebnisse im Längsschnitt der Vakzinationstermine	71
4.3 Statistische Analysen zu den Unterschieden der kurzfristigen Nebenwirkungen zwischen den beiden Gruppen.....	75
5 Diskussion	76
6 Literatur	82
7 Anhang.....	96
7.1 Probandentagebuch	96
7.2 Abkürzungsverzeichnis.....	99
7.3 Abbildungsverzeichnis.....	101
7.4 Tabellenverzeichnis.....	102
7.5 Erklärung.....	103

1 Einführung

1.1 Geschichtliche Entwicklung und Konzepte von Vakzinen

Bis in die Neuzeit hinein starben und sterben Menschen auf allen Kontinenten an Infektionskrankheiten wie Pneumonie, Gastroenteritis oder Wundinfektionen. Die Erkenntnis, dass Mikroorganismen für Krankheiten ursächlich sind, setzte sich erst ab der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts durch - basierend auf den Forschungsergebnissen einer Reihe von Wissenschaftlern wie zum Beispiel Louis Pasteur (1822-1895) oder Robert Koch (1843-1910). Louis Pasteur konzentrierte sich auf die Frage, ob Bakterien übertragbare Krankheiten auslösen [Pasteur & Chamberland, 1881]. Er gilt durch seine Arbeiten als einer der Begründer der Mikrobiologie. Robert Koch entdeckte die Krankheitserreger *Bacillus anthracis* im Jahr 1876, *Mycobacterium tuberculosis* im Jahr 1882, und *Vibrio cholerae* im Jahr 1883 und damit die Ursachen weit verbreiteter und schwerwiegender Krankheiten [Schwalbe, 1912].

Durch die Arbeiten von Jakob Henle (1808-1885) und Robert Koch sowie eines seiner Assistenten, Friedrich Loeffler (1852-1915), wurden erste Grundsätze für den Nachweis von Erregern als Krankheitsursache aufgestellt, die später als Henle-Koch-Postulate bezeichnet wurden. Diese besagen, dass für eine bestimmte Infektionskrankheit ein spezieller Erreger identifiziert werden muss, der immer mit der gleichen Krankheit einhergeht. Wenn dieser Erreger völlig isoliert und in Reinkultur hinreichend oft angezüchtet wird und dann im Stande ist, wiederum die Krankheit zu erzeugen, dann sei der Nachweis eines spezifischen Krankheitserregers erbracht [Loeffler, 1884; Koch, 1884].

Diese ersten - auf reiner Beobachtung basierenden - Erkenntnisse erwiesen sich zwar später nicht immer als hinreichend, waren aber der Ausgangspunkt für eine lange Forschungslinie zu Fragen der Infektionskrankheiten. Als nicht zu erfüllen stellten sich die drei Postulate für Viren und manche Bakterien heraus. Hinzu kam die Erkenntnis von immunologischen Erreger-Wirt-Beziehungen als ein „viertes Postulat“ [Evans, 1976].

1.1.1 Geschichte der Pocken-Variolation und -Vakzine

Pocken-Variolation

Maßnahmen zur Abwendung von Infektionskrankheiten wurden bereits über 1000 Jahre v. Chr. in China und Indien praktiziert, sowie später auch im Vorderen Orient. Im Falle der Pocken wurde Material von zerriebenen Pockenkrusten bereits erkrankter Personen in die Haut (in Indien) oder in die Nase und Lunge durch Einatmen (in China) von Gesunden eingebracht. Die dadurch Infizierten zeigten zwar auch die Symptome der Pocken auf, jedoch meist nur lokal und in weniger starker Ausprägung. Durch Selektion von weniger schwer Erkrankten für die Pockenkrustenentnahme konnten schwere Erkrankungsverläufe bei den Infizierten durch diesen Lebendimpfstoff meist vermindert und die Letalität deutlich reduziert werden [Coult, 1731; Macgowan, 1884; Hopkins, 1983].

Die Variolation ist dadurch charakterisiert, dass das infektiöse Pathogen in einer unschädlicheren Art appliziert wird, so eine abgeschwächte Form der Erkrankung im Organismus induziert und die daraus hervorgegangene Immunität eine spätere typische Infektion verhindert. Diese Art der Induktion von Immunität bot keinen vollständigen Schutz, jedoch wurde die Letalität der Pocken von etwa 20% bis 30% auf 0,5% bis 2% gesenkt [Fenner et al., 1988].

Vermutlich wurde die Pocken-Variolation im 13. Jahrhundert durch die Mameluken von der arabischen Halbinsel nach Ägypten überliefert. Erst Anfang bis Mitte des 18. Jahrhunderts kam das Wissen über die Pocken-Variolation über zwei Wege nach Europa: zum einen über den Balkan nach Zentral-Europa, wo es intensiv in der Slowakei angewandt wurde, und zum anderen aus der Türkei, speziell aus Istanbul, wo die Kenntnisse im 17. Jahrhundert aus Indien überliefert wurden [Dubay, 1972].

Dieser zweite Weg wurde durch Mary Wortley Montagu, die Gemahlin des britischen Botschafters in Istanbul bekannt. Frau Montagu erlitt 1715 selbst eine Pockeninfektion, und ihr Bruder verstarb an selbiger Infektionskrankheit. Daraufhin variolierte sie ihre Kinder [Behbehani, 1983]. Sir Hans Sloane, der Arzt des Königs und Vorsitzender der Royal Society, war der Behandlungsmethode gegenüber sehr aufgeschlossen und erreichte, dass Versuche an Gefangenen gemacht werden durften. Nach guten Ergebnissen wurde die Variolation ab Mitte der 1720er Jahre zunehmend in England angewandt. In London wurde 1746 „The smallpox and inoculation Hospital“ gegründet, welches eine kostenlose Inokulation der Bürger durchführte. 1793 verfasste John Haygarth, ein Arzt in Chester zum ersten Mal ein Schreiben darüber, wie man die Pocken in England komplett ausrotten könnte [Haygarth, 1793].

Von England aus verbreitete sich die Variolation über ganz Europa und den USA, dort wurde sie jedoch teils mit hoher Skepsis aufgenommen [Miller, 1957; Plotkin et al., 2008]. In Boston wurden die inokulierten Personen im Jahre 1721 mit 287 (4,7 % der insgesamt mit Pocken infizierten Personen) registriert; diese Zahl stieg im Jahre 1792 auf 9152 (97,5 % der mit Pocken infizierten Personen). Die Letalität fiel von 14 % im Jahr 1721 auf 2,7 % im Jahr 1792. Die Schwächung der Armee durch die Pockenerkrankung war in den 1770er Jahren so groß, dass George Washington im Jahre 1777 eine allgemeine Verpflichtung der Pocken-Variolation für neue Rekruten anordnete [Fenner et al., 1988].

Die Variolation war in zweierlei Hinsicht wichtig für die weitere medizinische Entwicklung in Europa und Nordamerika. Zum einen reduzierte sie die Letalität der Pockenerkrankung, und zweitens förderte sie die Akzeptanz in der Bevölkerung für diesen neuen präventiven Ansatz der Medizin und legte so einen Grundstein für die Entwicklung von Vakzinen.

Pocken-Vakzine

In der ländlichen Bevölkerung Englands wurde Ende des 18. Jahrhunderts beobachtet, dass Pocken-infizierte Menschen, welche zuvor mit Kuhpocken infiziert waren, im Falle einer Infektion mit den humanpathogenen Pocken weniger Pockenpusteln aufwiesen, und dass bei selbigen Personen eine verminderte Pocken-assoziierte Letalität zu registrieren war. Edward Jenner (1749-1823) griff diese Beobachtung auf und applizierte am 14.05.1796 einem Jungen die erste Lebendvakzine. Er entnahm einer an Kuhpocken erkrankten Magd, Pustelmaterial und inokulierte es dem Jungen. Nach sechs Wochen bzw. nach fünf Jahren testete Jenner den Jungen mittels Inokulation von humanen Pocken, wobei dieser beide Male keinerlei Zeichen einer Infektion bzw. Pockenerkrankung zeigte. Jenner veröffentlichte seine gut analysierten Ergebnisse im Jahre 1798 unter dem Titel "Inquiry into the causes and the effects of the variola vaccinae" [Jenner, 1798].

Die Entdeckung der Pocken-Vakzine führte daraufhin in den ersten Jahrzehnten des 19. Jahrhunderts sehr schnell zu einer breiten Anwendung selbiger in Europa und Nordamerika, weil die Nachteile und Risiken der Pocken-Variolation praktisch beseitigt waren. Während beispielsweise in Schweden in der Periode von 1770 bis 1810 die Mortalität der Pockeninfektion zwischen 400 bis 7200 pro eine Millionen Bürger und Jahr betrug, reduzierte sich diese Zahl nach Einführung einer allgemeinen Impfpflicht im Jahre 1816 auf durchschnittlich etwa 200 pro eine Millionen Bürger in den Jahrzehnten 1820 bis 1850 (Abbildung 1.1). In dieser Periode lag der Anteil der inokulierten Neugeborenen bei rund 80 % [Edwardes, 1902].

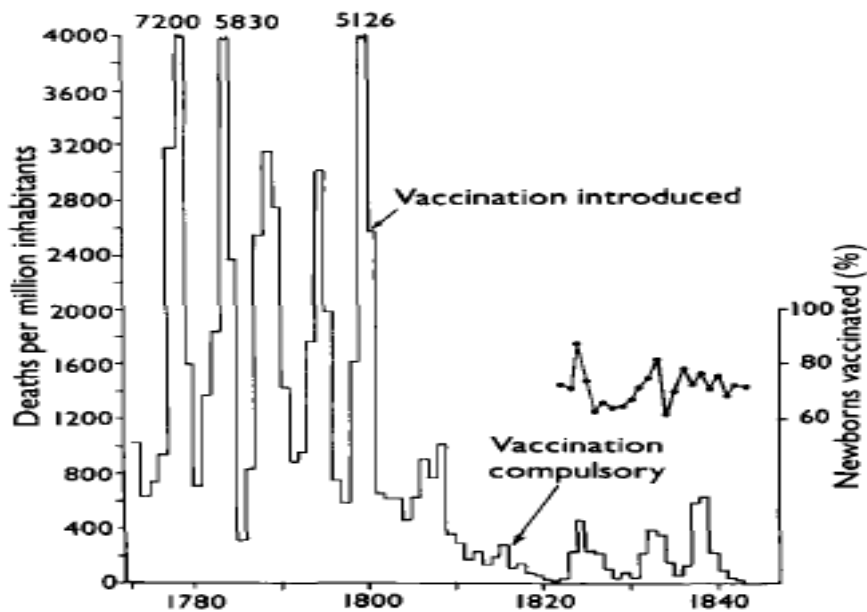


Abbildung 1.1. Mortalität der Pockeninfektion pro eine Million Bewohner in Schweden in der Periode 1770 bis 1850 und Impfanteil von Neugeborenen in Prozent, 1820 bis 1845 [Edwardes, 1902].

Jenner unterlag jedoch einem Irrtum in der Annahme, dass der Immunschutz durch die einmalige Anwendung der Vakzine absolut und lebenslang sei. Erst die sogenannte Erneuerungsimpfung, die in deutschen Staaten wie Württemberg, Bayern und Preußen zwischen 1829 und 1834 eingeführt und dann 1874 gesetzlich für jedes Kind im zweiten Lebensjahr und im 12. Lebensjahr vorgeschrieben wurde, führte zu einer Reduktion Pocken-assoziierten Letalität zwischen 1875 und 1892 auf 0 bis 30 pro eine Million Einwohner in Deutschland. Während in Österreich, wo die Wiederholungsimpfung nicht verpflichtend war, die Mortalität in der gleichen Periode bei 36 bis 967 pro eine Million Einwohner lag [Edwardes, 1902].

Damit war die Geburtsstunde einer neuen Maßnahme zur Prävention von Infektionskrankheiten gekommen. Der Ausdruck „Vakzine“ wurde jedoch erst später von Louis Pasteur geprägt, welcher ihn auf die Kuhpocken vacca (lat. Kuh) zurückführte.

Auch wenn die Wirkungsmechanismen der Pocken-Vakzine in der damaligen Zeit unbekannt waren, so trug der Erfolg der weitgehenden Auslöschung dieser Infektionskrankheit dazu bei, die Forschung im Bereich der Prävention vor weiteren Infektionskrankheiten zu intensivieren.

1.1.2 Entwicklung von Vakzinen gegen weitere Infektionskrankheiten

Im 19. und 20. Jahrhundert wurden weitere Impfungen gegen Infektionskrankheiten entwickelt. Dabei wurde immer deutlicher, dass nicht nur der Geimpfte einen Vorteil für den Erhalt seiner Gesundheit hat, sondern auch ein Kollektivschutz erreicht werden kann, wenn hinreichend hohe Anteile einer Bevölkerung geimpft werden [Fenner et al., 1988].

Die ersten entwickelten Vakzinen bestanden aus abgetöteten Bakterien oder aus gereinigten Toxinen. Durch einen Zufall entdeckte Louis Pasteur (1822-1895) die Wirkung attenuierter Kulturen, als er Hühnern eine über den Sommerurlaub 1891 gealterte Hühnercholera-Kultur applizierte, und diese dann nochmals mit einer neuen infektiösen Kultur inokulierte. Als die Hühner daraufhin nicht an Cholera erkrankten, erkannte Pasteur, dass attenuierte Kulturen eines Erregers eine weitere Option der Vakzinenherstellung und -anwendung sind [Pasteur & Chamberland, 1881]. Pasteur gelang es noch im selben Jahr 1881, an Schafen und Ziegen die Wirkung einer Impfung gegen Milzbrand nachzuweisen. Er verwendete attenuierte *Bacillus anthracis* zur Impfung und nach knapp vier Wochen inokulierte er den Versuchstieren pathogene Sporen. Während keines der geimpften Tiere an Milzbrand erkrankte, verstarb ein Großteil der nicht geimpften Tiere [Plotkin et al., 2008].

Ein weiterer Erfolg gelang Pasteur zusammen mit Émile Roux (1853-1933) mit der Entwicklung einer Vakzine gegen Tollwut. 1885 wurde der Impfstoff zum ersten Mal an Joseph Meister angewandt, der sich durch Hundebisse mit Rabies infiziert hatte. Der zu diesem Zeitpunkt Neunjährige, wurde durch die verabreichte postexpositionelle Impfung wieder gesund [Plotkin et al., 2008].

Die Verwendung von Vakzinen mit lebendigen Mikroorganismen zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten wurde erst nach der Entwicklung der Zellkulturtechnik, sowie der chemischen Attenuation möglich. Durch die in vitro Züchtung konnte Ende der 1920er Jahre eine Impfung gegen Gelbfieber entwickelt werden. Und durch die Attenuation konnten Anfang der 1960er Jahre Impfungen gegen Polio als orale Vakzine bzw. gegen Masern als intramuskuläre Vakzine hergestellt werden. Einen weiteren Fortschritt stellte in den 1950er und 1960er Jahren die simultan applizierten lebenden Vakzinen dar, wobei zunächst herausgefunden werden musste, ob die Art der Applikation zum vermehrten Auftreten von Nebenwirkungen oder zu einer schlechteren Wirksamkeit führen würde. Es konnte nachgewiesen werden, dass die meisten Vakzinen auch zeitgleich appliziert werden konnten und sich teilweise sogar verstärkend auf die Immunantwort auswirken können. Die simultane Anwendung der 1955 von Salk entdeckten oralen Polio-Vakzine zusammen mit der Pocken-Vakzine

fürhte zu keinen Problemen bezüglich Sicherheit und Wirksamkeit der Impfstoffe [Karchmer et al., 1971, Winter et al., 1963]. Vergleichbare Resultate wurden auch in anderen Kombinationsformen von Pocken-Vakzinen mit der BCG-Vakzine [Lin, 1965], sowie mit den Lebendimpfungen gegen Gelbfieber [Meers, 1960] und Masern [Breman et al., 1975] beobachtet.

In den 1970er Jahren gelang es durch die Isolation von Kapselpolysacchariden aus bekapselten Bakterien eine weitere Vakzinenart herzustellen. Durch diesen Mechanismus konnten Vakzine gegen *Haemophilus influenzae Typ B*, *Streptokokkus pneumoniae*, sowie *Neisseria meningitides* hergestellt werden. Die Impfung gegen *Haemophilus influenzae Typ B* war bei Kleinkindern jedoch nicht immunogen genug. Der Durchbruch gelang erst in den 1990er Jahren mit einem Konjugatimpfstoff, der zu einer ausreichenden Immunogenität führte. Eine weitere Errungenschaft in den 1970er Jahren konnte durch die sogenannten Reassortment (auch Reassortierung genannt) erzielt werden, bei dem genetische Teile von Viren neu kombiniert werden können (z. B. gegen Influenza) [Plotkin, 2005].

Im Rahmen der „Millennium Development Goals“ (MDG) der World Health Organisation (WHO) führten auch Impfungen - neben anderen Maßnahmen, wie z. B. Investitionen in Krankenhäuser oder in Bildung medizinischen Personals - zu einer Verbesserung der Gesundheit der Weltbevölkerung. Besonders das MDG-4, das die Reduktion der Kindersterblichkeit beinhaltet, konnte, durch die weltweiten Masern-Impfprogramme vorangetrieben werden. Allerdings stellen die Vakzine nur einen kleinen Anteil, in Anbetracht dieser sehr ehrgeizigen, aber ebenso notwendigen Ziele dar [WHO, 2010].

Für viele weitere Infektionskrankheiten wäre eine Vakzine dringend von Nöten. Im MDG-6 wird dabei auf die Infektionskrankheiten mit der weltweit höchsten Mortalität eingegangen. Diese sind neben HIV auch viele andere Infektionskrankheiten, wie z. B. Tuberkulose, Malaria, Dengue-Fieber, Leishmaniose, Schistosomiasis, Trypanosomiasis oder Chagas-Krankheit [WHO, 2010].

So ist zum Beispiel die Mortalität der Malaria trotz vieler Bekämpfungsprogramme in den letzten 20 Jahren nicht zurückgegangen und lag im Jahre 2010 weltweit bei über einer Million [Murray et al., 2012]. Der Lebenszyklus der Protozoe ist sehr gut erforscht. So befinden sich aktuell Vakzinen in der klinischen Testung [Hill, 2011].

Es besteht die große Hoffnung, die vielen neuen Strategien der Impfforschung auch für andere von der Gesundheitsindustrie weniger fokussierte Infektionskrankheiten verwenden zu können. Dafür sind auch gesundheitspolitische Bemühungen notwendig,

um die kostspielige Durchführung der klinischen Vakzinenentwicklung, die Herstellung und weltweite Zugänglichkeit in die Hände von Institutionen zu geben, welche die Bekämpfung der Krankheit und das Leiden der Erkrankten in das Zentrum ihres Handelns stellen [Bethony et al., 2011].

1.1.3 Formen von Immunisierung

Vakzinen immunisieren gegen eine bestimmte Infektion, indem sie das Immunsystem befähigen, das jeweilige in den Organismus eingedrungene Pathogen auf unterschiedliche Art und Weise funktionsunfähig zu machen. Bei der Immunreaktion unterscheidet man die frühe, nicht-adaptive Abwehrreaktion und die adaptive Immunantwort:

- Die nicht-adaptiven Abwehrreaktionen können unterteilt werden in solche mit Beteiligung von Plasmaproteinsystemen, wie z. B. Komplementsystem, Kininsystem, Interferone und solche mit Beteiligung von zellulären Elementen, wie z. B. neutrophile Granulozyten, natürliche Killerzellen und dendritische Zellen.
- Die adaptive Immunantwort basiert auf der Bildung von Immunglobulinen nach Erkennung des eindringenden Erregers, sowie aus zellulären Elementen. Diese sind die T-Lymphozyten, welche sich in CD4- und CD8-positive T-Lymphozyten aufteilen.

Während die nicht-adaptive Abwehrreaktion sofort bei Erkennung der Pathogene erfolgen kann, braucht die Bildung hinreichender Mengen von Immunglobulinen Zeit von einigen (ca. fünf bis sieben) Tagen. In diese Prozesse des Immunsystems greifen Vakzinen in unterschiedlicher Form ein.

Man unterscheidet prinzipiell verschiedene Formen der Immunisierungen durch Vakzinen: passive und aktive Immunisierungen, sowie Tot- und Lebendimpfstoffe. Welche der Möglichkeiten zur Bekämpfung einer Infektionskrankheit im konkreten Fall gewählt wird, hängt von mehreren Faktoren ab [Murphy, 2007], so z. B. ob

- eine Infektion sicher oder mit hoher Wahrscheinlichkeit vorliegt und der Schutz durch die Vakzine zeitlich unmittelbar wirksam werden soll,
- hinreichend Zeit ist für eine Latenz bis zur Antikörperbildung durch den Organismus,
- die Immunkompetenz des betroffenen Organismus als hinreichend eingeschätzt wird oder das Alter des zu Impfenden eine Präferenz für eine Art der Immunisierung nahe legt.

Passive Immunisierung

Bei der passiven Immunisierung wird das Immunsystem selbst nicht mit dem Erreger konfrontiert, sondern es werden Immunglobuline appliziert, die heterolog oder homolog hergestellt wurden. Die heterologen Immunglobuline haben den Nachteil, dass sie vom Immunsystem als Fremdeiweiß erkannt werden können und somit eine Reaktion gegen diese ausgelöst werden kann. Wegen dieses Risikos werden heute fast ausschließlich homologe Immunglobuline verwendet.

Ein Beispiel für eine heterologe Immunisierung ist die von Emil Behring (1854-1917) und Shibasaburo Kitasato (1853-1931) entwickelte Vakzine gegen Diphtherie [Behring 1890]. Die Diphtherie war im 19. Jahrhundert in ganz Europa endemisch und forderte viele Opfer, besonders unter Kindern. Das *Corynebacterium diphtheriae* wurde bereits 1884 von Edwin Klebs (1834-1913) und Friedrich Loeffler (1852-1915) mikroskopisch als Erreger der Diphtherie bewiesen [Kurz, 2001].

1891 konnte Behring erstmals seine Hypothese beweisen, dass bei der Diphtherie nicht der Erreger selbst die Krankheit auslöst, sondern ein Toxin. Durch die Forschung mit seinem Kollegen Kitasato gelang es ihm, ein Antitoxin zu finden [Kurz, 2001]. Das Antitoxin wurde gewonnen, indem zunächst die Diphtherie-Erreger einem Pferd injiziert wurden, welches daraufhin Antikörper gegen das Diphtherietoxin produzierte [Ehrlich et al., 1894].

Behring galt als „Retter der Kinder“, auch wenn er sein Diphtherieserum irrtümlicherweise für nicht überdosierbar hielt. Es kam durch die Vakzine zu anaphylaktischen Reaktionen, die man aber erst später mit der Impfung in Verbindung brachte [Kurz, 2001]. Für diese Entwicklung der passiven Immunisierung erhielt Behring im Jahre 1901 den Nobelpreis für Medizin.

Der Vorteil der passiven Immunisierung ist, dass die Immunität gegen den Erreger (oder deren stark wirksame Toxine) sofort nach der Impfung besteht; allerdings hält sie nur für einige Wochen an. Dies liegt an der relativ kurzen Halbwertszeit der injizierten Immunglobuline (bzw. der neutralisierenden Antikörper gegen die Toxine). Sobald die applizierten Immunglobuline abgebaut sind, stehen diese der spezifischen Immunabwehr nicht mehr zur Verfügung, da vom Organismus keine neuen gebildet werden. Man spricht von einer humoralen, also nicht zellulär vermittelten Immunität.

Passive Immunisierungen werden bei fehlendem Impfschutz als Postexpositionsprophylaxe verwendet. So werden beispielsweise Vakzine gegen Tetanus nach Verletzungen, gegen Röteln bei Schwangeren mit Kontakt zu einem an Röteln erkrankten Kind, oder gegen Hepatitis B bei Blutkontakt passiv geimpft. Weitere Beispiele sind die passiven Impfungen gegen FSME, CMV oder Tollwut.

Aktive Immunisierung

Bei der aktiven Immunisierung wird das Immunsystem durch Kontakt mit dem Erreger oder dessen Bestandteilen aktiviert und bildet selbst spezifisch wirksame Immunglobuline bzw. T-Lymphozyten. Dieser Prozess dauert allerdings mindestens fünf bis sieben Tage. Dafür führt diese Form der Vakzine zu einer deutlich länger anhaltenden Immunität als die passive Immunisierung. Da die Immunität vom Organismus selbst gebildet wird, muss die zu impfende Person über ein intaktes Immunsystem verfügen. In einem Organismus, der immunsupprimiert ist, so z. B. an einer Leukämie oder einer HIV-Infektion erkrankt ist, kann daher oft keine adäquate Immunreaktion hervorgerufen werden [Spiess et al., 2012].

Bei einer aktiven Immunisierung werden vom Organismus zum einen ausgereifte Effektorzellen gebildet, die Immunglobuline produzieren und eine begrenzte Lebensdauer haben. Zum anderen verbleiben einige der Immunglobulin-bildenden Zellen in einem zwar aktivierten, aber nicht ausgereiften Stadium stehen, in dem sie lange Zeit überleben können. Diese Zellen werden memory cells (Gedächtniszellen) genannt. Aufgrund dieser Differenzierung der Immunglobuline werden bei einer Reinfektion mit demselben Erreger keine neuen B- oder T-Zellen aktiviert, sondern die Gedächtniszellen. Dadurch dauert die Reaktivierung der Immunantwort nur ein bis zwei, statt fünf oder mehr Tage. Zudem haben die B-Gedächtniszellen bereits eine Phase der Hypermutation durchlaufen, so dass einige von ihnen Antikörper mit höherer Avidität als die der zuvor erzeugten Immunglobuline produzieren können.

Die Fortschritte in der Molekularbiologie und der Gentechnik bezüglich Verständnis und technischer Anwendungen führen in der jüngsten Vergangenheit zu komplexeren Strategien der aktiven Immunisierung wie z. B. die Versuche bei Tumorkvakzinen [Schirmacher, 1996], zur Stimulierung von spezifischen Immunreaktionen bei Alzheimer [Grimmer et al., 2008] oder neuen Vakzine-Konzepten gegen HIV.

Während bei den Tumorkvakzinen in jüngster Zeit erste Erfolge zu vermelden sind wie z. B. beim Zervixkarzinom [Hepburn & Kaufmann, 2009], lassen Durchbrüche in den beiden anderen genannten Bereichen noch auf sich warten. In diesem Kontext steht auch die hier vorliegende Arbeit im Bereich der HIV-Vakzine.

Totimpfstoffe

Im Hinblick auf die biologischen Formen von Vakzinen werden Tot- und Lebend-Impfstoffe unterschieden.

Bei den Totimpfstoffen handelt es sich entweder um nicht mehr lebende Erreger, um Teilstücke von diesen oder um einzelne Antigene. Die gereinigten Antigene müssen meist mehrmals injiziert werden, um eine Grundimmunisierung des Organismus zu erreichen. Dann - je nach Vakzine - müssen nach einem bestimmten Zeitraum Auffrischungsimpfungen erfolgen [Spiess et al., 2012].

Beispiele des Einsatzes für inaktivierte Organismen als Totimpfstoff sind die Vakzinen gegen Typhus und Cholera um 1900, Pertussis und Influenza in den 1920er und 1930er Jahren sowie Hepatitis A seit Mitte der 1990er Jahre [Plotkin, 2005].

Lebendimpfstoffe

In Vakzinen, die Lebendimpfstoffe enthalten, sind die Erreger meist so verändert, dass sie sich zwar noch geringfügig vermehren können, aber keine Krankheit auslösen können. Jedoch kommt es zur Infektion, die im Organismus eine protektive Immunantwort auslöst. Die Attenuierung wird bei Viren erreicht durch Selektion veränderter Rezeptoren der Virusoberfläche, die auf die menschlichen Zellen nicht mehr angepasst sind. Eine weitere Form der Attenuierung ist die Kälteanwendung, bei der manche Erreger ihre Virulenz verlieren. Bei Bakterien werden stabile Stämme produziert, denen ihre krankheitsauslösenden Gene durch Zufall oder gezielt selektiert wurden. Der auf unterschiedliche Weise attenuierte Erreger steht dem Immunsystem zur Verfügung, damit dieses sowohl eine humorale als auch eine zellvermittelte Immunität herstellen kann [Spiess et al., 2012]. Lebendimpfstoffe wirken ebenso wie Totimpfstoffe über längere Zeit, meistens über mehrere Jahre und manche sogar lebenslang.

Ein geringes Risiko bei den Lebendimpfstoffen besteht einerseits bei immunsupprimierten Patienten und andererseits bei Erregern, welche durch eine Rückmutation des attenuierten Erregers in seinen Wildtyp zum Krankheitsausbruch führen kann. Darin besteht nun ein Augenmerk der Vakzinenentwicklung, eine solche Mutation praktisch ausschließen zu können. Ein logistischer Nachteil der Lebendimpfstoffe ist, dass sie nur beschränkt haltbar sind und deshalb in der Zeit zwischen Herstellung und Impfung gekühlt werden müssen.

Beispiele für Lebendimpfungen sind die Impfungen gegen Influenza, Pocken, Polio (orale Polio-Vakzine), Mumps, Masern und Röteln, Varizella-Zoster-Virus, Gelbfieber oder TBC [Spiess et al., 2012].

Simultan- und Kombinations-Vakzine als Applikationsarten

Von Simultanimpfstoffen spricht man, wenn bei einer Exposition eine passive sowie eine aktive Immunisierung erreicht werden soll (z. B. bei unfallbedingten Verletzungen gegen Tetanus).

Von einem Kombinationsimpfstoff spricht man, wenn mehrere Vakzine gegen verschiedene Infektionen bei einer Injektion eingesetzt werden, wie z. B. die klassischen Säuglingsimpfungen als Sechsfachimpfstoff (z. B. gegen Tetanus, Diphtherie, Pertussis, Poliomyelitis, Haemophilus influenzae b, Hepatitis B) [Spiess et al., 2012].

1.2 Toxizitäten von Vakzinen

Impfstoffe sind nicht vollständig frei von Nebenwirkungen, auch wenn laufend Fortschritte bei der Entwicklung, Herstellung und Kontrolle zu einer zunehmenden Sicherheit und Verträglichkeit von Impfstoffen beitragen. Objektiv bringen Impfungen Risiken in Form von kurzfristigen und unbedeutenden Reaktionen des Organismus, aber in sehr seltenen Fällen auch langfristige schwere Erkrankungen mit sich. Ein Risiko ist grundsätzlich definiert als das Produkt von Häufigkeit und Schadensausmaß, in diesem Fall der Toxizität von Vakzinen.

Die Häufigkeit einer toxischen Reaktion hängt nicht nur von der Art der Vakzine, den spezifischen Vakzinebestandteilen und den Wechselwirkungen der Vakzine mit dem individuellen Organismus ab, sondern kann auch von der Art der Injektion abhängen [Weißer et al., 2009].

Inhaltsstoffe von Vakzinen

Abgesehen von Impfantigenen enthalten Impfstoffe Inaktivierungs- und Konservierungsmittel, Stabilisatoren, Adjuvantien oder Restsubstanzen aus dem Herstellungsprozess. Diese können zu Reaktionen nach der Impfung führen, ein paar Beispiele seien hier genannt:

- Formaldehyd, das allerdings mit einer Konzentration von unter 0,02 % wie es in den handelsüblichen Vakzinen verwendet, kaum noch für eine Sensibilisierung ausreicht;
- Polyglykole, die als Stabilisatoren verwendet werden und zuweilen pseudoallergische Reaktionen hervorrufen können;
- Humanalbumin, das als Stabilisator bei einzelnen Tollwut-, FSME- und Röteln-Vakzinen eingesetzt wird (bisher keine allergischen Reaktionen beobachtet);
- Aluminiumhaltige Adjuvantien zur Wirkungsverstärkung bei Totimpfstoffen, die lokale, an der Injektionsstelle auftretende oder generalisierte Dermatitis verursachen können [Cox et al., 1988];
- das als Konservierungsmittel in DTP-Vakzinen eingesetzte 2-Phenoxyethanol kann Kontaktallergien verursachen [Heidary & Cohen, 2005].

Das Konservierungsmittel Äthylquecksilber (Thiomersal) stand insbesondere in den 1990er Jahren in der Kritik und Diskussion Überempfindlichkeitsreaktionen auszulösen [Seal et al., 1991]. Äthylquecksilber verfügt über gute bakteriostatische und fungistatische Eigenschaften, geringe akute und chronische Toxizität sowie gute Hitzebeständigkeit und Kompatibilität mit den Vakzinen [Weißer et al., 2004].

Diese Überempfindlichkeitsreaktionen erschienen aber ausschließlich als Typ-IV-Reaktionen (in Form von Kontaktdermatitis) [Wiedermann & Maurer 2005]. In mehreren epidemiologischen Studien konnten aber keine Nebenwirkungen durch die heute in den Vakzinen verwendeten Thiomersaldosen nachgewiesen werden [Weißer et al., 2004]. Da aber der Zusammenhang zwischen Thiomersal und möglichen Nebenwirkungen nicht grundsätzlich ausgeschlossen werden kann und einige Autoren einen Zusammenhang meinen belegen zu können [Geier & Geier, 2005], wird für Frühgeborene als Vorsichtsmaßnahme die Verwendung von Thiomersal-freien Vakzinen empfohlen [Clements, 2004].

Allergene Disposition des Geimpften

Die allergene Disposition des Geimpften kann einen Einfluss auf auftretende Nebenwirkungen haben, so z. B. bei einer Gelbfieber-Vakzine bei einer Person mit Allergie gegen Hühnereiweiß [Cerecedo Carballo et al., 2007]. Wenn dennoch bei Personen mit schwerer Hühnereiweißallergie geimpft werden muss, werden besondere Schutzmaßnahmen und anschließende Beobachtung empfohlen.

Außerdem wurden bei Antibiotikabeimengungen wie z. B. von Neomycin, Streptomycin, Polymycin u. a. schwere allergische Reaktionen beobachtet, insbesondere Typ-1-Allergien [Proebstle et al., 1995; Romano et al., 2002]. Deshalb kann bei gegebenem Bedarf auf einen Impfstoff ohne Antibiotika zurückgegriffen werden, insbesondere ohne Penicillin oder Cephalosporin-Antibiotika [Weißer et al., 2009].

Unbemerkte Produktionsfehler bei der Herstellung von Vakzinen

Im Jahre 1955 wurde in den USA durch einen Produktionsfehler der für die Polioimpfung verwendete Erreger teilweise nur unzureichend durch Formalin inaktiviert; in dessen Folge kam es zu insgesamt 260 Poliomyelitiden [Nathanson & Langmuth, 1963]. Derartige Produktionsfehler sind heute praktisch ausgeschlossen.

Erkrankung durch Rückmutation

In seltenen Fällen können Lebendimpfstoffe durch Rückmutation zur Erkrankung führen. Der Lebendimpfstoff gegen Polio nach Sabin hat hier ein Risiko: Typ 3 der drei Virustypen ist am wenigsten abgesichert (10 von 7429 Nucleotiden verändert im Vergleich zum Wildtyp). In Studien konnten Lähmungen durch Polio (VAPP: vaccine-

associated paralytic polio) mit einem Risiko von 1 zu 1 - 4 Millionen nachgewiesen werden [Kohler et al., 2002]. In einigen Ländern, z. B. in Deutschland und Österreich, wurde wegen dieses Risikos wieder vom Lebendimpfstoff auf den inaktivierten Impfstoff übergegangen. In Ländern geringer Polio-Inzidenz ist zu empfehlen, das VAPP-Risiko durch Anwendung des inaktivierten Impfstoffes zu vermeiden. In Ländern höherer Polio-Inzidenz verhindert die große Kohorte an Impfungen, die durch die vereinfachte Logistik der Schluckimpfung erreicht werden können, wesentlich mehr echte Poliofälle als VAPP-Fälle verursacht werden [Kohler et al., 2002].

Statistische Fehlinterpretationen

Bei der Bewertung von Nebenwirkungen gibt es das Problem der statistischen Fehlinterpretation durch (unerkannte) Selektion der analysierten Probanden, insbesondere bei epidemiologischen Studien. Dies wurde z. B. bei einer Studie zur Toxizität der Masern-Mumps-Röteln Vakzine vermutet. Es wurde eine leicht zunehmende Inzidenz der fiebrigen Gastroenteritis (Fieber $> 38,5^\circ$ mit Diarrhoe und Erbrechen) nach der Vakzination festgestellt. In derselben Studie wurde jedoch eine Abnahme von Otitis media während der Virämiephase im Vergleich zu den Monaten zuvor beobachtet. Dieses – im ersten Anblick paradoxe Ergebnis - lässt sich damit erklären, dass Kinder, die wegen einer Otitis media in Behandlung sind, meist anschließend nach ihrer Heilung geimpft werden, wodurch die Inzidenz statistisch abfällt. Ebenso wird die Gastroenteritis-Zunahme auf den Selektionseffekt zurückgeführt [Bolens et al., 2008]. Die sicherste und beste Art der Erfassung von Nebenwirkungen ist die in randomisierten und kontrollierten Studien mit einer systematischen und möglichst vollständigen Erfassung und Beobachtung aller unerwünschter Reaktionen.

1.2.1 Akute Toxizität

Bei der akuten Toxizität unterscheidet man zwischen lokalen (an der Injektionsstelle beobachteten) Reaktionen und systemischen Reaktionen. Diese sind in der Regel leicht und von kurzer Dauer und werden als „Impfreaktionen“ bezeichnet.

Da im Fokus dieser Arbeit die Nebenwirkungen von HIV-Vakzinen stehen, sei kurz auf die verschiedenen Formen der Impfreaktionen und ihre möglichen Ursachen im Allgemeinen eingegangen.

1.2.1.1 Lokale Reaktionen

In den ersten Stunden bis wenige Tage nach einer Vakzination können an der Injektionsstelle Lokalreaktionen wie Schmerzen, Rötung, Erwärmung und Schwellung auftreten. Sie signalisieren als typische Entzündungszeichen eine Auseinandersetzung des Organismus mit dem Antigen. Häufig verlaufen Lokalreaktionen mild und sind von kurzer Dauer. Nur selten ist eine symptomatische Therapie, wie zum Beispiel Kühlung, notwendig. Eine starke Lokalreaktion, z. B. bei der Tetanusimpfung ist mit einem guten Impftiter assoziiert. Das Ausbleiben einer Lokalreaktion nach einer Impfung bedeutet aber nicht, dass keine ausreichende Immunisierung erfolgt sei [Spiess et al., 2012].

Petousis-Harris schlussfolgert in ihrer Analyse über Studien zu Injektionstechniken und Reaktogenität bei Impfungen, dass bei intramuskulärer Applikation die geringste Reaktogenität bei Verwendung längerer Nadeln sowie bei einem Injektionswinkel von 90° zu erwarten ist [Petousis-Harris, 2008].

Während es sich bei Lokalreaktionen meist um Schmerzen, Rötung, Erwärmung oder Schwellung handelt, treten in seltenen Fällen auch Verhärtungen (Knötchen, Zysten oder Granulome), Abszesse, ausgeprägte Schwellungen oder allergische Reaktionen an der Impfstelle auf [Weißer et al., 2009]. Als Folge von subkutaner an Stelle von intramuskulärer Applikation von Adsorbat-Impfstoffen (z. B. Aluminiumhydroxid) können Granulome entstehen. Diese können sich im Laufe der Zeit zu sterilen Abszessen oder Zysten entwickeln, die eventuell chirurgisch entfernt werden müssen.

Abszesse an der Injektionsstelle können auch eine infektiöse Ursache infolge unsterilen Impfens haben. Eine primär bakterielle Verunreinigung der Vakzine selbst ist bei der heutigen Herstellung von Vakzinen äußerst unwahrscheinlich. Schließlich beobachtet man gelegentlich ausgesprochene Schwellungen an der Injektionsstelle, deren Ursache aber unbekannt ist. Diese starken Schwellungen dauern ein bis vier Tage an [Weißer et al., 2009].

Allergische Reaktionen an der Impfstelle treten gelegentlich dann auf, wenn bestehende Kontaktallergien des Probanden durch Bestandteile des Impfstoffes sensibilisiert werden. Bei intramuskulärer Applikation treten sie aber selten auf [Weißer et al., 2009].

1.2.1.2 Systemische Reaktionen

Systemische Reaktionen äußern sich in allergischen Reaktionen, Hautreaktionen, Abgeschlagenheit, Unwohlsein, Übelkeit, Unruhe, Schwindel, Kopf-, Muskel- und Gliederschmerzen oder Schwellung der regionären Lymphknoten. Bei Kleinkindern

werden typischerweise auch Unruhe mit schrillum Schreien, Fieber oder Konvulsionen mit Impfungen in Verbindung gebracht.

Die Ursachen der verschiedenen systemischen Reaktionen (wie z. B. allergische Dispositionen des Impflings) sind nur teilweise bekannt:

- Die allergischen Reaktionen werden in akute und subakute sowie verzögerte Reaktionen unterschieden. Die akuten allergischen Reaktionen bzw. die sogenannte „anaphylaktische“ Reaktion (Typ-I-Allergie) können bei Existenz spezifischer IgE-Antikörper gegen einen der Impfstoffbestandteile durch eine vorangegangene Sensibilisierung bei der geimpften Person auftreten (vgl. oben die möglichen Ursachen wie z. B. Hühnereiweiß, Antibiotika etc.). Die Reaktion der zellständigen IgE-Antikörper führt zur Ausschüttung von Botenstoffen (z. B. Histamin), die innerhalb von Sekunden bis zu einer Stunde nach der Injektion zu Symptomen wie Blutdruckabfall, Übelkeit, Darmspasmen, Lidschwellungen, Bronchospasmus bis zum anaphylaktischen Schock führen können, wobei letzteres aber nur mit einer Eintrittswahrscheinlichkeit von 1 bis 10 Fällen auf 1 Million Vakzinationen auftritt [Georgitis & Fasano, 2001].

Allerdings gibt es auch vergleichbare (anaphylaktoide) Reaktionen, die nicht durch eine echte Allergie, d.h. vorhandene IgE-Antikörper oder einen anderen Allergietyp, verursacht werden, sondern durch direkte Ausschüttung entsprechender Botenstoffe, deren Ursachen nicht genauer bekannt sind [Weißer et al., 2009].

Subakute allergische Reaktionen werden durch nachfolgende Abwehrreaktionen des Organismus ausgelöst, wie sie auch nach Infektionen auftreten, d. h. ihre Symptome sind allergische Reaktionen der Haut wie z. B. Rötung, Exanthem oder Urtikaria. Diese Reaktionen sind sehr selten und treten einige Stunden bis zu zwei Tage nach der Vakzination auf.

Schließlich beobachtet man verzögerte allergische Reaktionen, die infolge von Antigen-Antikörper-Komplexbildung nach einigen Tagen bis Wochen nach der Vakzination auftreten. Diese Komplexe können sich an Gewebe oder Zellen ablagern und zu entzündlichen Reaktionen führen. Beispiele sind Arthritiden, Vaskulitiden oder Nephriten. Das Auftreten von Arthritiden ist bekannt bei Röteln- und Hepatitis B-Vakzinationen - bei Kindern sehr selten, bei erwachsenen Frauen dagegen häufiger [Weißer et al., 2009].

- Hautreaktionen infolge von Vakzinen können u. a. vorübergehende Exantheme, oder Symptome der Krankheit sein, gegen die eine Lebendvakzine immunisieren soll, wie z. B. ein masernartiges Exanthem nach einer Masernvakzination. Die

Urtikaria nach einer Vakzination ist gekennzeichnet durch juckende Quaddeln an Körperteilen oder am ganzen Körper. Sie dauert wenige Stunden bis maximal wenige Wochen. Schließlich kommt es bei der Purpura durch entzündliche Gefäßreaktionen (Vaskulitis) zu ausschlagartigen Haut- und Schleimhautblutungen. Diese können in Form von Petechien oder Ekchymosen auftreten.

- Vakzinen können Symptome einer „Impfkrankheit“ verursachen, z. B. leichte Schwellung der Ohrspeicheldrüse (Mumps) oder ein Masern- beziehungsweise Windpocken-ähnlicher Hautausschlag oder kurzzeitige Gelenkschmerzen (Röteln). Lokal- und Allgemeinreaktionen sind meist von relativ kurzer Dauer (Stunden oder wenige Tage) [Weißer et al., 2009].
- Hypotone hyporesponsive Episoden (HHE) sind kollapsähnliche Reaktionen bei Säuglingen und Kleinkindern mit Symptomen wie erniedrigter Muskelspannung, verminderter Ansprechbarkeit, reduziertem Muskeltonus, Hypotonie und Zyanose [Bonhoeffer, 2004]. Diese Reaktion tritt wenige Minuten bis zu zwei Tage nach der Vakzination auf und dauert meist zwischen sechs und 30 Minuten. Am häufigsten wird HHE nach Pertussis-Impfungen beobachtet (die Häufigkeiten variieren zwischen 1:1.400 und 1:100.000). Die Ursachen sind bislang nicht geklärt [Buetcher et al., 2007].
- Fieber bis 39,5°C und Fieberkrämpfe (letztere nur bei Säuglingen und Kleinkindern) werden häufig nach Vakzinationen beobachtet. Bei Totimpfstoffen sind diese Reaktionen meist nach ein bis zwei Tagen zu erwarten. Diese Reaktionszeit liegt bei Lebendimpfstoffen bei etwa sieben bis 14 Tagen, weil erst die Vermehrung der Impfviren erfolgt sein muss. Die Dauer des Fiebers beträgt im Durchschnitt ein bis zwei Tage.

Höheres Fieber (höher als 39,5°C) beobachtet man bei der Grundimmunisierung von Säuglingen und Kleinkindern bei Applikation von Kombinationsvakzinen. Hier wird eine frühzeitige antipyretische Therapie empfohlen. Außerdem können Säuglinge und Kleinkinder infolge der Fieberreaktionen von Fieberkrämpfen betroffen sein. Diese treten nach Vestergaard et al. [2004] nach Mumps-Masern-Röteln (MMR)-Vakzinationen in etwa 1,56:1000 Fälle auf. Bleibende Schäden durch Fieberkrämpfe sind nicht belegt. In dieser dänischen Studie war bei bereits vorangegangenem Fieberkrampf in der Anamnese die Inzidenz sogar bei 19,47 auf 1000 MMR-Vakzinationen beschrieben worden. In einer weiteren Studie konnte beobachtet werden, dass die Wahrscheinlichkeit, dass ein geimpftes Kind einen Fieberkrampf erleidet auch abhängig, von der Impfstoffkombination ist: so

wurden bei der MMR/Varizellen-Kombinationsimpfung doppelt so viele Fieberkrämpfe dokumentiert (4,2:10.000), wie bei der MMR und separater zusätzlicher Varizellen-Vakzine [Klein et al., 2010].

- Konvulsionen werden gelegentlich nach Vakzinationen beobachtet. Da aber die meisten Impfungen im Kindesalter zwischen Null und sechs Jahren erfolgen, also in dem Lebensalter, indem auch die höchste Häufigkeit von spontanen Konvulsionen festzustellen ist (Von den spontanen Konvulsionen treten 20% im ersten Lebensjahr und 50% im zweiten Lebensjahr auf), ist die Ursache einer Konvulsion schlecht zuzuordnen. Man vermutet in den meisten Fällen eine genetische Disposition der Kinder zu Konvulsionen bei Fieber. [Berkovic et al., 2006].
- Unruhe und schrilles, langanhaltendes Schreien, das zwischen 30 Minuten und mehreren Stunden anhält, werden zwischen zwei und sechs Stunden nach der Vakzination bei Säuglingen und Kleinkindern beobachtet. Die Ursachen sind ungeklärt [Weisser & Keller-Stanislawski, 2006].

Zusammenfassend kann man sagen, dass trotz der Möglichkeit, eine der genannten Impfreaktionen zu entwickeln, „über 90% aller Impfungen [...] ohne jegliche Symptome und Beschwerden toleriert“ werden [Keller-Stanislawski et al., 2004]. Lokale und allgemeine akute Reaktionen sind insbesondere bei allergisch sensiblen Personen sowie bei Säuglingen und Kleinkindern zu erwarten.

1.2.2 Langzeittoxizität

Ob und welche Toxizitäten Vakzinen auf längere Sicht verursachen, ist oft schwierig nachzuweisen. Viele verschiedene Symptome und Erkrankungen als Folgewirkungen von Vakzinationen wurden in den letzten Jahrzehnten diskutiert. Die meisten Vermutungen und Hypothesen zu Langzeittoxizitäten einer Vakzine, die häufig aufgrund einer Einzelbeobachtung geäußert wurden, konnten in den meisten Fällen in großen epidemiologischen Erhebungen nicht bestätigt werden. Denn andere Einflüsse wie z. B. andere Infektionen, psychische Belastungen und Fehlernährung führen oft zu Symptomen, die als Nebenwirkungen einer Impfung interpretiert werden können.

Doch gibt es Fälle von Vakzineanwendungen mit Langzeittoxizitäten, die erst spät erkannt wurden oder bei denen die Nebenwirkungen erst nach der klinischen Phase III entdeckt werden konnten und epidemiologischer Studien bedurften. Im Folgenden seien hierzu einige Beispiele genannt.

- Die 1998 in den USA eingeführte Rhesus-Rotavirus-Vakzine beruhte auf dem Prinzip, dass eines der elf Segmente des Rhesus-Rotavirus-Genoms durch ein humanpathogenes ersetzt war. Die Vakzine zeigte während der Entwicklungsstudien eine sehr gute Verträglichkeit. Nach Einführung wurde jedoch in weiteren Studien deutlich, dass es vermehrt zu Invaginationen bei Säuglingen kam (Inzidenz 1:10.000). Die Vakzine musste deshalb nur neun Monate später vom Markt genommen werden [Warfield et al., 2006; Huppertz et al., 2006].
- Bei Varizella-Zoster-Virus-(VZV)-Vakzinen wurde bei bis zu 50% der Erwachsenen ein Zusammenhang mit einer vorübergehenden Arthritis beobachtet [Keller-Stanislawski, 2004]. Bei jüngeren Mädchen zwischen 13-16 Jahren war dies weniger oft der Fall, und bei noch jüngeren sogar fast nie [Plotkin, 2005; Reef et al., 2006].
- Eine weitere beobachtete Nebenwirkung bei der MMR-Vakzine kann laut manchen Studien eine Immunthrombopenie sein, die jedoch sehr selten auftritt [Strebel et al., 2004; Miller et al., 2001].
- In der Vergangenheit wurde auch ein möglicher Zusammenhang zwischen Vakzinen und der Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ I bei Kindern diskutiert. Größere Studien und Analysen kommen allerdings zu dem Ergebnis, dass ein solcher Zusammenhang nicht festgestellt werden konnte [EURODIAB Substudy 2000; Hviid et al., 2004; DeStefano et al., 2001]).
- Auch wurde die Vermutung geäußert, dass Vakzinen die Ursache für Autoimmunerkrankungen wie Multiple Sklerose (MS) sein könnten. Bis auf eine statistische Analyse, die eine erhöhte Odds Ratio (OR) von 3,1 ermittelte [Hernan et al., 2004], kommen viele andere Analysen zu dem Ergebnis, dass keine Kausalität gefunden werden kann [Weißer et al., 2009]. Eine Meta-Analyse [Hernan et al., 2006] kommt für Tetanus-Vakzinen sogar zu dem Ergebnis, dass der mittlere OR-Wert mit knapp 0,7 deutlich unter 1,0 liegt, d. h. von der Hypothese einer Art „Schutzwirkung“ für MS ausgegangen werden könnte [DeStefano et al., 2003]. In beiden Fällen einer errechneten Kausalität mag es eine Reihe von nicht beachteten Einflussfaktoren (wie z. B. eine Nichtvergleichbarkeit der Kontrollgruppe mit der Gruppe der Geimpften) gegeben haben. Weißer et al. [2009] kommen deshalb auch zu dem Schluss, dass es nach dem derzeitigen Kenntnisstand keinen Hinweis gibt, dass eine Kausalität zwischen MS und Impfungen vorliegt.

An diesen Beispielen zeigt sich das grundsätzliche Problem einer eindeutigen statistischen Zuweisung eines Zusammenhangs zwischen einer Vakzine und der

jeweils vermuteten Langzeittoxizität. Denn eine statistisch repräsentative Aussage erfordert nicht nur eine hinreichende Anzahl von Beobachtungen, sondern eine genaue Kenntnis der Selektionsregeln, welche der Gruppe der Geimpften möglicherweise eine spezielle Struktur bezüglich genetische Prädispositionen, soziale Milieus oder anderer Einflussfaktoren gegeben haben, die in den Kontrollgruppen nicht abgebildet sind. Die bei einer Langzeitbeobachtung der Nebenwirkungen zu beachtenden Einflussfaktoren erscheinen meist so zahlreich, dass es häufig sehr schwer ist und einen erheblichen Datenaufwand erfordert, um einen statistisch signifikanten Zusammenhang erkennen zu können.

1.2.3 Impfkomplicationen

Mögliche Ursachen für Impfkomplicationen wie z. B. Enzephalitis bzw. Enzephalomyelitis, Meningitis und idiopathische Polyradikuloneuritis werden im Folgenden kurz beschrieben. Beispiele hierfür sind:

- Die Ursachen von Meningitis sowie von Enzephalitis sind meist auf Komplikationen infektiöser Erkrankungen und in den seltensten Fällen als Nebenwirkung einer Vakzination zurückzuführen. Die Eintrittswahrscheinlichkeit dieser Erkrankungen als echte Impfkomplication ist heute wesentlich geringer (kleiner 1 : 1.000.000.), als bei entsprechenden Infektion (1 : 1.000 bis 1 : 2.000) [Weißer et al., 2009].

Die Häufigkeit von Meningitis nach einer Mumpsinfektion liegt sogar bei 1:10, während sie mit der heutigen Vakzine (Stamm Jeryl Lynn) noch nicht ermittelt wurde, sicherlich aber deutlich geringer ist als mit den alten Impfstoffen (Stamm Urabe), bei denen eine aseptische Meningitis mit Häufigkeiten um 1 : 10.000 auftrat.

Eine Studie der British Paediatric Surveillance Unit untersuchte, ob Kinder nach der Masern-Vakzination ein erhöhtes Risiko aufweisen, an einer Meningitis zu erkranken. Es wurde eine Korrelation mit dem Impfstamm Am-9 mit einem Risiko von 1 : 10.000 und mit dem neuen Impfstamm Jeryl Lynn von 1 : 1.000.000 nachgewiesen. Seitdem wird nur noch letzterer für Masern-Impfungen verwendet [Miller et al., 1993; Nieminen et al., 1993].

- Die idiopathische Polyradikuloneuritis, auch Guillain-Barré-Syndrom (GBS) genannt, stellt eine akute Erkrankung des peripheren Nervensystems und der Nervenwurzeln mit aufsteigender Lähmung dar. Die genauen krankheitsauslösenden Zusammenhänge des GBS sind derzeit noch nicht bekannt. Als auslösende Faktoren werden auch Vakzinen diskutiert, wie z. B. die

Impfungen gegen Tetanus, Tollwut und Hepatitis B sowie gegen Influenza. Allerdings sind die Ergebnisse epidemiologischer Studien widersprüchlich [Haber et al., 2009]. Man rechnet allenfalls mit einem GBS-Fall je eine Million Grippe-Vakzinationen bei Erwachsenen [Weißer et al., 2009].

1.2.4 Maßnahmen zur Verbesserung der Impfsicherheit

Um die Impfsicherheit zu gewährleisten, müssen neue Vakzinen nach der labortechnischen Entwicklung eine genau vorgeschriebene klinische Prüfung durchlaufen. Erst dann können die Vakzinen zur Anwendung am Patienten zugelassen werden. Die Zulassung einer neuen Vakzine erteilt in Deutschland das Paul-Ehrlich-Institut, nachdem die neue Vakzine erfolgreich drei von vier Prüfphasen durchlaufen hat [Schneeweiß et al., 2008]. Diese sind:

- *Phase I:* erstes Abschätzen von Verträglichkeit und Immunogenität anhand einer kleinen Probandenzahl von weniger als 100 Personen;
- *Phase II:* Feststellung einer adequaten Dosis und Beobachtung der Verträglichkeit anhand einer Probandenzahl von mehreren 100 Personen;
- *Phase III:* Überprüfung des industriellen Herstellungsverfahrens der Vakzine, Prüfung der Verträglichkeit und Nachweis der Wirksamkeit an mehreren 1000 Probanden in randomisierten und kontrollierten Versuchsserien, wenn keine anerkannten serologischen Surrogat-Parameter für einen Immunschutz vorliegen;
- *Phase IV:* Nach der Zulassung erfolgen zusätzliche Untersuchungen, aber auch epidemiologische Studien und Anwendungsbeobachtung oder Sicherheitsstudien.

Trotz intensiver Forschung ist zum Zeitpunkt der Zulassung einer Vakzine nach erfolgreich durchlaufener Phase III die klinische Erfahrung jedoch begrenzt. Zumeist liegen Daten über maximal 10.000 Probanden vor. In der Regel können damit Toxizitäten mit einer Eintrittswahrscheinlichkeit von maximal 1 : 10.000 bis 1 : 20.000 detektiert werden. Seltener (kurzfristig zu beobachtende) Toxizitäten sowie auch erst sehr langfristig auftretende Nebenwirkungen werden daher häufig erst nach der Zulassung der Vakzine in Phase IV erkannt.

Höhere Probandenzahlen könnten zwar die Einschätzung von Risiken möglicher Nebenwirkungen verbessern, würden allerdings auch die Entwicklungskosten weiter erhöhen und den Einsatzzeitpunkt einer neuen Vakzine zeitlich hinausschieben. Vor diesem Dilemma steht die heutige Risikoforschung von Vakzinen, dem in vielen

Industrieländern durch ein sogenanntes „passives Surveillance“-System zum frühzeitigen Erkennen von Risikosignalen nach der Zulassung begegnet wird. Bei diesem Spontanerfassungssystem werden Verdachtsmeldungen in Deutschland an das Paul-Ehrlich-Institut gemeldet, dort registriert, bewertet und - falls erforderlich - Maßnahmen zur Risikoabwehr und Risikovorsorge eingeleitet [Weißer et al., 2009].

Aus diesen Meldungen können jedoch keine Nebenwirkungshäufigkeiten oder Kausalitäten ermittelt werden (z. B. das Kawasaki-Syndrom als vermutete Nebenwirkung der Impfung zur Prävention einer Rotavirengastroenteritis) [Oberle et al., 2010]. Aber man erhält Hinweise zu möglichen Toxizitäten, denen nachgegangen werden kann. Um Kausalität und Häufigkeiten derartiger spontan gemeldeter Toxizitäten zu ermitteln, sind dann weitere klinische Studien oder epidemiologische Untersuchungen erforderlich.

Die Zulassung einer neuen Vakzine nach erfolgreich durchlaufener Phase III ist noch nicht ausreichend, dass sie in Deutschland auf den Markt gebracht werden darf. Hinzu kommen Chargenprüfung und Chargenfreigabe durch das Paul-Ehrlich-Institut [Schneeweiß et al., 2008]. Analog gibt es für die EU eine europaweite Zulassung durch die EMA (European Medicines Agency) in London und die Chargenprüfung und -freigabe durch das EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care).

Jeder Arzt ist bei Applikation einer Vakzine und einer dabei beobachteten über das übliche Ausmaß hinausgehenden Impfreaktion gesetzlich verpflichtet (§6 Abs. 1, Nr. 3 IfSG Infektionsschutzgesetz), diese dem zuständigen Gesundheitsamt zu melden. Dieses leitet die Meldung anonymisiert an das Paul-Ehrlich-Institut weiter, wo die eingegangenen Verdachtsfälle bewertet werden. Auf diese Weise wird es möglich, gravierende und seltener als 1 : 10.000 auftretende Nebenwirkungen von Vakzinen zu identifizieren, entsprechende epidemiologische Studien in der Forschung anzuregen und gegebenenfalls eine Vakzine bei unverträglich schweren Toxizitäten vom Markt zu nehmen.

Eine entsprechende Empfehlung kann auch die Applikation einer Vakzine selbst betreffen: So kommt es beispielsweise bei der Gelbfieberimpfung, welche für Risikogebiete empfohlen ist, bei etwa 10% der Geimpften zu Arthralgien und Cephalgie. Des Weiteren können selten nekrotisierende Reaktionen auftreten sowie sehr selten Enzephalitiden. Um derartige Impfkomplicationen zum Teil durch unzureichende Erfahrung zu vermeiden, wird die Gelbfieberimpfung nur durch speziell autorisierte Impffärzte durchgeführt [Schneeweiß et al., 2008].

Durch diese institutionellen und organisatorischen Vorkehrungen einer andauernden Evaluation aller Vakzinationen in Deutschland (und anderen OECD-Ländern) und den internationalen Austausch der Forschungsergebnisse wird gewährleistet, dass die Toxizitäten von Vakzinen jeweils nach dem neuesten Stand der Erkenntnisse und Praxis der Herstellung, des Transports und der Applikation von Vakzinen eingeschätzt werden können.

1.3 Das Humane Immunodefizienz Virus

Das HIV (human immunodeficiency virus), ein RNA-Virus, gehört zur Gattung der Lentiviren (lat. lentus = deutsch langsam, deutet auf den langsamen Krankheitsverlauf hin) innerhalb der Familie der Retroviren. Es wurde in den 1980er Jahren in seinen zwei verschiedenen Arten HIV-1 und HIV-2 erstmals beschrieben [Barre-Sinoussi et al., 1983; Gallo et al., 1983; Clavel et al., 1986]. Beide Viren wurden als Auslöser des Immundefizienzsyndroms AIDS (Acquired immunodeficiency syndrome) identifiziert. Sie sehen sich zwar elektronenmikroskopisch ähnlich, aber die Molekulargewichte ihrer Proteine und die Anordnung der Regulatorgene unterscheiden sich erheblich. Zudem hat die RNA von HIV-2 eine nur 40- bis 60-prozentige Homologie zur HIV-1-RNA.

Das nahezu ausschließlich in einigen Regionen Westafrikas vorkommende HIV-2 ist weniger pathogen als HIV-1 [Sharp & Hahn, 2011] und Infektionen sind deutlich seltener als mit HIV-1. Deshalb wird auch in den folgenden Abschnitten nur HIV-1 beschrieben.

1.3.1 Das Humane Immunodefizienz Virus

Die Außenhülle des Virus besteht aus einer der Cytoplasma ähnlich aufgebaute Hüllmembran. Die Form des HIV ist ein Ikosaeder (20 Flächen) mit einem Durchmesser von 80-120 nm. Der HIV-1-Viruspartikel ist von einer Lipoprotein-Membran umgeben - in der insgesamt 72 etwa 10 nm große env-Glykoprotein-Komplexe eingebettet sind, die aus einem externen Anteil (gp120) und einem Transmembran-Protein (gp41) bestehen (siehe Abbildung 1.2) [Gelderblom et al., 1993]. Aufgrund einer nicht-kovalenten Bindung von gp120 an das gp41 und das in der Hüllmembran liegende gp160, kann gp120 spontan freigesetzt werden.

Neben diesen Glykoprotein-Komplexen sind verschiedene Proteine der Wirtszelle (z. B. HLA Klasse I- und II-Moleküle) in die virale Hüllmembran eingebettet. Diese werden beim Abscheiden des Virus („budding“) aus der virusproduzierenden Zelle in dessen Membran inkorporiert. Außerdem gibt es Adhäsionsproteine (z. B. ICAM-1), die das Anheften an andere Zielzellen ermöglichen. Die Innenseite der Hüllmembran ist mit Matrixproteinen, wie das p17-Matrixantigen verbunden, die dem Virus die ikosaedrische Struktur verleihen.

Das Genom, wird von einem zylindrischen Kapsid umgeben, dessen Proteine wie das p24-Kapsid-Antigen („core antigen“) gruppenspezifische Antigen (Gag-Proteine) sind. Das Kapsid enthält zwei identische, nicht komplementäre RNA-Stränge sowie drei

Enzyme: die reverse Transkriptase (RT), die Integrase (p32) und die Protease (p12), die für die Vermehrung des Virus benötigt werden (siehe Abbildung 1.3). Die RNA selbst besteht aus einem Protein-Nukleinsäurekomplex, der an das Nukleoprotein p7 und die reverse Transkriptase (p66) gebunden ist. Das HIV ist ein Retrovirus, da es die RT nutzt um RNA in DNA umzuschreiben, bevor es diese wiederum in das humane Genom integrieren kann.

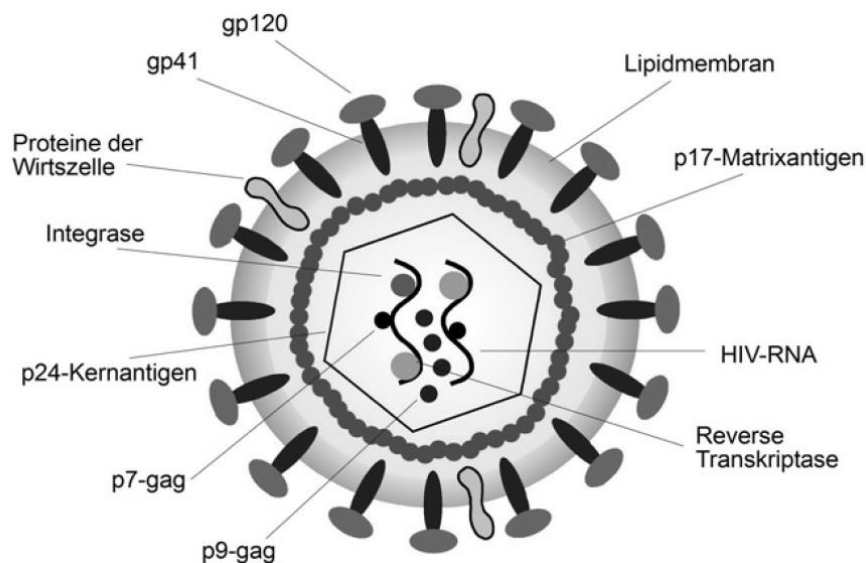


Abbildung 1.2. Das HIV und seine Bestandteile [Gelderblom et al., 1993].

Aufbau des viralen Genoms

Viele der replikationskompetenten Retroviren haben in ihrem Aufbau die drei Gene gag (group-antigen), pol (polymerase) und env (envelope) [Vaishnav & Wong-Staal, 1991]. Das Genom hat somit die typische Folge von 5'LTR-gag-pol-env-LTR 3', wobei die LTR („long terminal repeat“)-Regionen diejenigen Teile des viralen Genoms sind, die bei der Integration beidseitig mit der zellulären DNA verbunden werden (siehe Abbildung 1.3). Dabei kodieren die Gene gag und env das Nukleokapsid und die Glykoproteine der Virushülle, während das pol-Gen die reverse Transkriptase und andere Enzyme kodiert.

Abweichend von diesem für replikationskompetente Retroviren typischen Aufbau enthält das HIV-1 Virus in seiner ca. 9 kB-RNA sechs weitere Gene. Diese sind:

- Tat- und rev-Gen: die kodierten Proteine sind regulatorische Proteine, die an bestimmte Stellen der viralen RNA binden. Das Tat-Protein ist für die Virusreplikation in sehr vielen Kultursystemen ein zentraler Baustein. Die Tat- und rev-Gene stimulieren die Transkription von HIV-DNA in RNA und deren Elongation,

fördern den Transport von HIV-RNA vom Zellkern ins Zytoplasma und sind wesentlich für die Translation.

- Zusätzlich gibt es akzessorische Gene wie z. B. nef, vif, vpr die für die Virusreplikation nicht unbedingt erforderlich sind. Allerdings wird das nef-Gen - wie tat und rev - als regulatorisches Protein früh während des Replikationszyklus produziert. Nef verursacht eine reduzierte Expression von CD4 und von HLA-Klasse-I-Antigenen an der Oberfläche infizierter Zellen [Collins et al., 1998]. Dieser Mechanismus führt zu einer geringeren Effizienz zytotoxischer T-Zellen und steigert somit die Pathogenität des HIV.

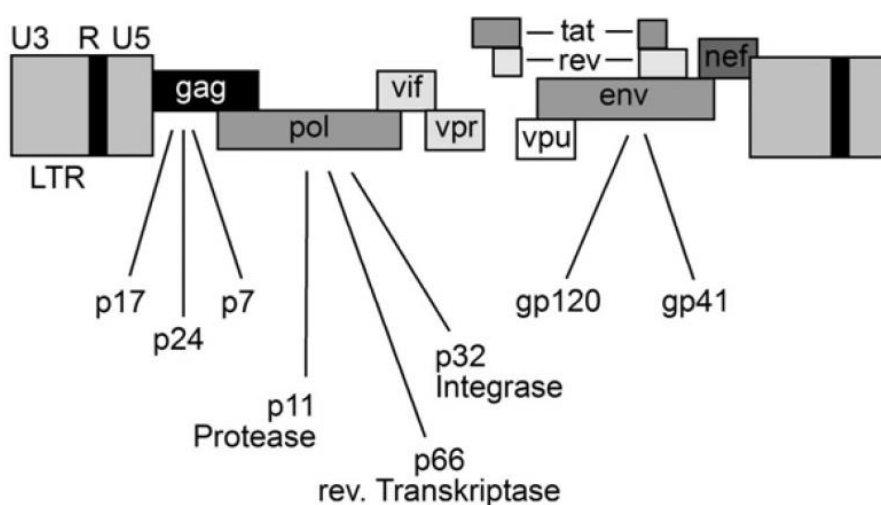


Abbildung 1.3. Genetischer Aufbau eines HIV [Rubbert-Roth & Behrens, 2010].

- Das Vpr-Protein stimuliert die HIV-LTR sowie eine Reihe von zellulären und viralen Promotern. Des Weiteren scheint es für die Virusreplikation in sich nicht-teilenden Zellen wie z. B. Makrophagen bedeutsam zu sein und auch für den Transport des viralen Präintegrations-Komplexes zum Kern eine Rolle zu spielen [Miller & Sarver, 1997]. Zudem kann das vpr-Gen Zellen in der G2-Phase des Zellzyklus arretieren.
- Das Vpu-Protein hat eine zentrale Funktion beim „budding“ es wird als ein viraler Fluchtmechanismus genutzt, um das HIV vollständig aus den Zellen freizusetzen. [Varthakavi et al., 2008; Neil et al., 2009, Kühl et al., 2010]. Zudem beeinflusst vpu die Bereitstellung von gp160 für die Neubildung von Virionen [Cullen, 1998].
- Das vif-Gen ist an der Replikation des HIV beteiligt. So können sich z. B. vif-defiziente HIV-1 Isolate nicht in primären CD4+ T-Zellen oder in T-Zell-Linien oder in Makrophagen replizieren. Die reverse Transkriptase ist nicht alleine in der Lage eine DNA herzustellen. Zudem fand man heraus, dass Fusionen von „permissiven“ und „nicht-permissiven“ Zellen zu „nicht-permissiven“ Zellen führen, d. h., die Replikation

von HIV hängt auch von inhibitorischen Faktoren ab [Sheehy et al., 2002]. Das „apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3G“ (APOBEC3G) kommt intrazellulär vor und deaminiert DNA-Einzelstränge. Solange Vif einen Komplex mit APOBEC3G bildet, ist dessen inhibitorische Aktivität blockiert [Mariani et al., 2003].

Anhand dieser Beispiele der Organisation des HIV wird die Komplexität des Aufbaus sowie der Prozesse dieses Virus und dessen Wechselwirkungen mit der Zellumgebung verdeutlicht.

Der Replikationszyklus von HIV-1

Das HIV infiziert CD4-positive Zielzellen, wie T-Helfer-Zellen, Monozyten, Makrophagen, dendritische Zellen und Mikrogliazellen des ZNS. CD4 ist ein 58 kDa schweres monomeres Glykoprotein und wurde 1984 als primärer Rezeptor von HIV-1, HIV-2 und SIV gefunden, der Voraussetzung für den Viruseintritt in die Zielzelle ist [Dalglish et al., 1984, Klatzmann et al., 1984].

Eine Bindung von gp120 des HIV an CD4 erfolgt an Residuen in seiner V2-Region, wodurch es zu einer Konformationsänderung im gp120 kommt sowie zu einer Interaktion der V3-Region von gp120 mit dem CD4. Die Bindung von gp120 an CD4 ist allerdings nur ein erster Schritt bei der Infektion CD4-positiver T-Zellen. Es konnte gezeigt werden, dass Chemokinrezeptoren als Corezeptoren für den Eintritt von HIV in die Zelle notwendig sind. Im Jahr 1996 entdeckten gleich mehrere Forschungsgruppen CCR5 als wirksamen Corezeptor monozytotroper (M-troper) HIV-Isolate [Deng et al., 1996; Doranz et al., 1996; Dragic et al., 1996], nachdem der Chemokinrezeptor CXCR4 (Fusin) zuvor als Corezeptor T-Zelltroper (T-troper) HIV-Isolate gefunden worden war [Feng et al., 1996]. Die Interaktion der V3-Schleife von gp120 mit dem jeweiligen Corezeptor ist dann der nächste Schritt der Kontaktaufnahme.

Durch eine Konformationsänderung tritt dann das zuvor in der Virushülle versteckte gp41 an die Zelloberfläche. Daraufhin kommt es zur Insertion des hydrophoben Teils von gp41 in die Membran der Zielzelle.

Nachdem diese Mechanismen der Bindung an die Zielzelle und des Replikationszyklus von HIV-1 entdeckt waren, wurde versucht, die verschiedenen Teilschritte mit speziell entwickelten antiviralen Therapeutika zu hemmen:

- Eine bereits früh entdeckte Therapiemöglichkeit stellen die Anti-CD4-Antikörper dar [Burkly et al., 1992]. Hierbei bindet ein monoklonaler Antikörper Hu5A8 an der extrazellulären Domain 2 des CD4-Rezeptors, was zwar nicht die Bindung des HIV, jedoch aber die Fusion verhindert. In weiteren Studien konnte mittels des

monoklonalen Antikörpers TNX355 eine Reduktion der HIV1-RNA-Kopien, sowie eine Erhöhung der CD4-positiven Zellen erreicht werden [Kuritzkes et al., 2004].

- Durch synthetisch hergestellte CCR5-Liganden wird versucht, die Wirksamkeit von CCR5 als Corezeptor durch Blockade des Mechanismus zu reduzieren. Dieser Hemmmechanismus ist vor allem im frühen Krankheitsverlauf erfolgsversprechend. Der erste CCR5-Antagonist „Maraviroc“ ist seit 2007 auf dem Markt und so konzipiert, dass er über eine Bindung in eine transmembrane Tasche des CCR5-Rezeptor-Molekül, dieses räumlich so verändert, dass eine Bindung des viralen Proteins an den Rezeptor nur schwer möglich ist [Fätkenheuer et al., 2005, Fätkenheuer et al., 2008].
- Ähnliche Therapieversuche wurden in den 1990er Jahren mit CXCR4-Liganden durchgeführt. Zu Beginn hatte man große Hoffnungen, diesen Wirkstoff in der HIV Therapie einzusetzen [Westby et al., 2006], jedoch zeigte sich bald eine schlechte enterale Resorption, sowie eine Kardiotoxizität des Wirkstoffes Plerixafor, sodass dieser Weg in der HIV-Therapie wieder verlassen wurde.
- Eine weitere Option ist, die Expression von Chemokinrezeptoren gentherapeutisch zu modulieren, wodurch die Intrakine intrazellulär verbleiben und dort den jeweils passenden Chemokinrezeptor auf seinem Weg an die Zelloberfläche behindern [Chen et al., 1997].

Bezüglich der Langzeittoxizität bleiben bei diesen Therapieansätzen zwar Fragen offen, aber die in den letzten 10 Jahren durch diese Therapien erzielten Erfolge sind deutlich und beeinflussen inzwischen auch die Gesamtentwicklung der Folgen von HIV.

Nach dem Durchtritt von HIV durch die Membran der Zielzelle wird der Viruskern mit der viralen RNA im Zytoplasma der Zielzelle freigesetzt (Uncoating). Der nächste Schritt der Umwandlung von viraler RNA in provirale DNA im Zytoplasma der CD4-positiven-T-Zelle erfolgt mit Hilfe der reversen Transkriptase (RT, p66). Allerdings liegt das HIV-Genom nach erfolgter reverser Transkription als provirale, nicht-integrierte HIV-DNA vor, deren Integration in das Genom der Zielzelle erst durch die Aktivierung der CD4-positiven-T-Zelle möglich wird [Zack et al., 1990]. Hierzu ist aber auch das virale Enzym Integrase notwendig. Dieses Enzym in seiner Funktion zu hemmen, ist einer der therapeutischen Ansatzpunkte.

Nach der Integration des HIV-Genoms läuft über die Replikation, Transkription und Translation der Wirtszelle die Vermehrung des HIV-Genoms sowie die Proteinbildung ab. Die Proteinbildung hat die erneute Virusbildung und dadurch die weitere Infektion

von immer neuen Zellen zum Ziel. An diesen Teilschritten sind viele Proteine beteiligt, auf die teilweise in den folgenden Abschnitten weiter eingegangen wird.

Von einem 53 kDa Präkursor-Molekül werden durch Spaltung mittels der HIV-Protease die HIV *gag*-Proteine gebildet. Kohl et al. [1988] entdeckten, dass nur durch diesen Schritt infektiöse HIV-1 entsteht. Auch dieser Schritt der Replikation wird genutzt, um mittels Hemmung von *gag* die Bildung von HIV-1-RNA zu blockieren [Song et al., 2005].

Der neue HIV-Partikel bildet sich dann schrittweise aus der HIV-1-RNA, den *gag*-Proteinen und den verschiedenen *pol*-Enzymen. Vor dem Verlassen der neuen HIV-Viren spaltet die Protease die großen Präkursor-Proteine auf um die letzten benötigten Proteine für das „budding“ freizusetzen. Das „budding“ hängt vom Zelltyp ab: in Makrophagen und Monozyten sammeln sich die neu gebildeten HIV in Vakuolen, bevor sie austreten, während die Viren bei T-Zellen direkt aus den Wirtszellen austreten.

Die Replikation von Retroviren, und hier speziell des HIV, weist mit etwa 10 Fehlern pro Genom für jede Replikationsfolge eine hohe Fehlerrate auf. Hierdurch entstehen einerseits Viren, die sich nicht mehr replizieren können, andererseits eine Vielzahl von genetisch unterschiedlichen HIV-Varianten. Diese genetische Variabilität bietet eine besondere Herausforderung für die Entwicklung von Vakzinen.

HIV und das Immunsystem

Die HIV-Replikation findet vor allem im Mukosa-assoziierten lymphatischen Gewebe (MALT) statt, aber auch in anderen Bereichen des lymphatischen Gewebes, in denen sich eine große Anzahl von CD4-positiven-Zellen befinden, von denen viele CCR5 exprimieren [Embretson et al., 1993; Pantaleo et al., 1993]. Diese CD4- und CCR5-positiven Gedächtnis-T-Zellen scheinen für eine Infektion besonders empfänglich zu sein [Mehandru et al., 2004a; Li et al., 2005]. Da ein erheblicher Anteil dieser infizierten Zellen nach wenigen Tagen zerstört ist, hängt der weitere Replikationsverlauf von der HIV-spezifischen Immunantwort, die ursprüngliche Konzentration der zerstörten CD4-positiven T-Gedächtnis-Lymphozyten im lymphatischen Gewebe wieder aufzubauen, ab [Picker et al., 2004]. Interessanterweise fördern die Zytokine Interleukin-6 und Tumornekrosefaktor die Virusreplikation.

Die Anzahl an Zellen, die an der Virusreplikation beteiligt sind, sind im lymphatischen Gewebe etwa 100-mal größer als in mononukleären Zellen des peripheren Blutes. Zu Beginn der Infektion wird ein Großteil der Viren von aktivierten T-Zellen und Makrophagen gebildet.

Die Antikörperbildung in der akuten Infektion folgt einer bestimmten Kinetik: während Antikörper gegen p24 und gp120 früh nachweisbar sind, tritt die p31-Bande in der Regel erst später im Infektionsverlauf auf [Fiebig et al., 2003].

Die chronische Phase der HIV-Infektion, die meist über Jahre andauert, ist gekennzeichnet durch einen Abfall der CD4-positiven T-Helferzellzahlen im peripheren Blut. Dieser Abfall kommt durch die Infektion der CD4-positiven Zellen zu Stande. Dabei spielt die Apoptose, eine wichtige Rolle. Die durch HIV - und andere Infektionen - bedingte Aktivierung des Immunsystems führt zur Bildung neuer für die HIV-Replikation geeigneter Wirtszellen und zu Virus-bedingten Zellzerstörungen [Lore et al., 2005]. HIV kann infizierte Zellen direkt durch seine Hüllenproteine (Env) oder durch Caspaseaktivierung (Vpr) zerstören.

Antworten des Immunsystems auf eine HIV-Infektion

Die Qualität der Immunantwort auf eine HIV-Infektion hängt von verschiedenen Mechanismen ab, wobei neben der HLA-Ausstattung, der zellulären Immunantwort durch zytotoxische T-Zellen (CTL), die Sekretionsleistungen von T_H1 und T_H2 CD4-positiven T-Lymphozyten sowie die HIV-spezifische humorale Immunantwort auf die zuvor gebildeten Zytokine eine wesentliche Rolle spielen. Im Folgenden wird kurz auf jeden der genannten Mechanismen eingegangen:

- Das HLA-Muster und die Antwort durch zytotoxische T-Zellen (CTL)

Die Immunantwort eines Organismus ist zunächst wegen dessen individueller HLA-Klassen-Prägung sehr spezifisch. So bestimmt das HLA-Muster, welche Antigene den CTL präsentiert werden. Kaslow et al. [1996] entdeckten, dass HLA B14, B27, B51, B57 und B63 sowie C8 statistisch mit einer langsamen Entwicklung der Infektion korrelierten. Dies beruht auf der Präsentation kritischer Epitope bei deren Mutation das Virus einen Replikationsnachteil erleidet. HLA B18 wurde sogar als schützend gegen HIV ermittelt. Andererseits wurden HLA A23, B22, B35, B37 und B49 als förderlich für eine schnelle HIV-Replikation korreliert. Allerdings muss beachtet werden, dass es sich hierbei nur um statistische Aussagen handelt und die Kausalzusammenhänge nicht geklärt sind.

HIV-infizierte Zellen können von CTL erkannt und eliminiert werden. In einer Studie zeigte sich, dass HIV-infizierte Personen, deren Viruslast über einen längeren Zeitraum auf niedrigem Niveau gehalten werden können, eine hohe Anzahl an HIV-spezifischen CTL aufwiesen. Dabei konnten Goonetilleke et al. [2009] herausfinden, dass die erste HIV-1-spezifische CTL-Antwort eine

merkliche Bedeutung für die Kontrolle der Virämie während der akuten HIV-Infektion hat. Allerdings lässt die anfänglich sehr starke CTL-Antwort im Verlauf der Krankheit deutlich nach; wobei hierfür eine Reihe von Gründen vermutet werden, wie z. B., dass sich durch die hohe Fehlerrate in der Virusreplikation neue Mutanten bilden [Saha et al., 2001; Velu et al., 2009].

- Die T_H1/T_H2 Immunantwort

Weiterhin wird beobachtet, dass je nach Sekretion von T_H1-CD4-positiven T-Lymphozyten bzw. T_H2-CD4-positiven T-Lymphozyten, unterschiedliche Zytokine entstehen, die wiederum eine unterschiedliche Immunantwort bedeuten. Während T_H1-CD4-positiv T-Lymphozyten eher Interferon und Interleukin-2 produzieren, werden von den T_H2-CD4-positiven T-Lymphozyten unter anderem die Interleukine 4, 5, 6 und 10 hergestellt. Während die erstgenannten vor allem die zelluläre Immunantwort fördern, unterstützen die letzteren Interleukine eher die humorale Immunantwort (s. u.). Mehrere Untersuchungen an HIV-Langzeitpatienten sowie an Neugeborenen HIV-infizierter Mütter berichten über protektive Immunreaktionen, ausgelöst durch T_H1-CD4-positiv T-Lymphozyten und den von ihnen freigesetzten Zytokinen [Clerici et al., 1992; Zerhouni et al., 2004].

- Die humorale Immunantwort

Während eine Studie von Derdeyn et al [2004] einen positiven Effekt neutralisierender Antikörper auf die HIV-Infektion zeigen konnte, ist eine langfristige Schutzwirkung neutralisierender Antikörper aufgrund des Selektionsdruckes mit daraus resultierender Immunevasion des Virus nicht zu erwarten [Wei et al., 2003].

Aufgrund der hier kurz beschriebenen Mechanismen des Immunsystem wird deutlich, wie intensiv und komplex die Wechselwirkungen zwischen HIV und Immunsystem sind und dass sich kein unmittelbar klares Konzept für eine Vakzine ableiten lässt, wie dies bei anderen viralen Infektionskrankheiten in der Vergangenheit der Fall war (siehe Kapitel 1.1).

Die verschiedenen HIV-Gruppen und -Subtypen

Neben den zwei pathologisch unterschiedlich wirksamen HIV-1 und HIV-2 haben sich weiterhin Subtypen gebildet, deren Genstrukturen sich voneinander unterscheiden, und die regional unterschiedlich häufig vorkommen. Auf diese Unterschiede zwischen HIV-1 und HIV-2 und deren Subtypen sei im Folgenden eingegangen.

HIV-1

HIV-1, das weltweit verbreitet ist, wird in drei Gruppen regional verschiedener Subtypen unterteilt [Sharp et al., 1994; McCutchan et al., 1996]. Diese Subtypen unterscheiden sich in der Sequenz ihrer Genome.

- M (Major Group oder Mainstream): diese Gruppe beschreibt derzeit die Subtypen A bis J. Dem Subtyp B schreibt man die erste Phase der Epidemie in den späten 1970er und frühen 1980er Jahren in Nordamerika, Europa und Australien zu, während der Subtyp E hauptsächlich bei der Ausbreitung von HIV-1 in Südostasien (Thailand) beobachtet wurde [Louwagie et al., 1995]. Der Subtyp A wird insbesondere in West-Afrika, der Subtyp C hingegen im südlichen Afrika, in Indien und China registriert [Gao et al., 2001]. Der Subtyp F wurde insbesondere in Brasilien und Rumänien beschrieben, während der Subtyp G als typisch für Russland betrachtet wird. In den vergangenen 15 Jahren wurden immer wieder einzelne Isolate gefunden, wie z. B. vom Typ J in Schweden im Jahre 1997 oder später Rekombinante verschiedener Art [McCutchan et al., 2006]. Doppelinfektionen mit mehreren Subtypen (z. B. von B und E) sind möglich.
- O (Outlier): auch hier kann man erhebliche Unterschiede der Virusisolate dieser Gruppe beobachten. Diese sind eher noch heterogener in den einzelnen Virusisolaten als diejenigen der M-Gruppe [Andréoletti et al., 2007].
- N (Non-M and Non-O-group): diese Gruppe der Virusisolate unterscheidet sich merklich sowohl von der M-Gruppe als auch von der O-Gruppe [Simon et al., 1998].

Die Ergebnisse jüngerer Analysen zeigen, dass man von Rekombinationen der Sequenzen der Subtypen ausgehen muss (z. B. zirkulierende rekombinierte Formen (CRF) oder einmalig rekombinierende Formen (Unique recombinant form, UFC) [McCutchan et al., 1999; McCutchan et al., 2006] und die traditionelle Unterteilung der Subtypen in periodischen Abständen mit zunehmender Detailkenntnis einer Revision unterliegt [Robertson et al., 1999]:

Trotz dieser vielen Gruppen und Subtypen gibt es sechs Ausprägungen, die den Hauptteil der HIV-1-Infektionen ausmachen: diese sind A, B, C, D und die zwei Rekombinationsformen CRF01-AE und CRF02-AG. Die meisten der anderen Subtypen und Rekombinationsformen sind heute selten, könnten aber bei begünstigenden Rahmenbedingungen auch an Bedeutung gewinnen. Es ist nicht auszuschließen, dass sich in Zukunft auch Rekombinationsformen untereinander kombinieren und dadurch weitere Sub-Subtypen entstehen [Robertson et al., 1999; Woo et al., 2010]. Auch mögen weitere Analysen zur Auffindung anderer Sequenzen führen, die nicht einfach den bereits definierten zuzuordnen sind. Für diese Arbeit wichtig ist sicherlich die

Feststellung, dass bisher noch kein für alle Typen gemeinsamer Angriffspunkt für eine Vakzine gefunden wurde. Vielleicht wird es auch aufgrund der Rekombinationsformen immer schwieriger, eine derartige Gemeinsamkeit zu entdecken.

HIV-2

Seit der Entdeckung von HIV-2 ist diese Virusvariante vorwiegend in West-Afrika verbreitet mit der höchsten Prävalenz in Senegal und Guinea [Gao et al., 1994; da Silva et al., 2008a]. Allerdings sinkt die Verbreitung von HIV-2, und auch in West-Afrika wird zunehmend HIV-1 beobachtet [Schim van der Loeff et al., 2006; Hamel et al., 2007; da Silva et al., 2008b]. Eine Studie aus Senegal postuliert, dass HIV-2 bereits seit Jahrzehnten in der senegalesischen Bevölkerung sein könnte, da die Prävalenz im Gegensatz zu HIV-1 nur minimal gestiegen war [MacNeil et al., 2007]. Die virale Belastung scheint bei an HIV-2 erkrankten Personen geringer zu sein als bei an HIV-1 Erkrankten. Dies könnte möglicherweise das geringere Infektionsrisiko von HIV-2 erklären [Berry et al., 2002; Popper et al., 2000]. Studien zufolge ist das Risiko, an AIDS zu erkranken bei HIV-1 elfmal so hoch als bei mit HIV-2 [Marlink et al., 1994]. Auch in weiteren Studien konnte belegt werden, dass HIV-2 infizierten Personen häufig nicht das Krankheitsbild von AIDS erleiden [Sharp & Hahn, 2010].

HIV-2 kann in die Subtypen A bis E unterteilt werden [Gao et al., 1994], wie sie oben bereits bei HIV-1 angesprochen wurden [Robertson et al., 1999; Robertson et al., 2000; Woo et al., 2010].

1.3.2 Infektionswege und klinischer Verlauf

Weltweit infizieren sich Menschen vorwiegend durch ungeschützten Sexualkontakt mit HIV. Während sich HIV global gesehen am meisten durch den heterosexuellen Sexualkontakt verbreitet, wird in der westlich geprägten Welt der größte Anteil an Neuinfektionen durch homosexuellen Kontakt verursacht [European Centre for Disease Prevention and Control and WHO Regional Office for Europe, 2011; UNAIDS, 2011]. Andere sexuell übertragbare Krankheiten wie Gonorrhö oder Herpes simplex 2 erhöhen das Risiko einer HIV-Infektion [Fleming & Wasserheit, 1999].

Weitere Infektionswege sind verursacht durch Blutkontakt, sowie durch Transfusionen von Blutbestandteilen [Ward et al., 1989]. Vor allem in den Industrienationen führt „needle-sharing“ unter „intravenösen drug users“ (IVU) zu einem großen Anteil an HIV-Infektionen [Des Jarlais et al., 1988; Des Jarlais & Friedmann, 1998]. Einen weiteren wichtigen Infektionsweg stellt die Infektion des Fetus bzw. Säuglings durch vertikale

Übertragung (intrauterin oder perinatal) dar. Anschließend besteht durch das Stillen des Säuglings die Gefahr der Übertragung des HIV mit der Muttermilch. Das Risiko einer Infektion des Säuglings beträgt je nach Viruslast der Mutter bis zu 48%, weshalb in Ländern mit niedriger Kindersterblichkeit eine Formulanahrung dem Stillen präferiert wird. In Ländern, in denen aus hygienischer, finanzieller oder kultureller Hinsicht die Formulanahrung nicht gewährleistet werden kann, wird weiterhin das Stillen empfohlen [Dabis et al., 1993].

In den frühen 1980er Jahren wurde die HIV-Infektion vor allem als Problem sozialer Randgruppen wie Drogenabhängigen und Homosexuellen gesehen. Erst als nachgewiesen wurde, dass Infektionen auch durch heterosexuellen Verkehr verursacht werden, entwickelte sich in der Bevölkerung in den USA sowie in Europa teilweise eine große Angst vor der Infektiosität von HIV. Erst Studien, die das Zusammenleben im selben Haushalt als nicht infektionsgefährdend beschrieben, beruhigten die Bevölkerung [Friedland et al., 1986].

Nach stattgefundener Infektion kommt es nach ca. zwei bis sechs Wochen zum akuten Krankheitsbild mit unspezifischen Symptomen wie Lymphadenopathie, Fieber, nicht-eitriger Pharyngitis und Exanthem, was einer Ebstein-Barr-Virus oder auch Varizellen-Infektion ähneln kann [Tindall et al., 1988]. Diese Klinik wird auch als akutes retrovirales Syndrom bezeichnet [Clark & Shaw, 1993]. Es ist weiterhin umstritten, bei wie vielen Erstinfizierten ein klinisch erkennbares akutes retrovirales Syndrom diagnostizierbar ist. Teilweise wird von einer sehr hohen Rate ausgegangen, da die Symptome des Syndroms häufig nicht mit einer HIV-Infektion in Verbindung gebracht werden können [Schacker et al., 1996].

Im weiteren Verlauf klingen diese Symptome nach wenigen Wochen wieder ab, und der Infizierte ist meist für lange Zeit symptomfrei. Früher nahm man an, das Virus hätte eine lange Latenzphase, in der es sich nicht oder nur geringfügig vermehrt. Jedoch erkannte man später, dass in dieser Phase pro Tag etwa 10^{12} Kopien des Virus synthetisiert werden. Zeitgleich wird vom Immunsystem etwa die gleiche Anzahl an HIV-Viren pro Tag zerstört. Die Latenzzeit kann von wenigen Monaten bis zu über 20 Jahre dauern. Die HIV-Infizierten, die aber nicht erkranken, werden Long-term-Nonprogressors (LTNP) genannt, und machen etwa 5 % der Infizierten aus [Sheppard et al., 1993].

1.3.3 Epidemiologie der HIV-Erkrankung

Die Zahl der HIV-Erkrankten erreichte Ende 2010 weltweit rund 34 Mio. Verbesserte Erhebungsmethoden seit 2005 führten zu etwas geringeren Schätzzahlen, diese sind

aber auch durch leicht rückläufige Neuinfektionen, insbesondere in 2010 mit 2,75 Mio., bedingt (siehe Abbildung 1.4). Unter den neu infizierten Personen waren 390.000 Kinder (d. h. etwa 15% weniger als im Jahre 2001). Der Anteil weiblicher Patienten lag weiterhin weltweit bei 50%, mit höheren regionalen Anteilen in Afrika südlich der Sahara (59%) und der karibischen Zone (53%) [UNAIDS, 2011].

Der Rückgang der Neuinfizierten wird seitens der UNAIDS auf einen verbesserten Zugang zur antiretroviralen Therapie, auf verändertes Verhalten wie beispielsweise einer geringeren Anzahl von Sexualpartnern, der Verwendung von Kondomen, Verminderung von Gewalt und PMTCT (preventing mother to child transmission) zurückgeführt [UNAIDS, 2011].

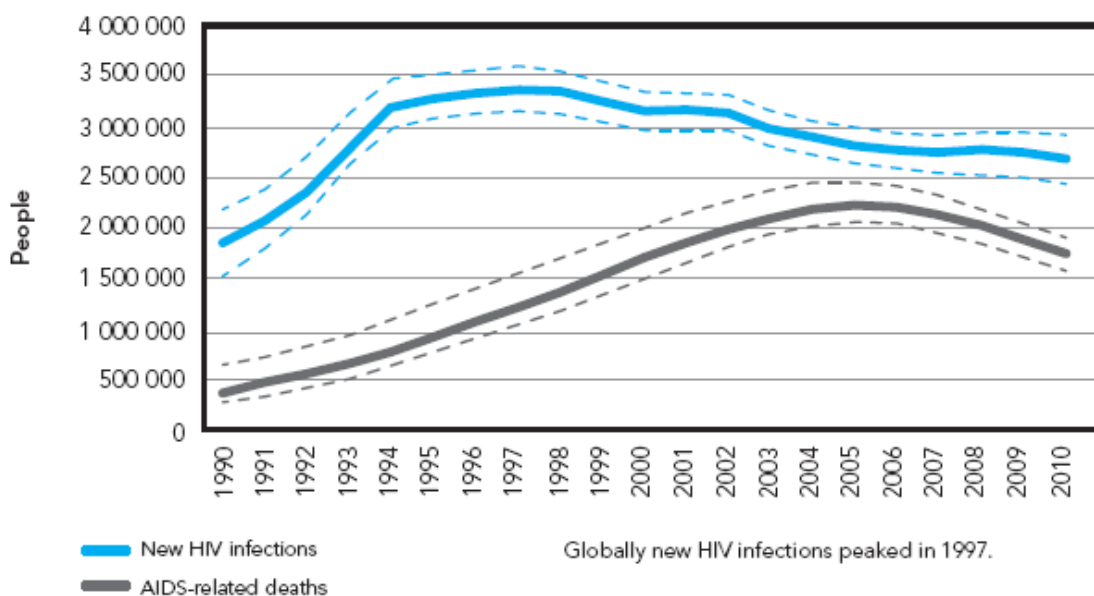


Abbildung 1.4. Entwicklung der HIV-Neuinfektionen und der AIDS-bedingten Todesfälle, weltweit, 1990 bis 2010 [UNAIDS, 2011].

Die Gründe für die Infektion sind - je nach Kulturkreis, Pro-Kopf-Einkommen, Bildungsstand und sozialen Gruppen - sehr unterschiedlich. In Ländern mit mittlerem und hohem Pro-Kopf-Einkommen sind die Hauptgründe der Infektion Drogenmissbrauch und Homosexualität, in Ländern bzw. sozialen Gruppen mit geringem Pro-Kopf-Einkommen und/oder geringem Bildungsstand sind es häufig der fehlende Zugang von Kondomen sowie Prostitution und Gewalt gegenüber Mädchen und Frauen [Kartikyan et al., 2007]. Die jüngsten Berichte der UNAIDS / WHO dokumentieren eine Reihe positiver Entwicklungen bei der Bekämpfung von AIDS in den einzelnen Weltregionen (siehe Tabelle 1.1) [UNAIDS & WHO, 2010].

- Mit 22,9 Mio. Infizierten im Jahr 2010 (bzw. 67% der weltweit Erkrankten) befinden sich die afrikanischen Länder südlich der Sahara weiterhin in der schwierigsten

Situation, wobei deutliche Verbesserungen der Prävalenz bei Erwachsenen (5%) und Jugendlichen zwischen 15 und 24 Jahren (2,3%) sowie ein sinkender Anteil der Todesfälle an Infizierten festzustellen sind. Besonders gefährdet sind die Bevölkerungen in Botswana, Lesotho, Namibia, Südafrika, Swasiland und Simbabwe. Der Anteil der an AIDS verursachten Todesfälle in Afrika lag 2010 bei 5,2% der Infizierten (im Vergleich zu 6,8% im Jahr 2001), d. h. auch hier ist eine positive Entwicklung festzustellen [UNAIDS & WHO, 2010].

- Die karibischen Länder haben zwar eine geringe Zahl an Infizierten (200.000 in 2010), aber der Anteil der Neuinfektionen liegt noch immer mit 6% in 2010 relativ hoch, ebenfalls ist auch hier eine positive Entwicklung festzustellen (9% im Jahre 2001). Die Mortalität, die 2001 bei 9% lag, halbierte sich bis 2010 [UNAIDS & WHO, 2010].
- In Süd- und Süd-Ost-Asien, der Weltregion mit der zweithöchsten Verbreitung von HIV-Infektionen, erhöhte sich die Zahl der Infizierten zwischen 2010 und 2011 um 5% auf 4 Mio., wobei die Prävalenz der Erwachsenen mit 0,3% konstant blieb. Die Mortalität von 6,2% (bzw. 250.000 Todesfällen) sank im letzten Jahrzehnt nicht [UNAIDS & WHO, 2010].
- Eine vergleichbare (eher stagnierende) Situation war auch in Lateinamerika mit 1,5 Millionen, Infizierten in 2010 (1,3 Millionen. in 2001) zu beobachten, aber die Mortalität war gegenüber 2001 rückläufig. Die Neuinfektionen stagnieren seit etwa 2004 bei rund 100.000 pro Jahr [UNAIDS & WHO, 2010].

In den Industrieländern war der Trend der HIV-Neuinfektionen deutlich steigend, insbesondere in Russland und Osteuropa sowie Nordamerika. Auch die Prävalenz war in diesen Ländern steigend. Denn von dem weltweiten Anstieg der HIV-Neuinfektionen zwischen 2001 und 2010 mit 5,4 Mio. Personen sind allein 1,6 Mio. auf Nordamerika, Russland und Europa zurückzuführen. Der Anstieg der Prävalenz spiegelt aber auch den Erfolg der antiretroviralen Therapie (ART) wider, da zunehmend mehr infizierte Personen mit HIV leben können und die Mortalität und Morbidität deutlich abgenommen haben [UNAIDS & WHO, 2010].

- In Osteuropa, speziell in Russland und der Ukraine, verdreifachten sich die HIV-Infizierten auf 1,5 Mio. Personen und die Prävalenz der Erwachsenen stieg auf 0,9%, ebenso die Mortalität auf 6% der Infizierten in 2010 gegenüber 2001. Als Gründe werden insbesondere die Verwendung von gemeinsamen Injektionsspritzen unter Drogenabhängigen und deren Sexualbeziehungen gesehen.

- Für Nordamerika war das letzte Jahrzehnt ebenfalls Anlass zur Sorge: die Anzahl der HIV-Infizierten nahm gegenüber 2001 um ein Drittel auf 1,3 Mio. zu, und die Prävalenz bei Erwachsenen war steigend (2010: 0,6%) und damit drei Mal so hoch wie in West- und Zentral-Europa. Die Mortalität sank im Vergleich zu 2001 auf 1,5% in 2010 [UNAIDS & WHO, 2010].
- In West- und Zentral-Europa konnten die Neuinfektionen bei 30.000 stabilisiert und die Mortalität weiter auf 1,2% gesenkt werden (entspricht knapp 10.000 Todesfällen in 2010) [UNAIDS & WHO, 2010].

Tabelle 1.1. Zahl der HIV-Infizierten 2001 und 2010, Prävalenz für Erwachsene und Jugendliche sowie Todesfälle 2010, Welt und nach Weltregionen [UNAIDS & WHO, 2011].

Weltregion/ Land	HIV- Infizierte in Mio. und %, 2001	HIV- Infizierte in Mio. und %, 2010	Prävalenz Erwachsene in %, 2010	Prävalenz Jugendliche 15 – 24 Jahre, in %, 2010	Todesfälle der HIV- Infizierten in %, 2010
Welt	28,6 26,7 – 30,9 = 100%	34,0 31,6 – 35,2 = 100%	0,8 stagnierend seit 2001	0,45 rückläufig gegenüber 2001	5,3 rückläufig gegenüber 2001
Afrika südlich der Sahara	20,5 19,1 – 22,2 72 %	22,9 21,6 - 24,1 67 %	5,0 rückläufig gegenüber 2001	2,3 rückläufig gegenüber 2001	5,2 rückläufig gegenüber 2001
Süd- und Süd- Ost-Asien	3,8 3,4 – 4,2 13,3 %	4,0 3,6 – 4,5 11,8 %	0,3 stagnierend seit 2001	0,1 stagnierend seit 2001	6,4 stagnierend seit 2001
Lateinamerika	1,3 1,0 – 1,7 4,5 %	1,5 1,2 – 1,7 4,4 %	0,4 stagnierend seit 2001	0,2 stagnierend seit 2001	4,5 rückläufig gegenüber 2001
Industrieländer					
Ost-Europa inkl. Russland	0,41 0,34 – 0,49 1,4 %	1,5 1,3 – 1,7 4,4 %	0,9 verdreifacht seit 2001	0,55 steigend seit 2001	6,0 verdreifacht seit 2001
Nord-Amerika	0,98 0,78 – 1,2 3,4 %	1,3 1,0 – 1,9 3,8 %	0,6 leicht steigend seit 2001	0,25 stagnierend seit 2001	1,5 rückläufig gegenüber 2001
West- und Zentral-Europa	0,63 0,56 – 0,69 2,2 %	0,84 0,77 – 0,93 2,5 %	0,2 stagnierend seit 2001	0,1 stagnierend seit 2001	1,2 rückläufig gegenüber 2001

Insgesamt lässt sich ein leicht positives Fazit über die weltweite Entwicklung der HIV-Erkrankungen feststellen, wenngleich es deutliche regionale Unterschiede gibt, die

nicht zuletzt durch Einkommens- und Bildungsunterschiede sowie kulturelle Einflüsse zu erklären sind. Daher sind in Regionen, in denen die diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen den Infizierten nicht zur Verfügung stehen, die Komorbidität, die Morbidität, sowie die Mortalität weiterhin hoch.

Die Zahl der tödlichen Fälle ging weltweit seit ihrem Maximum um 2005 von gut 2,2 Mio. auf etwa 1,75 Mio. im Jahre 2010 zurück. Die UNAIDS schätzt, dass seit 1995 etwa 2,5 Mio. Todesfälle in Niedrig- und Mitteleinkommensländern durch ART vermieden wurden. Allein im Jahr 2010 konnten etwa 700.000 Todesfälle durch massive Ausweitung der Therapie in den letzten Jahren verhindert werden [UNAIDS 2011].

Kosten für Prävention und Therapie der HIV-Infektion

Schwartzländer et al. [2001] schätzten die Präventionskosten für HIV für das Jahr 2005 weltweit auf rund 4,8 Mrd. US\$, die sich für 22 Mio. Personen etwa gleichgewichtig auf sieben verschiedene Maßnahmen verteilen. Die regionale Verteilung der Präventionskosten entfiel nach den damaligen Vorstellungen zu jeweils etwa 30% auf die afrikanischen Staaten südlich der Sahara und Süd- sowie Süd-Ost-Asien, zu 17% auf Ostasien und der Rest auf die übrigen Weltregionen. Für die erforderlichen Behandlungskosten für 9 Mio. AIDS-Erkrankte schätzten Schwartzländer et al. [2001] weitere 4,4 Mrd. US\$, wobei ein besonders hoher Anteil für die ART-Medikamente und die Betreuung der AIDS-Waisen auffiel. Nimmt man diese damaligen Schätzwerte, so erwartet man Präventionskosten in Höhe von rd. 220 US\$ pro Jahr und Person. Dem gegenüber stünden die Behandlungskosten von knapp 500 US\$ pro Jahr und Patient.

Nach den Zahlenangaben von UNAIDS [2011] wurde die für 2005 geforderte Summe von 9,2 Mrd. US\$ auch fast erreicht und bis 2008 auf gut 15,5 Mrd. US\$ gesteigert, um dann bis 2010 wieder leicht abzunehmen (siehe Abbildung 1.5). Derzeit werden von diesen Kosten etwa 31 % (4,8 Mrd. US\$) durch bilaterale Hilfen zwischen zwei Staaten, weitere 12 % (1,9 Mrd. US\$) durch multinationale Institutionen sowie 5% (0,8 Mrd. \$) durch Spendenorganisationen aufgebracht. Der Rest (ca. 8 Mrd. US\$) wird durch inländische Ressourcen der betroffenen Länder (insbesondere in den Schwellen- und Industrieländern) finanziert.

Allerdings übersteigen derzeit die Kosten für eine ART in den armen Entwicklungsländern und ländlichen Provinzen deren Budget für Gesundheitsausgaben, obwohl in den letzten 10 Jahren durch internationalen Druck die Kosten für die ART pro Patient und Jahr erheblich gesenkt werden konnten. Auch konnte die Medikation von mehr als 10 Tabletten auf 1 pro Tag reduziert werden,

wodurch vor allem bei bildungsärmeren Infizierten eine bessere Compliance erreicht werden konnte [UNAIDS, 2011].

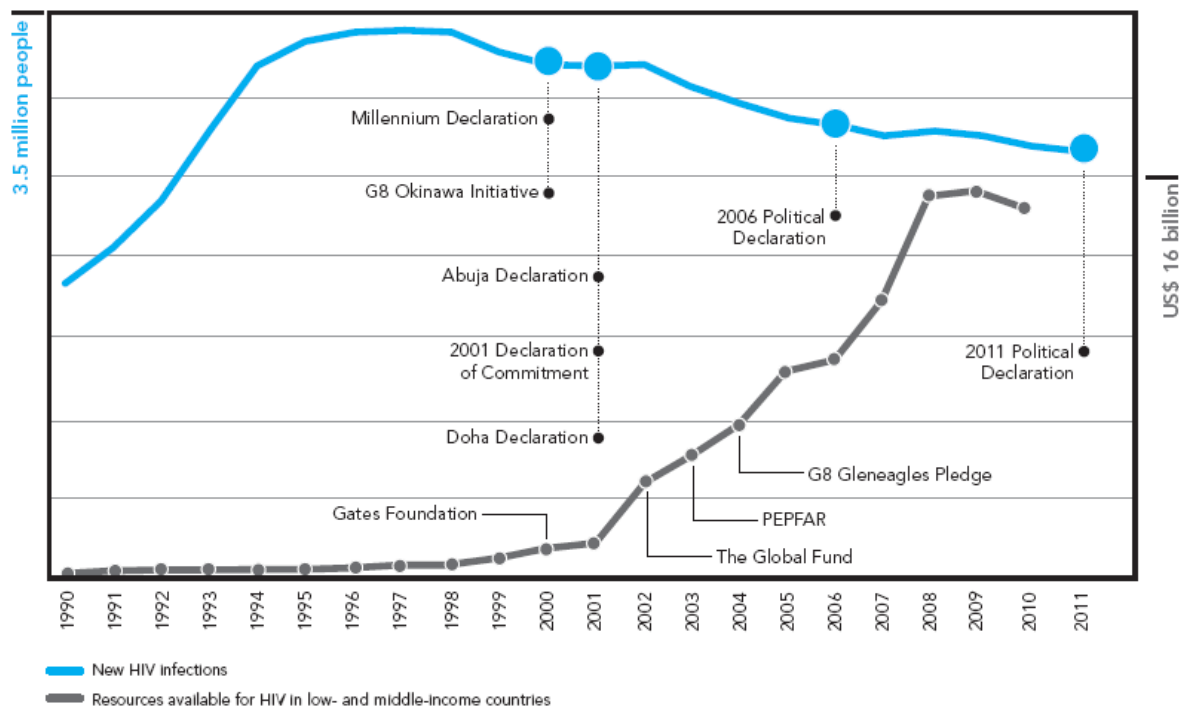


Abbildung 1.5. Entwicklung der Neuinfektionen (blaue Linie) und der Präventions- bzw. Behandlungskosten (schwarze Linie), weltweit, 1990 bis 2010 [UNAIDS, 2011].

Der UNAIDS-Bericht von 2011 setzt sich auch mit der Frage auseinander, wie man die HIV-Neuinfektionen von Kindern bis 2015 weltweit senken bzw. verhindern kann. Mit zusätzlichen 1,5 Mrd. US\$ pro Jahr hofft man, dieses Ziel mit folgenden vier Maßnahmen erreichen zu können: (1) mit intensivierter Prävention bei Frauen im gebärfähigen Alter, (2) mit vollständigem Zugang zu Mitteln der Familienplanung, die es Frauen ermöglichen würden, unbeabsichtigte Schwangerschaften zu vermeiden, (3) Schwangeren sollten routinemäßig HIV-Tests angeboten werden und Frauen mit HIV und ihre Neugeborenen sollten Zugang zu ART garantiert bekommen, um die Risiken der HIV-Transmission während der Schwangerschaft und der Stillzeit zu minimieren, (4) HIV-Behandlung und Beratung sollte für Frauen und Kinder mit HIV und deren Familien allgemein zugänglich sein [UNAIDS, 2011].

Abschließend betont der Bericht, dass ART zwei Vorteile mit sich bringt: zum einen die Risikominderung HIV-bedingter Krankheit, zum anderen die signifikant reduzierbare Wahrscheinlichkeit einer HIV-Transmission. Es wird weiterhin darauf hingewiesen, dass Ende 2010 rund 7,6 Mio. HIV-Infizierte (mit CD4-Werten von weniger als 350) dringend eine ART-Behandlung benötigen, die sie aber nicht erhalten [UNAIDS, 2011].

1.4 HIV-Vakzinen

In den letzten 30 Jahren sind über 30 Millionen Menschen an den Folgen des HI-Virus gestorben, zwar ist die absolute Zahl der Todesfälle seit 2005, sowie die Neuinfektionen seit 2001 rückläufig, aber die Anzahl der Menschen, die mit einer HIV-Infektion leben steigt weiterhin. Trotz großer Erfolge in der antiretroviralen Therapie und Präventionsprogramme scheint es, diese Pandemie besonders in strukturell schwächeren Weltregionen nicht ohne eine zumindest teilschützende Vakzine weiter einzudämmen. Dabei stellen sowohl die Persistenz des Virus im Organismus als auch die Nebenwirkungen der antiretroviralen Therapie aktuell nicht gelöste Probleme dar. Da der wirtschaftliche und soziale Nutzen der Prävention der HIV-Infektion so eindeutig hoch ist, stellt sich die Frage nach der Möglichkeit von Vakzinen.

1.4.1 Konzepte präventiver und therapeutischer von HIV-Impfungen

Grundsätzlich bieten Vakzinen entweder die Möglichkeit, die Infektion im Vorhinein durch spezifische Antikörper oder Immunantwort zu vermeiden (präventive Vakzine) oder im Sinne einer therapeutischen Vakzine eine anfängliche Ausbreitung des Krankheitserregers bei bereits erfolgter Infektion zu stoppen oder zumindest zu verlangsamen. Zu Beginn der HIV-Pandemie gab es sehr optimistische Äußerungen, dass es nur wenige Jahre dauern würde, bis eine präventive Vakzine erfolgreich entwickelt, geprüft und auf dem Markt sei. Doch zunehmend stellte sich seit 1987 heraus, dass die Forschung vor einer extrem großen Herausforderung steht. Denn seitdem wurden von vielen Wissenschaftlern weltweit über 40 Vakzine-Kandidaten in intensiver Forschung bei mehr als 80 Phase I- und II-Studien getestet. Über 25.000 freiwillige Probanden haben sich bereits zur Verfügung gestellt, darunter mehr als 10.000 gesunde Freiwillige [Khurana et al. 2006; Mascola & Montefiori, 2010].

Aufgrund der sehr unterschiedlichen Subtypen und Mutationsfähigkeit von HIV-1 und HIV-2 scheint es bis heute sehr schwer zu sein, eine präventive oder therapeutische Vakzine zu entwickeln. Die bisher erfolgversprechendste HIV-Vakzinenstudie wurde mit einem Canarypox-Vektor (ALVAC-HIV gag, env, pol) durchgeführt, und war zusätzlich mit einer rekombinierten Glycoprotein-Vakzine gp120 AIDSVax A/E Boost kombiniert. In dieser ALVAC vCP1521 Studie (auch RV144 oder Thai-Trial genannt) wurden über 1600 Probanden in Thailand eingeschlossen. Man beobachtete eine um 31 % reduzierte HIV-Inzidenz bei den Geimpften im Vergleich zu den nicht Geimpften über einen Zeitraum von 42 Monaten [Rerks-Ngarm et al., 2009]. Die Immunreaktionen, die diesen Schutz ermöglichten, sind nunmehr zentraler Forschungsgegenstand in weiteren Studien und schließen die Frage nach der Rolle

nicht-neutralisierender Antikörper, die über Antikörper-abhängige zellulär zytotoxische Effekte (ADCC) wirksam werden, mit ein [Ferrari et al., 2011; Cohen et al., 2011]. Diesen Zusammenhang hatten Barouch und Letvin [2000] schon 10 Jahre zuvor postuliert.

Wenngleich die Wirksamkeit dieser Vakzine nicht ausreichend war, um unmittelbar eine Vakzine-Lizenz-Strategie zu verfolgen, so scheint dieser Versuch doch zu zeigen, dass eine präventive Impfung möglich sein könnte. Man wird diese Richtung weiterverfolgen, um die Wirksamkeit der Vakzine zu erhöhen und entsprechende Versuchsreihen zu starten [UNAIDS, 2011; Haynes et al., 2010].

Keine der bisher klinisch getesteten Vakzinen verursachten Sicherheitsprobleme. Eine Vakzine schaffte es bis in die Phase III, d. h. zu einer breit angelegten Studie [Rerk-Ngarm et al., 2009]. Um einen Überblick über den bisherigen Stand der Forschungsergebnisse zu erhalten, wurden zwei Datenbanken aufgebaut: International AIDS Vaccine Initiative (www.iavi.org) und U.S. National Institutes of Health Vaccine Research Center (www.vrc.nih.gov). Im Jahre 2000 wurde das HIV-Versuchsnetzwerk HIV Vaccine Trials Network (HVTN) durch das National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) mit 25 Kliniken auf vier Kontinenten gegründet. Des Weiteren gründete die Europäische Union die European and Developing Countries Clinical Trial Partnership (EDCTP), um Entwicklungsländer bei ihren Tests zur Wirksamkeit von neuen Medikamenten und Vakzinen zu unterstützen.

Allerdings kam man in den bisherigen Studien zu dem Ergebnis, dass es wesentlich schwieriger ist, eine Vakzine zu entwickeln, als zunächst angenommen. Die Bilanz von Barouch [2008] oder anderen Autoren [z.B. Girard et al., 2011] und Institutionen [IAVI: International AIDS Vaccine Initiative, 2008] ist, dass das wissenschaftliche Verständnis der Pathophysiologie der HIV-Infektion noch nicht ausreichend ist, um eine erfolgreiche Vakzine konzipieren und groß angelegte klinische Studien in Angriff nehmen zu können. Bei den drei großen durchgeführten Studien von Vakzinen in den letzten Jahren gab es gute Fortschritte, aber der große Durchbruch lässt noch auf sich warten [Flynn et al., 2005; Pitisuttithum et al., 2006; Buchbinder et al., 2008; Johnston & Fauci, 2008].

Da es heute noch keinen durchbrechenden Erfolg in der präventiven Vakzinenentwicklung erreicht wurde, verfolgt man derzeit auch das Ziel, eine therapeutische Vakzine zu entwickeln. Diese könnte additionell zur ART oder bei einer ART-Pause angewandt werden. Streng genommen handelt es sich somit nicht um eine Vakzine, weswegen auch der Begriff "Immunmodulator" verwendet wird. Wie bei einer präventiven Impfung sollen Antikörper und / oder spezifische T-Zellen des

Immunsystems das HIV-Level auf niedrigen Spiegeln halten und Transmissionen vermeiden [Virgin et al., 2010]. Dieser Ansatz hätte aber den Nachteil, dass die Inzidenz nicht wesentlich gesenkt werden würde.

Deshalb bleibt der ehrgeizige Ansatz in der längerfristigen Zukunft eine präventive Vakzine zu entwickeln, um das HIV eindämmen zu können, auch wenn - realistisch gesehen - in näherer Zukunft nur eine Reduktion der Viruslast möglich erscheint.

Nach den heutigen Erkenntnissen sollte eine ideale präventive HIV-Vakzine folgende Anforderungen erfüllen:

- Sie müsste Antikörper produzieren, die möglichst alle Subtypen von HIV-1 bzw. HIV-2 abdecken.
- Sie sollte die Entwicklung spezifischer CTLs hervorrufen, um auch die infizierten Zellen zu bekämpfen [Schmitz et al., 1999].
- Die Vakzine sollte auch in den Schleimhäuten zu einer möglichst hohen Immunität führen, da diese meist die Eintrittspforte für die Infektion darstellt [Girard et al. 2008]. Primär hofft man nun auf eine Senkung der Virämie zum Setpoint, denn eine Senkung von einer halben log-Stufe würde einen klinischen Nutzen bringen [Johnston & Fauci, 2007].
- Für die Logistik sollte die Vakzine natürlich am besten wärmebeständig sein. Und eine andauernde protektive Immunität wäre für ein Gesundheitssystem – vor allem in Entwicklungsländern - sehr nützlich [Harari et al., 2008].

Im Folgenden wird die Wirksamkeit von bisher untersuchten Vakzinen und Vakzine-Konzepten kurz zusammengefasst, strukturiert nach ihrem Wirkungsansatz. An den vielfältigen Versuchen und den eher moderaten Erfolgen mancher Vakzine-Konzepte wird nochmals deutlich, wie komplex die Pathophysiologie der HIV-Infektion ist und wie wenig sie bisher im Detail aufgeklärt ist.

1.4.1.1 Attenuierte und inaktivierte Vakzinen, sowie Virus-ähnliche Partikel

In der Vakzinenforschung ist die Deletion von Genabschnitten ein vielfach angewandtes Verfahren. Auch in der HIV-Vakzinenforschung wurde dieser Ansatz in vielen Studien verfolgt. Die Beobachtung, dass nef-entfernte Mutanten von SIV (Simian immunodeficiency virus) als lebende Vakzine gegen SIV genutzt werden könnten, führte zunächst zu Studien an Tieren [Kirchhoff et al., 1992]. Dabei wurde beobachtet, dass net-attenuiertes SIV eine lebenslange Infektion auf geringem Niveau induziert. Die Affen waren dann gegen pathogene SIV geschützt, allerdings nicht vor einer

Superinfektion. Die CD8-positiven T-Zellen spielten bei dieser Schutzfunktion eine wichtige Rolle, wenn auch die zugrundeliegenden Mechanismen im Einzelnen nicht aufgeklärt werden konnten [Watkins, 2011]. Die verbleibenden hohen Risiken führten dazu, dass dieser Weg der lebenden attenuierten Vakzine nicht beschritten wurde.

Ein weiterer Ansatz, der vorallem in den ersten Jahren der HIV Vakzinenentwicklung verfolgt wurde, ist die Gabe von inaktiviertem HIV. Inaktivierte HIV-Vakzinen wurden durch milde Oxydation, Alkylierung oder UV-Inaktivierung der viralen RNA hergestellt und in Tierversuchen appliziert. Damit ließ sich jedoch nur eine geringe Infektionsschutzwirkung erreichen [Lifson et al., 2004]. Versuche mit Virus-Vektoren (Baulb- und Pox-Viren-Vektoren) führten zur spontanen Bildung von Virus-ähnlichen Proteinen (VLP, virus like proteins), die aus dem HIV-Viruskern und den gag- und env-Proteinen bestehen [Doan et al., 2005]. Allerdings waren die Immunwirkungen gering, auch wenn weitere Bausteine wie z. B. gp41 mit eingebaut wurden.

Immerhin wurden Immunwirkungen einer VLP-Vakzine dann deutlich verbessert, wenn sie mit einer DNA-Vakzine Prime kombiniert wurde [Buonaguro et al, 2007]. VLP-HIV-Vakzinen mit modifizierten env-Proteinen waren ein anderer Versuchsweg, wie auch Hybrid-VLP mit verschiedenen Kombinationen (z.B. mit gp41 MPER). Allerdings führten auch diese Versuche mit VLP-Vakzinen zu sehr geringer Bildung von HIV-spezifischen Antikörpern oder HIV-neutralisierenden Antikörpern [Girard et al., 2011].

1.4.1.2 Induktion von Antikörpern

Das Immunsystem schützt den Körper vor unzähligen potentiellen Krankheitserregern aus der Umwelt mittels spezifischer Antikörper. Diese zu induzieren ist das Ziel der meisten Impfungen, wie z. B. der gegen Hepatitis B. In den ersten Versuchen, eine Vakzine für HIV zu entwickeln, wurde versucht, einen Antikörper gegen das gp 120 und gp 160 zu induzieren - jedoch bis heute ohne Erfolg. Man erreichte zwar in Studien Antikörpertiter gegen das gp 120, jedoch ist die Mutationsrate des HIV zu hoch, wodurch es immer neue Oberflächenproteine generiert, so dass diese Vakzinen die Viren nur schlecht neutralisieren konnten [Mascola et al., 1996]. Dies liegt an der hohen Fehlerrate der reversen Transkriptase (RT), zudem daran, dass die RNA-Polymerase keine Korrekturfunktion hat. Des weiteren sind die Antikörper immer nur auf den HIV-Subtyp beschränkt, mit dem auch immunisiert wurde.

1.4.1.3 Induktion spezifischer zytotoxischer T-Zellen

Infizierte Körperzellen exprimieren über den MHC I Viruseiweissfragmente an ihrer Oberfläche. Die zytotoxischen T-Zellen erkennen diese und zerstören die eigenen infizierten Körperzellen. In Studien wurde entdeckt, dass HIV-Infizierte, die aber nicht erkrankten, einen höheren Spiegel an HIV-spezifischen zytotoxischen T-Zellen aufweisen [Rowland-Jones et al., 1995]. In Tierversuchen ließ sich nachweisen, dass eine Depletion von CD8-positiven T-Zellen einen Krankheitsausbruch indiziertete [Schmitz et al., 1999]. Deswegen ist vermutlich die spezifische CD8-positive T-Zell-Reaktion ausschlaggebend für eine HIV-Elimination im Infizierten.

Daher wurde in weitem Forschungsansätzen versucht diese spezifischen zytotoxischen T-Zellen zu stimulieren. Nach den nicht erfolgreichen Ergebnissen mit konventionellen Vakzine-Strategien versuchte man gen- und biotechnisch erzeugte Epitope als Vakzinen zu konzipieren, die an verschiedenen Stellen des HIV-Infektionsweges auf molekularer Basis ansetzen und eine vergleichbare Immunantwort auslösen, wie die Infektion mit Deletionsmutanten. Hierzu zählen Plasmid-DNA-Vakzinen und lebend rekombinierte Vektoren:

- *Liposomen*

Diese können mit Peptiden, DNA-Abschnitten, aber auch mit Medikamenten "befüllt" werden. Damit lassen sich sowohl Antikörper wie auch CTL induzieren. Um das Überleben der Liposomen im Körper zu verlängern, werden sie mit Polyethylenglycol beschichtet.

- *Plasmid-DNA-Vakzinen*

Im Grundsatz bieten Plasmid-DNA Vakzinen aufgrund ihres einfachen Wirkungsmechanismus und ihrer vielseitigen Einsatzfähigkeit eine hohe Erfolgschance. Allerdings erfordert es nach den bisherigen Versuchen häufigere Injektionen mit relativ hohen Dosen, um merkliche Immunreaktionen zu erreichen [Casimiro et al., 2003; Graham et al., 2006]. Infolge dieser Ergebnisse konzentriert sich die Forschung auf die Entwicklung von Adjuvantien für DNA-Vakzinen [Barouch & Letvin, 2000; Chong et al., 2007] und verbesserte Herstellungsverfahren wie z. B. in vivo Elektroporation [Luckay et al., 2007; Liu et al., 2008]. Nackte Plasmid-DNA, welche gewisse HIV-Gene kodiert, wie z. B. die Gene gag, pol und nef, führten zu einer CTL-Antwort, aber es können auch Gene verwendet werden, die zur Antikörperproduktion führen [Excler 2005]. Die Injektion erfolgt intramuskulär oder auch subkutan. Eine besondere Rolle dabei scheinen spezifische gag-CTL zu spielen. Es konnte nachgewiesen werden, dass Toll-like-Rezeptoren als Adjuvanz Prime-Boost-Impfregime verbessern [Wille-Reece et al., 2006].

- Lebend rekombinierte Vektoren

Rekombinierte Vektoren umfassen attenuierte oder replikations-inkompetente Virusarten, insbesondere Adeno- und Pocken-Virustypen [Shiver et al., 2002; Catanzaro et al., 2006]. Virale Vektoren, die entweder allein oder in Verbindung mit heterologen DNA-Prime-Vektor-Verstärkern konzipiert sind, stellen heute die meisten HIV-1-Vakzinen in klinischen Versuchen dar [Shiver & Emini, 2004; Harari et al., 2008]. Andere virale Vektoren, die derzeit in Erwägung gezogen werden, sind das vesikuläre Stomatitis-Virus und das Masern-Virus [Barouch, 2008]. Man kombinierte verschiedene Vektoren mit HIV-Genen. So z. B. den Modified Vaccina Ankara (MVA) [Brave et al., 2007; Excler, 2005], oder einen modifizierten Vaccina Virus NYVAC [Gomez et al., 2007], welcher sich langsam repliziert und in der EuroVacc-Studie verwendet wurde.

Tierversuche, sowie klinische Studien weisen darauf hin, dass zusätzlich zu den Antikörpern auch eine CTL-Induktion notwendig erscheint um das HIV kontrollieren zu können. Es zeigte sich, dass eine Kombination von mehreren Vektoren eine stärkere Immunitätswahrscheinlichkeit ergibt. Verschiedene Vektoren sind möglich: Adenovirus 5, Canary-Pox-Viren, MVA u. a. So kombinierte man z. B. in der Studie HVTN 055 rMVA mit fowlpox als Vektor. Es ließ sich mittels eines ELISPOT von IFN- γ nachweisen, dass die heterogenen "Prime-Boost"-Verfahren eine verbesserte Immunantwort bewirken. Auch in der EuroVacc-Studie versucht man eine heterogene Herangehensweise. Weitere Studien haben jedoch gezeigt, dass auch bei einer hohen Konzentration an HIV-spezifischen CTL eine Superinfektion mit einem anderen HIV-Stamm möglich ist, obwohl die Epitope sehr ähnlich waren [Altfeld et al., 2001].

1.4.2 HIV-Vakzine-Studien

In den ersten HIV-Vakzine-Studien wurde nach dem Prinzip der neutralisierenden Antikörper versucht, eine wirksame Vakzine zu entwickeln. Der erreichte Antikörperspiegel war jedoch nicht ausreichend um den Probanden vor einer Infektion zu schützen [Moore et al., 1994; Mascola et al., 1996].

Es wurde festgestellt, dass Patienten mit einem hohen Spiegel an zytotoxischen T-Zellen einen verlangsamten Krankheitsverlauf der HIV-Infektion durchliefen [Koup et al., 1994]. Daraufhin wurde vermehrt versucht mittels Induktion von HIV-spezifischen zytotoxischen T-Zellen eine Vakzine gegen HIV zu entwickeln. Auch wenn bisher kein Schutz vor der HIV-Infektion erreicht werden konnte, so wurde eine deutliche Reduktion der Viruslast und dadurch auch eine Verlangsamung des Krankheitsverlaufs erreicht [Letvin et al., 2006].

Die Studien HVNT 502 (Step trial) und HVNT 503 (Phambili trial) beruhen beide auf dem Vektor Adenovirus 5. Ähnlich wie bei der EuroVacc-Studie werden die Proteine Gag, Pol und Nef exprimiert. Es wurden drei verschiedene rekombinante, nicht-replikative Adenoviren benutzt, jedoch zeigten viele Probanden einen Anstieg von Antikörpern gegen Adenovirus 5, wobei die männlichen Probanden, die Adenovirus-seropositiv und nicht beschnitten waren, eine erhöhte Wahrscheinlichkeit zeigten, sich mit HIV zu infizieren [Buchbinder et al., 2008]. Dies führte zum Abbruch dieser beiden Studien [Steinbrook, 2007]. Daraufhin wurden in neuen Studien Probanden ausgeschlossen, welche bereits Adenoviren-seropositiv und unbeschnitten waren. Oder es wurden andere Adenoviren Ad26 und Ad35 verwendet, wie z. B. in der IAVI B001 Studie [Barouch, 2010].

In den zwei großen Studien ALVAC und AIDSVAX wurde in Thailand und USA eine Vakzine untersucht, die Anti-gp120-Antikörper induziert. In beiden Studien konnte jedoch kein signifikanter Schutz gegen eine Infektion erreicht werden [Rerks-Ngarm et al., 2009]. Man vermutet, dass dies daran liegt, dass es ein Rezeptor-Modelling gibt. Bevor das gp120 an den CD4-Rezeptor bindet, kommt es zu einer Konformationsänderung, die zuvor verdeckte Epitope freilegt. Erst durch die Bindung eines pr160-Trimers an den CD4-Rezeptor wird die Bindungsstelle für die Corezeptoren CCR5 und CXCR4 freigelegt.

Nach der Strategie, die seit dem verfolgt wird, sollten möglichst konservative Bindungsstellen für CD4 und die Corezeptoren in gp120 erkannt werden. Nun wird versucht, die Konformationsänderung im gp120 bei der Bindung an CD4-Rezeptoren zu simulieren, damit sich spezifische Antikörper bilden können.

In den Studie VAX003 wurden zwei rekombinierte Glykoprotein-Untereinheiten (rgp120) von HIV-B- und HIV-E-Subtypen, und in der Studie VAX004 von zwei verschiedenen HIV-B-Subtypen, verwendet. Diese waren zum einen GNE8 gp120, der von einem infizierten Monozyten geklont wurde, sowie zum anderem ein weiterer GNE8 gp120 aus einer Gendatenbank. Diese Vakzine wurde 3.598 freiwilligen Probanden mit erhöhtem Infektionsrisiko an sieben Zeitpunkten inokuliert. Die Teilnehmer wurden in verschiedene Risikogruppen eingeteilt. In die Studie wurden aufgenommen: Männer, die ungeschützten analen Sex mit Männern haben, sowie Frauen mit hohem Infektionsrisiko durch Drogenkonsum oder Prostitution. Die Studie wurde in den USA und in den Niederlanden durchgeführt [Gilbert et al., 2005]. Die Studie war darauf angelegt, eine Antikörperbildung zu induzieren. Eine spezifische Antikörperbildung gegen gp120 sowie eine gute Verträglichkeit der Vakzine konnte nachgewiesen werden. Im Ergebnis zeigte sich jedoch kein verbesserter Infektionsschutz der geimpften Probanden gegenüber der Placebo-Gruppe. Die

Möglichkeit, dass durch einen Impfstoff der Krankheitsverlauf schneller progredient ist, konnte für diese beiden Impfstoffe in dieser Studie widerlegt werden [Flynn et al., 2005]. Auf der Basis der Ergebnisse dieser Studie könnte man interpretieren, dass eine rein auf der Antikörperbildung gegen gp120 beruhende Vakzine keinen Schutz für eine HIV-Infektion bietet. Ein Schwachpunkt der Studie war der niedrige Anteil an Frauen, sodass bei nur sechs Infektionen beim weiblichen Geschlecht gegenüber 362 Infektionen beim männlichen Geschlecht von keiner aussagekräftigen Repräsentanz ausgegangen werden kann. Weiterhin bestand das statistische Problem der verschiedenen Ethnien, welche ungleich verteilt waren [Flynn et al., 2005].

In Thailand wurde die AIDSVAX B/E Studie an freiwilligen Probanden durchgeführt, die intravenöse Drogen einnehmen. In der doppelverblindeten, randomisierten Studie erhielten 1267 der 2546 Teilnehmer die AIDSVAX B/E Vakzine, während 1260 Teilnehmer ein Placebo verabreicht wurde. Die AIDSVAX B/E Vakzine enthält zwei rgp120 HIV-1-envelope Antigene. Es konnte nachgewiesen werden, dass Antikörper gegen gp120 sowie A244 CD4 gebildet wurden. In der Placebo-Gruppe der Studie wurden keine Antikörper detektiert. Jedoch zeigte sich, dass die Studie keinen Vorteil für die beimpften Teilnehmer hinsichtlich des Infektionsschutzes bot. Es wurden 106 HIV-Infektionen in der geimpften Gruppe und 105 in der Placebo-Gruppe beschrieben. Auch im Verlauf der HIV-Infektion konnte mittels CD4-Zell-Zahl und Viruslast kein therapeutischer Nutzen durch die Impfung nachgewiesen werden [Pitisuttithum et al., 2006].

Die meisten Studien in der HIV-Vakzinenforschung wurden von der amerikanischen Wissenschaft vorangetrieben. So wurde Ende der 1990er Jahre die Idee auf den Weg gebracht eine gemeinsame europäische Anstrengung zur Entwicklung einer Vakzine gegen HIV zu gründen. Im Jahre 2002 wurde dann EuroVacc (European Vaccine Effort Against HIV/AIDS) von der EU gegründet. Dieser Kooperation schlossen sich die sieben EU-Länder Frankreich, Deutschland, Italien, England, Spanien, Schweden und die Niederlande an. Folgende Ziele wurden durch dieses neue Konsortium verfolgt: die Vakzinenentwicklung zu beschleunigen, indem mit dem Expertenwissen der Pharmaindustrie die universitären Forschungsgruppen unterstützt werden. Des Weiteren um klinische Studien der Phase I und II in der EU zu fördern. Und man versprach sich eine engere Zusammenarbeit mit anderen internationalen Initiativen für die weitere Entwicklung und für die Durchführung von Phase IIb/III Studien [EuroVacc, 2013].

Im Jahre 2003 wurde daraufhin die erste EV01-Studie (EuroVacc 01) mit einem NYVAC-Impfstoff durchgeführt [Bart et al., 2008].

Ab dem Jahre 2005 wurde dann die EV02-Studie (EuroVacc 02) mit einem Prime-Boost-Verfahren begonnen. In dieser Studie wurde bis 2007 bei 40 Probanden untersucht, ob das Impfschema NYVAC-C alleine oder ein NYVAC-C mit vorherigen DNA-C priming zu einem größeren Anteil an Respondern führt. Zur Kontrolle der Immunantwort wurde - wie bei der in dieser Arbeit untersuchten Studie - ein ELISPOT auf INF- γ durchgeführt. Beide Vakzinen enthielten die Gene gag, pol, nef sowie den Anteil von env für gp120 des HIV-1 clade C. Es zeigte sich ein eindeutiger Vorteil mit der Kombination von DNA-C priming und NYVAC-C boost, welche bei über 90 % der Probanden zu Reaktionen führte, die über 48 Wochen anhielten. Das Impfschema, bei dem nur NYVAC-C alleine verwendet wurde, führte dagegen nur bei 40 % der Probanden zu einer positiven und anhaltenden Immunantwort. Es ist jedoch zu anmerken, dass nach der DNA-C Gabe nur 10 % zu den Respondern gezählt werden konnten und erst der boost ausschlaggebend war. Die spezifische T-Zell-Antwort war vor allem gegen Env gerichtet. Dagegen wurde die spezifische T-Zell-Antwort gegen Gag, Pol und Nef nur bei knapp der Hälfte der Probanden beobachtet. Die detektierte IFN- γ -Sekretion als Hinweis auf die Stärke der Immunantwort war in Woche 26, bei der Gruppe mit prime-boost Strategie mehr als doppelt so hoch wie bei der nur mit NYVAC-C geimpften Gruppe - und in Woche 28 sogar mehr als dreimal so hoch [Harari et al., 2008].

Zur Verteilung der T-Zell-Antwort wurde bei den 19 der 40 Probanden, bei denen eine IFN- γ -Sekretion von über 100 SFU/10⁶ bestand, eine Durchflusszytometrie durchgeführt. Eine CD4-positive T-Zell-Antwort wurde bei allen beobachtet, eine CD8-positive T-Zell-Antwort dagegen nur bei etwa der Hälfte, wobei dann jedoch die CD8-positive T-Zellen teils ein höheres Vorkommen aufwiesen als die CD4-positiven T-Zellen. Die Untersuchung der beiden Zelltypen wurde großteils bei Env-spezifischen und Gag-spezifischen Antworten durchgeführt [Harari et al., 2008].

Des Weiteren wurde die Funktion von Env- und Gag-spezifischen CD4-positiven und CD8-positiven T-Zellen mittels Durchflusszytometrie untersucht, indem man die IL-2-, TNF- α -, INF- γ -Sekretion sowie die Proliferation und Degranulation aufzeichnete. Die CD4-positiven, sowie die CD8-positiven T-Zellen reagierten auf die Stimulation mit Env-Peptiden, dagegen nur bei zwei Probanden auf die Stimulation mit Gag-Peptiden. Es wurde beobachtet, dass vor allem von den CD8-positiven T-Zellen (70 %), aber auch von den CD4-positiven T-Zellen eine polyfunktionale Antwort generiert werden konnte [Harari et al., 2008].

Studien haben gezeigt, dass CD45RA sowie CCR7 für antigenspezifische CD4-positive sowie CD8-positive T-Zellen eine Gedächtnisfunktion spielen [Champagne et al., 2001]. Deshalb wurden in der EuroVacc02-Studie auch die CD4-positiven sowie die

CD8-positiven T-Zellen untersucht. Man entdeckte, dass in der 48. Woche 90 % der Env-spezifischen CD8-positiven T-Zellen CD45RA⁺ CCR7⁻ waren, dagegen CNV/EBV-spezifische CD8-positive T-Zellen sich im Verlauf der Zeit nicht änderten [Harari et al., 2008].

Die zuletzt vorgestellten HIV-Vakzinestudien verdeutlichen, dass weitere Immunaktive Wege stimulieren müssen, um neue Möglichkeiten eines Schutzes vor der HIV-Infektion zu untersuchen. Diese sind wie bereits beschrieben z. B. die Stimulation von zellulärer Immunität.

1.4.3 Toxizität von HIV-Vakzinen

Die durch eine Vakzine induzierten Antikörper können theoretisch mit körpereigenen Epitopen kreuzreagieren. Dies können z. B. ein HLA-D-Rezeptor oder auch andere Strukturen sein, wodurch eine Autoimmunreaktion entstehen kann. Eine solche Autoimmunreaktion wurde aber bisher noch in keiner Studie mit einer Vakzine in Verbindung gebracht.

Die Induktion von CD8-positiven zytotoxischen T-Zellen (CTL) könnten hypothetisch auch auf körpereigene Strukturen reagieren. Laufende Studien, wie auch die EuroVacc03, zeigen jedoch, dass bisher trotz erhöhten CTL kurzfristig keine erhöhte Inzidenz für Autoimmunkrankheiten bei den Probanden vorliegt.

Da die Toxizität einer HIV-Vakzine das zentrale Anliegen des empirischen Teils dieser Dissertation ist, sind die Ergebnisse der großen Studien hinsichtlich der lokalen und systemischen Reaktionen der geimpften Personen von besonderem Interesse in diesem abschließenden Unterkapitel der Einleitung.

Die Toxizität von Standardvakzinen wie z. B. MMR, wurde in den letzten Jahren gut untersucht, und eine sehr hohe Sicherheit bescheinigt. Toxizität und Sicherheit von HIV-Vakzinen konnten dagegen aufgrund geringer Fallzahlen in bisherigen Studien weit weniger genau untersucht werden. Bisher gibt es jedoch keine Publikationen, die schwere Toxizitäten im Zusammenhang mit der HIV-Vakzine beschreiben. Gilbert et al. [2003] untersuchten die Sicherheit von 62 HIV-Vakzine-Studien mit insgesamt 3189 Probanden mit verschiedenen Impfreimen, unter anderen mit rekombinierten Proteinen, Vektoren sowie DNA-Vakzinen. In dieser sehr detaillierten Studie konnte belegt werden, dass in keiner der untersuchten Studien - mit einer einzigen Ausnahme - Unterschiede der Nebenwirkungsrate zwischen Vakzine und Placebo nachweisbar waren. Es konnte auch keine Zunahme für Anaphylaxie, Autoimmunerkrankung oder Immundefunktion festgestellt werden. In einer Vakzine-Studie traten vermehrt

Abszesse auf, welche auf die „Freund“-Adjuvanz zurückzuführen war. Des Weiteren konnte dargestellt werden, dass die gute Verträglichkeit der Vakzinen unabhängig vom Alter der Probanden war [Gilbert et al., 2003].

Im Folgenden seien deshalb die Ergebnisse der beobachteten Reaktionen an den Versuchspersonen der wichtigsten HIV-Vakzine-Studien der Phasen II und III zusammengefasst. In allen Fällen handelt es sich um randomisierte Doppelblindstudien mit einer Placebo-Kontroll-Gruppe. Die folgenden Studien werden im Einzelnen näher analysiert:

- 1.) Die VAX 004 Studie wurde mit einer bivalenten Vakzine an 5400 Personen (davon über 90% männlichen Geschlechts) durchgeführt, die rekombinierte HIV-1 Glycoprotein 120 (rgp 120)-Antigene enthielt [Gilbert et al., 2005]. Die klinischen Untersuchungen fanden in Nordamerika und den Niederlanden statt..
- 2.) Die Step-Studie mit einer Adenovirus-Typ 5 (MRK Ad5) vektor-basierten Vakzine wurde in den USA, der Karibik, in Südamerika sowie Australien an rund 3000 Personen durchgeführt [Buchbinder et al., 2008].
- 3.) Die ALVAC- und AIDSVAX-Studie wurde an mehr als 12500 freiwilligen Probanden in Thailand durchgeführt [Rerks-Ngarm et al., 2009]. Die Placebo-Gruppe umfasste knapp 8200 Personen. Die große Zahl der teilnehmenden Personen ermöglichte viele Variablen mit hinreichend statistischen Gütewerten zu belegen.
- 4.) Die Vorgängerstudie EuroVacc02, die mit 40 Teilnehmern, eine eher geringe Aussagekraft hat.

Darüber hinaus gibt es eine Reihe von Phase I-Studien, die entweder als Vorläufer der oben genannten Studien dienten [z. B. Russel et al., 2007; Priddy et al., 2008; Gilbert et al., 2003] oder noch andere Vakzinen einer Studie der Phase I unterzogen [z. B. McCormack et al., 2008; Catanzaro et al., 2006]. Wenngleich die Nebenwirkungen in allen untersuchten Studien nicht gravierend waren, so gibt es doch einige Unterschiede, über die im Folgenden für die drei großen Phase III-Studien kurz berichtet werden soll.

1.) Die VAX 004 Studie

Die zentrale Veröffentlichung dieser Studie [Gilbert et al., 2005] berichtete keine Details über die Nebeneffekte der Vakzine, vielmehr wird über diese separat in einem weiteren Artikel in der gleichen Ausgabe der Zeitschrift berichtet [Flynn et al., 2005]. Die meisten

akutauf tretenden Reaktionen, wie z. B. Rötung, Schwellung und Schmerzen, waren von sehr geringer Ausprägung und waren bereits nach drei Tagen nicht mehr von Bedeutung. Die Häufigkeit der lokalen Symptome an der Injektionsstelle ist bei der Gruppe, die eine Vakzine erhielt höher als bei der Placebo-Gruppe. Zu diesen lokalen Symptomen kommen neben subkutanen Knoten bei 21% auch Verhärtung bei 29% und lokale Ödeme bei 36% der Geimpften. Damit traten die lokalen Reaktionen bei den Geimpften fast doppelt so häufig auf wie bei der Placebo-Gruppe. Andere Unterschiede zwischen den Geimpften und der Placebo-Gruppe wurden nicht festgestellt. Die Studienabbrecher waren in der Hochrisikogruppe und der Kontrollgruppe mehr als in der Vakzinengruppe, so dass die Abbrecherrate eher von der Risikogruppe als von der Vakzine abhängig zu sein scheint [rgb120 HIV Vaccine Study Group, 2005].

2.) Die Step-Studie mit einer Adenovirus-Typ 5 (MRK Ad5) vektor-basierten Vakzine

Bei den lokalen Wirkungen meldeten etwa die Hälfte der Geimpften Schmerzen an der Injektionsstelle. Fast ein Viertel der Geimpften gaben Kopfschmerzen an. Im Vergleich dazu waren die Reaktionen bei der Placebo-Gruppe mit 21 % (Schmerz) und 18% (Kopfschmerz) etwas geringer. Von den 40 ernsthaften Reaktionen konnten nur zwei mit hohem Fieber auf die Vakzine zurückgeführt werden [Priddy et al., 2008].

Auch in dieser Step-Studie war die Berichterstattung zur Toxizität recht knapp, so dass hier die Ergebnisse der vorausgegangenen Phase I und II der Studien herangezogen werden.

Priddy et al. [2008] berichten über die unterschiedlichen Reaktionen bei insgesamt knapp 250 Teilnehmern bezüglich des Einflusses der Konzentration der Vakzine zwischen 3×10^6 bis 10^{11} viralen Partikeln. Die Häufigkeiten der lokalen und systemischen Reaktionen waren bei Konzentrationen zwischen 3×10^6 bis 3×10^8 gleich denjenigen in der Placebo-Gruppe. Aber bei den beiden höchsten Konzentrationen (3×10^{10} und 10^{11}) waren sowohl die lokalen Reaktionen (Schmerz, Rötung, und Schwellung) als auch die systemischen Reaktionen (Fieber, Kopfschmerz, Abgeschlagenheit und auch Brechreiz) häufiger. Die mittlere beobachtete Temperatur von 35 Personen dieser aus 38 Personen bestehenden Gruppe (d. h. von 92 %) lag bei $38,9^\circ\text{C}$. Die Häufigkeit der lokalen Reaktionen blieb bei jeder nachfolgenden Injektion ziemlich konstant, während die Häufigkeit der systemischen Reaktionen im Allgemeinen in der Folge der Injektionen abnahm. Teilnehmer mit geringen Grundtitern von anti-Ad5 entwickelten häufiger systemische Reaktionen im Vergleich zu Teilnehmern mit hohen Grundtitern von anti-Ad5 [Priddy et al., 2008].

3.) Die ALVAC- und AIDSVAX-Studie (Phase III)

Die meisten lokalen und systemischen Reaktionen auf die Vakzine waren gering bis moderat und bestätigten die Ergebnisse zu Fragen der Toxizität dieser Vakzine, über die bereits in den entsprechenden vorangegangenen Phasen berichtet worden war [Russel et al., 2007; Nitayaphan et al., 2004; Gupta et al., 2002; Belshe et al., 2001]. Die als gering bis moderat bewerteten Toxizitäten waren drei Tage nach der Vakzination nicht mehr gegeben [Rerks-Ngarm, 2009]. Mindestens ein anhaltendes Ereignis („adverse event“) wurde in 69,4 % der Personen in beiden Teilnehmergruppen (Vakzine und Placebo) beobachtet, allerdings wurden darüber in der Veröffentlichung keine weiteren Angaben gemacht.

Die Zahl der letalen Fälle und die Häufigkeit und Schwere von nachteiligen und schwerwiegenden Ereignissen war in beiden Gruppen gleich, d. h. invariant gegenüber der Vakzine und ist somit auf andere Ursachen zurückzuführen.

In den vorangegangenen Phase I- und Phase II-Studien dieser Vakzine wurden zum Teil etwas ausführlichere Informationen über die beobachteten Toxizitäten gegeben, wenngleich deren Aussagekraft bei der geringeren Teilnehmerzahl statistisch weniger abgesichert ist. Beispielsweise berichten

- Nitayaphan et al. [2004] bei 122 Teilnehmern über vier nachteilige Ereignisse, die auf die Vakzine zurückgeführt wurden, davon zwei Fälle von Myalgie, einen Fall von Juckreiz und einen Fall von Ausschlag. Andere besondere Ereignisse waren nicht auf die Vakzine zurückzuführen.

- Russell et al. [2007] berichten bei einer Gruppe von 305 Teilnehmern über eine gute Toleranz der beiden vCP1452 und rgp120-basierten Vakzinen mit vier verschiedenen Konzentrationen. Allerdings hatten zwei Geimpfte erhebliche Schmerzen bzw. Hautspannen an der Injektionsstelle, die nach 24 bzw. 72 Stunden völlig verschwunden waren. Der Vergleich zwischen den Geimpften und der Placebo-Gruppe zeigte eine signifikant erhöhte Reaktion der Geimpften bei Schmerzen, Hautrötung und Dauer der Nebenwirkungen bei den ALVAC-Geimpften, aber nicht für die rgp 120-Injektion. Die systemischen Reaktionen (Unwohlsein, Myalgie, Kopfschmerz, Brechreiz und Fieber) waren in aller Regel sehr gering, wenngleich es sechs Geimpfte gab, die über merkbare systemische Nebenwirkungen berichteten, die dann ein bis fünf Tage nach der Impfung abgeklungen waren.

- Belshe et al. [2001] berichten über ihre Phase II-Studie mit 435 Teilnehmern zu den Nebenwirkungen des Canarypox Vektors in zwei Vakzinen (vCP205 und vCP205_gp120) ähnliche Beobachtungen wie Russell et al. [2007]: geringer

Schmerz oder Hautspannen und Hautrötung oder Verhärtung wurden signifikant häufiger bei den mit ein oder zwei Vakzinen Geimpften beobachtet als bei der Placebo-Gruppe. Bei einer Vakzine war ein signifikanter Unterschied bzw. Schmerz und Hautspannen zwischen dem rechten und linken Arm (links stärker).

Schwere systemische Wirkungen oder hohes Fieber waren ungewöhnlich. Allerdings wurden von neun Personen erhebliche systemische Symptome gemeldet (Unwohlsein, Myalgie, Brechreiz und/oder Kopfschmerzen) mit scheinbar größerer Häufigkeit bei der höchsten Konzentration (vier Personen) und mit gleicher Verteilung auf die beiden Vakzine-Typen mit vier bzw. fünf Meldungen. Geringe systemische Reaktionen wurden etwas mehr bei geimpften Personen als bei der Placebo-Gruppe beobachtet.

Keiner der Teilnehmer zeigte erhebliche lokal und systemisch Reaktionen. Außerdem war keine signifikante Korrelation zwischen Dosissteigerung und der Reaktionsintensität von lokalen oder systemischen Reaktionen zu beobachten.

- Schließlich seien die Beobachtungen von Gupka et al. [2004] mit 150 Testpersonen erwähnt. Es wurden 20 leichte Reaktionen beobachtet, die man der Vakzine zuordnen könnte. Es gab acht erhebliche Reaktionen (3. Grad) bei den geimpften Personen, wovon aber nur zwei Fälle der Vakzine zugeordnet werden konnten (Fieber und Tendinitis an der linken Schulter). Nimmt man jeweils die stärksten Reaktionen über die Gesamtlaufzeit der Studie, dann gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Geimpften und der Placebo-Gruppe.

5.) Die EuroVacc02-Studie (EV02)

In der vorhergegangenen Studie EV02 wurden ebenfalls zwei Impfstrategien auf ihre Immunogenität sowie auch ihre Toxizität untersucht. 40 Probanden wurden in die Studie eingeschlossen, von denen 23 Probanden eine DNA + NYVACC, und 17 nur NYVACC als Impfung verabreicht bekamen. Nebenwirkungen wurden mittels eines Probandentagebuches ermittelt.

Bei vier Probanden gab es Nebenwirkungen vom Schweregrad drei und vier, wovon nur eine GPT-Erhöhung als wissenschaftlich signifikant gewertet wurde. Des Weiteren waren Schwellung, Verhärtungen mit Erythem, Myalgie und Fieber als Schweregrad drei aufgetreten. Die Myalgie trat bei einem Probanden in der DNA-NYVACC Gruppe auf und führte zu eingeschränkter Armbewegung, und der Proband musste regelmäßig stärkere Analgetika einnehmen [McCormack et al., 2007].

Hundert Prozent der Probanden der DNA-NYVAC-Gruppe zeigten mindestens eine dokumentierte Nebenwirkung. Diese waren jedoch größtenteils milde und begrenzten sich auf lokale Symptome, wie Schmerzen und Erythem. Die Studie zeigte keinen signifikanten Unterschied der Lokalreaktionen in der DNA-NYVAC-Gruppe nach den jeweiligen Impfungen, also unabhängig ob eine DNA-Impfung oder eine NYVAC-Impfung verabreicht wurde.

75% der Probanden dokumentierten systemische Nebenwirkungen, wie Unwohlsein und Kopfschmerzen. Zwischen der DNA-NYVAC-Gruppe und der reinen DNA-Impfgruppe konnte diesbezüglich kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Diese systemischen Nebenwirkungen dauerten im Median nur einen Tag an, nur zwei Nebenwirkungen dauerten über sieben Tage.

Darüber hinaus wurde in der EV02 Studie untersucht, ob die Impfung Auswirkungen auf Laborwerte haben könnte. Ein Proband aus dem DNA-NYVAC-Impfregime zeigte am ersten Tag nach der ersten DNA-Impfung eine GPT-Erhöhung von 402 IU/ml. Dies entspricht dem Grad vier. Sieben Tage später war die GPT wieder auf 65 IU/ml abgefallen und nach 13 Tagen im Normalbereich. Dieser Proband hatte jedoch bereits bei der Screening-Untersuchung in einem Labor eine erhöhte GPT von 114 IU/ml gezeigt, was mit einem viralen Infekt erklärt wurde. Man schloss daraus, dass diese Leberenzymerrhöhung durchaus mit der Impfung in Verbindung gebracht werden könnte.

Darüber hinaus wurden fünf weitere Laborveränderungen festgestellt, welche den Grad zwei erreichten. Drei Probanden entwickelten einen Lymphozytenabfall (einer aus dem DNA-NYVAC-Impfregime, zwei aus dem NYVAC-Impfregime). Ein Proband zeigte eine Hyperbilirubinämie (DNA-NYVAC-Impfregime) und ein weiterer eine Hyperglykämie (DNA-NYVAC-Impfregime). Insgesamt wurden 50 Laborveränderungen des Grades eins dokumentiert: diese waren bei 16 Probanden ein Lymphozytenabfall, bei 6 Probanden eine Hyperbilirubinämie, bei fünf Probanden eine erhöhte GOT sowie bei vier eine erhöhte GPT. Zur Serologie wurden die antinukleären Antikörper untersucht: in der vierten Woche zeigte ein Proband aus dem NYVAC-Impfregime und in der 18. Woche fünf (drei aus DNA-NYVAC-Impfregime, zwei aus NYVAC-Impfregime), sowie in der 30. Woche einer aus dem DNA-NYVAC-Impfregime Antinukleäre Antikörper. Bei allen Probanden - bis auf einen - ließen sich in der 48. Woche keine antinukleären Antikörper mehr nachweisen [McCormack et al., 2007.]

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die lokalen und systemischen Nebenwirkungen meist gering bzw. moderat waren, nur bei einem Teil der Probanden auftauchten und nach einem bis wenigen Tagen wieder abgeklungen waren. In vielen

Fällen zeigten sich meist geringe Abweichungen von der Placebo-Gruppe, soweit diese in den Studien vorhanden war. Allerdings war bei bestimmten Vakzinen und bei sehr hohen Konzentrationen der Vakzine ein Unterschied der Toxizität zwischen der Gruppe der Geimpften und der Placebo-Gruppe feststellbar. Reaktionen dritten Grades waren sehr selten, häufig auch auf andere Ursachen zurückzuführen.

2 Fragestellung und Zielsetzung der Dissertation

Die in dieser Arbeit untersuchte Studie wurde durchgeführt, um die Sicherheit und auch die Wirksamkeit einer Vakzine gegen HIV zu untersuchen.

Die hier untersuchte Impfstudie ist eine Teilstudie der EuroVacc03-Studie, welche an acht europäischen Standorten durchgeführt wurde. Diese Orte waren neben Lausanne, London, Paris, Marseille, Toulouse, Tenon, auch Regensburg. Insgesamt wurden 147 Teilnehmer in die Studie eingeschlossen. Zwei verschiedene Impfschemata wurden untersucht.

Zentrales Ziel der vorliegenden Dissertation ist,

- die Verträglichkeit bzw. akuten kurzfristigen Nebenwirkungen der HIV-Vakzine im Rahmen der EuroVacc03-Studie in den ersten 6 Monaten nach der Impfung empirisch zu prüfen sowie
- mögliche Korrelationen von beobachtbaren Nebenwirkungen zu identifizieren (einschließlich des denkbaren Einflusses bei den verschiedenen Impfregimen oder deren zeitliche Abfolge selbst).

Damit soll die vorliegende Arbeit die bisherigen Kenntnisse bezüglich der Verträglichkeit bzw. der akuten Toxizitäten einer auf DNA-basierenden HIV-Vakzine weiter vertiefen und leistet somit einen Beitrag in der HIV-Vakzinen-Forschung.

3 Methodisches Vorgehen und Probanden

Das methodische Vorgehen der Studie leitet sich aus den Vorgaben und Hypothesen des Studienprotokolls ab. Schließlich erfolgte eine Auswertung der lokalen und systemischen Nebenwirkungen mit den Methoden der beschreibenden Statistik. In dieser Arbeit gab es keine Placebo-Gruppe. Weiterhin gab es zwar labortechnische Untersuchungen und Ergebnisse, die aber in dieser Arbeit nicht weiter analysiert wurden, da diese keine schweren Toxizitäten widerspiegelten.

3.1 Vorbereitung

Die hier durchgeführten Arbeiten sind in die Phase I/II von klinischen Prüfungen einzuordnen, in der die EuroVacc03-Vakzine an gesunden Probanden auf spontane, toxische Nebenwirkungen und immunologische Wirksamkeit geprüft wird.

Der Antrag zur Gesamtstudie wurde von der Ethik-Kommission der Universität Regensburg genehmigt. Alle ethischen Prinzipien sind in den einzelnen Arbeitsschritten aufgegriffen (z. B. Aufklärung, Einverständniserklärung und Widerrufsrecht der Probanden, Aufzeichnung der Ergebnisse anhand von Versuchsprotokollen).

3.2 Probandengewinnung

Die Suche nach Probanden war durch die Auflagen der Ethik-Kommission auf schriftliche Aushänge in der Universität, im Universitätsklinikum und anderen Krankenhäusern in Regensburg beschränkt. In der Ausschreibung wurden das Ziel der Studie, die Bedeutung der Bekämpfung von HIV / AIDS und der Zeitpunkt der Informationsveranstaltung sowie eine Kontaktperson angegeben, des Weiteren, dass nur freiwillige HIV-negative Probanden in Betracht kamen, die geimpft werden und in den darauf folgenden Tagen mögliche Nebenwirkungen aufzeichnen sollten.

Die Probanden hatten bei einem Informationsabend die Möglichkeit, einen ersten Eindruck über die Ziele und das methodische Vorgehen der Studie zu gewinnen, und wurden für den Zeitaufwand der Studie von 18 Monate (mit insgesamt 15 Terminen, davon vier Impfungen), das jederzeitige Widerrufsrecht, den Abbruch der Impfungen bei Eintritt unvorhersehbarer negativer Wirkungen sowie über die Aufwandsentschädigung von 1000 Euro pro Proband informiert. Nach dieser Einführung konnten die teilnehmenden Probanden in einem persönlichen Gespräch weitere Fragen stellen und wurden über den genauen weiteren Ablauf der Studie aufgeklärt. Dieses Gespräch

wurde schriftlich dokumentiert. Die Teilnahme der Probanden erfolgte auf rein freiwilliger Basis.

Nach einer weiteren Bedenkzeit konnte der Proband den Studienbedingungen zustimmen. Daraufhin erfolgte die Einladung zu einem ersten Untersuchungstermin, bei dem der weitere Studienablauf mit dem „Investigator’s guide“ festgelegt wurde (siehe Anhang).

An dem ersten Termin wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

- ein Eignungsgespräch mit einem formalen Interviewbogen (Screening Questions von EUROVACC,EVO31/ANRSVac20, Form 0),
- Laboruntersuchungen: Blutuntersuchung (Differentialblutbild, Transaminasen, Alkalische Phosphatase, Bilirubin, Kreatinin, Glukose, Antinukleare Antikörper, Immunglobuline IgG, IgM und IgA, Immunstatus mit CD4- und CD8-positiven Zellen), Serologie (Anti-HIV-Antigen, Anti-HAV-IgM, HBs-Ag, Anti-HCV, TPPA), Urinstatus und bei den weiblichen Probanden ein Schwangerschaftstest.

Die Aufteilung der beiden Gruppen nach dem Geschlecht war im durchschnitt 61 % zugunsten des männlichen Geschlechts nicht ganz ausgeglichen. Das Alter der Probanden lag zwischen 21 und 50 Jahren. Das Durchschnittsalter der Gruppe 1 war mit 29 Jahren um fünf Jahre geringer als das der Gruppe 2.

Tabelle 3.1. Grundlegende Merkmale der Gruppe 1 und 2.

	DNA + NYVAC (1/2) Gruppe 1	DNA + NYVAC (2/2) Gruppe 2	Total
Weiblich	3 (43 %)	2 (33 %)	5 (39 %)
Männlich	4 (57%)	4 (67 %)	8 (51 %)
Alter (in Jahren)	29 (21-40)	34 (23-50)	31,3 (21-50)

3.3 Durchführung und Dokumentation der Studie

Die in dieser Studie angewandten Vakzinen wurden bereits in der EuroVacc02-Studie verwendet. Es handelt sich um einen DNA-C-Impfstoff, der unter Mitwirkung der Universität Regensburg entwickelt wurde um eine Immunantwort gegen HIV-1 auszulösen. Dieser Impfstoff besteht aus einer äquimolaren Zusammensetzung zweier rekombinanter Plasmide, die beide den gleichen Hauptbaustein haben: pORTaCMVgp120 und pORTaCMVGPN. Die DNA beider Plasmide wurde von dem in China verbreiteten HIV R5 CRF_07 BC (97CN54) isoliert. Das Plasmid pORT1aCMVgp120 beinhaltet das Gen *env*, welches das HIV-Hüll-Protein gp120 kodiert. Das andere Plasmid pORT1aCMVGPN dagegen verschlüsselt das Gag-Pol-Nef-Polyprotein.

Zwei verschiedene Impfschemata (siehe Abbildung 3.1) wurden untersucht, wobei die Probandengruppe 1 dreimalig ein DNA-C-Priming und einmalig ein NYVAC-Boost erhielt, weshalb sie auch mit 3/1 gekennzeichnet wird. Die Gruppe 2 erhielt nur zweimal ein DNA-C-Priming und zweimal ein NYVAC-Boost und wird somit auch mit 2/2 gekennzeichnet. Der Übersichtlichkeit wegen werden diese in den folgenden Abschnitten nur mit Gruppe 1 und Gruppe 2 beschrieben.

Diese Folgestudie wurde konzipiert um die Sicherheit, sowie auch die Immunogenität der beiden verschiedenen Impfreime zu untersuchen [Levy et al., 2010].

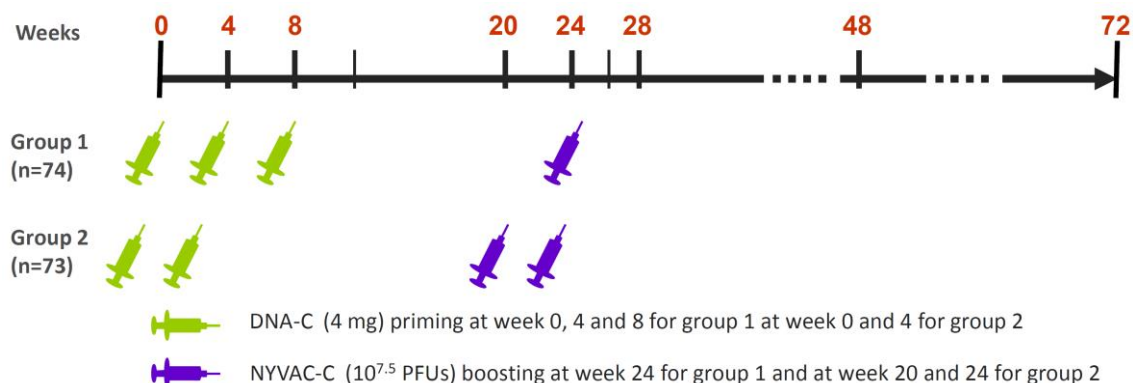


Abbildung 3.1. Impfreime der beiden untersuchten Gruppen im Vergleich in der Eurovacc02 Gesamtstudie [Levy et al., 2010].

Zusätzlich wurden die Probanden nach den Impfterminen nochmals zu Kontrollterminen gebeten. Diese erfolgten in den Wochen 26, 28, 48 und 72. Bei diesen Terminen wurde der Proband körperlich untersucht, zu zwei Terminen wurde

auch Blut abgenommen, um einen HIV-Test durchzuführen sowie die hämatologischen Parameter als auch DNA-ANA Antikörper und die CD4-positiven Zellen zu bestimmen.

3.4 Probandentagebuch

Jeder Proband wurde angewiesen, in den sieben Tage nach einer der Impfungen ein vorgefertigtes Tagebuch auszufüllen, das nach einer vorgegebenen Struktur täglich dokumentiert werden sollte (siehe Anhang). Bei den zu beobachtenden Symptomen wurden zwei Gruppen unterschieden:

a.) Lokale Symptome

Schmerzen an der Einstichstelle, Jucken oder Hautreizung, Rötung/Entfärbung, Bläschen;

b.) Allgemeine Symptome

Hitzewallung / Schütteln, Krankheitsgefühl / Abgeschlagenheit, generalisierter Muskelschmerz, Kopfschmerz, Übelkeit, Erbrechen, allergische Reaktion.

Diese Symptome wurden in vier Intensitätsgrade eingeteilt, z.B. bei Schmerzen im Muskel, in den die Injektion erfolgte, oder bei Pruritus bzw. Hautreizung an der Einstichstelle (siehe Anhang), wobei der vierte Grad - „sehr schwer“ - immer eine stationäre Aufnahme nach sich zog.

Die Tagebücher wurden jeweils mit einer pseudonymisierter Probandennummer gekennzeichnet, deren Verschlüsselung vertraulich aufbewahrt wurde, um eine Rückidentifikation seitens Dritter auszuschließen.

Die insgesamt 52 Tagebücher der 13 Probanden wurden mit Methoden der deskriptiven Statistik und mit Hilfe von Microsoft Excel Version 2010 ausgewertet.

Die unterschiedliche Zahl der beiden Gruppen (Gruppe 1 mit sieben Probanden und Gruppe 2 mit sechs Probanden) kann bei unmittelbarem Vergleich der beobachteten Reaktionen zu einem systematischen Fehler führen. Deshalb wurden in der vorliegenden Arbeit die Ergebnisse aus der kleineren Gruppe 2, die in Prozentzahlen angegeben wurden, mit einem Korrekturfaktor (von 7/6) bereinigt.

3.5 Labortechnische Auswertungen

Im Rahmen der Studie wurde den Probanden zu zuvor festgelegten Terminen venöses Blut entnommen, um einerseits potentielle toxische Nebenwirkungen frühzeitig zu erkennen und um andererseits die Immunantwort der Probanden zu detektieren.

a.) Es wurde ein konventionelles Labor (Blutbild und Differentialblutbild) mit folgenden zusätzlichen Parametern bestimmt: CD8-positive T-Helferzellen, Antikörper-Titer, Leberenzyme (in den Wochen: 1, 5, 8, 12, 22, 26, 28, 48, 72).

b.) Um die Immunantwort der beiden Impfreime vergleichen zu können, wurde ein ELISPOT (Enzyme Linked Immuno Spot Assay) an 8 Terminen des Studienverlaufes durchgeführt. Bei diesem Verfahren werden Immunzellen des Probanden mit Antigen des HIV inkubiert. Mittels eines besonderen Verfahrens kann die Freisetzung von INF- γ und Antikörpern detektiert werden. Ein Farbstoffsubstrat umsetzendes Enzym, welches an einen zweiten Antikörper gekoppelt ist, ermöglicht es, die Zytokine als kleine Punkte sichtbar zu machen. Mittels einer computergestützten Kamera lässt sich die Intensität automatisch bestimmen, und diese korreliert mit der Quantität des INF- γ . Diese Laboruntersuchung wurde in dieser Studie in Lausanne durchgeführt.

c.) Serokonversion im ELISA HIV-Test

Eine mögliche Korrelation der labortechnischen Auswertungen mit individuellen Merkmalen der Probanden (z. B. Aufklärungsstatus, Sozialer Status, Adipositas, Allergiker) wurde nicht weiter verfolgt, da signifikante Aussagen wegen der geringen Zahl der Probanden nicht möglich sein würden.

4 Ergebnisse

In der Zeitspanne von Dezember 2007 bis Mai 2008 konnten in der Klinik der Universität Regensburg 13 Probanden für die EuroVacc03-Studie gewonnen werden. Hiervon waren (siehe Tabelle 4.1):

- sechs Personen weiblich und sieben Personen männlich,
- sieben Personen waren im Alter von 20 bis 30 Jahre. Diese Gruppe bestand zum großen Teil aus Studenten;
- vier Personen waren im Alter 30-40 Jahren und zwei im Alter über 40 Jahre. Diese Gruppe bestand zum größten Teil aus Angestellten.

Tabelle 4.1. Anzahl der Probanden nach Geschlecht und Altersgruppen.

	20 bis 30 Jahre	31 bis 40 Jahre	älter als 40 Jahre	Total
Weiblich	3	2	1	6
Männlich	4	2	1	7
Insgesamt	7	4	2	13

Im ersten Unterkapitel werden die akuten Nebenwirkungen, getrennt nach lokalen und systemischen Reaktionen beschrieben. Im Anschluss daran werden die Ergebnisse zu den vier Impfterminen nochmals differenziert.

4.1 Aufgezeichnete Nebenwirkungen

Zuerst wird auf die Lokalreaktionen, dann auf die systemischen Reaktionen, die jeweils nach den Impfungen auftraten, eingegangen. Anschließend wird die Häufigkeitsverteilung der Symptome der 13 Probanden nach den insgesamt 52 Vakzinationen dargestellt.

Insgesamt wurden nur Reaktionen ersten (mild) und zweiten (mäßig) Schweregrades von den Probanden aufgezeichnet. Keiner der 13 Probanden musste wegen einer Akutreaktion einen Arzt konsultieren und keiner brach die Studie ab. Alle 52 Impfungen wurden durchgeführt und lediglich ein Tagebuch (Proband 3 nach der dritten Impfung) wurde aufgrund von Vergesslichkeit des Probanden nicht geführt. Die „Postvaccination checks“ und „follow up visits“ wurden bis auf wenige Ausnahmen wahrgenommen.

4.1.1 Lokale Reaktionen

Die Lokalreaktionen wurden von den Probanden in den ersten sieben Tagen nach jeder Impfung eigenständig festgehalten. In den Abbildungen 4.1 bis 4.6 sind diese summarisch für jeden Probanden graphisch dargestellt. Schmerz, Pruritus und Rötung wurden von über 25% der Probanden genannt, während andere lokale Reaktionen, wie Bläschen nur von zwei Probanden dokumentiert wurden.

- Schmerz an der Einstichstelle wurde in den Tagebüchern der Gruppe 1 von 57% und in denen der Gruppe 2 von zwei Dritteln der Probanden dokumentiert. Schmerzen von Grad 1 (mild) wurden in Gruppe 1 28-mal und in der Gruppe 2 35-mal mal dokumentiert. Schmerzen vom Grad 2 (mäßig) wurden nur von einem Probanden dokumentiert (siehe Abbildung 4.1).

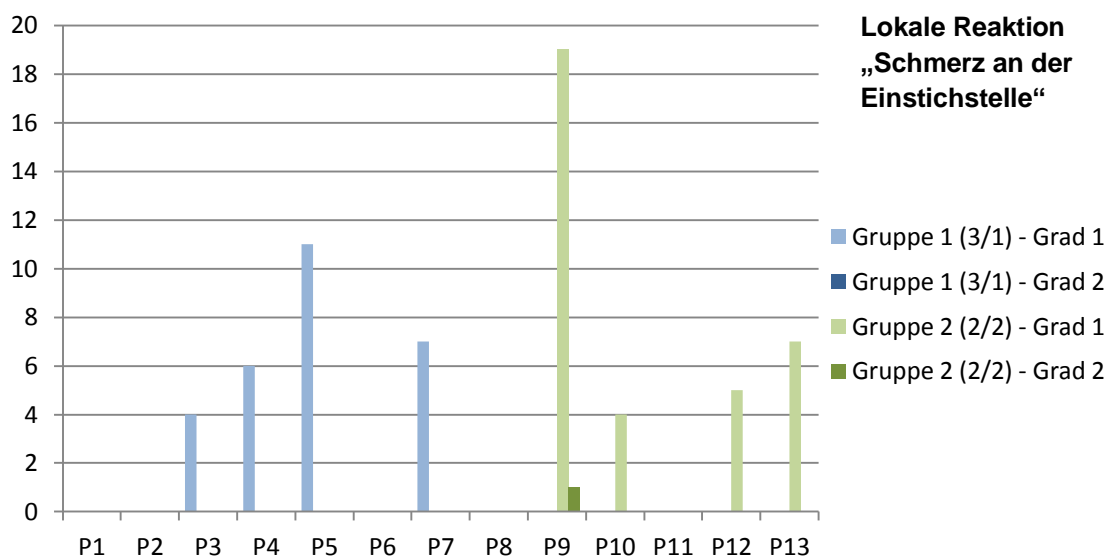


Abbildung 4.1. Lokale Reaktion „Schmerz an der Einstichstelle“ (Anzahl der Nennungen): Angaben der einzelnen Probanden (P1 - P13) nach Grad 1 und 2.

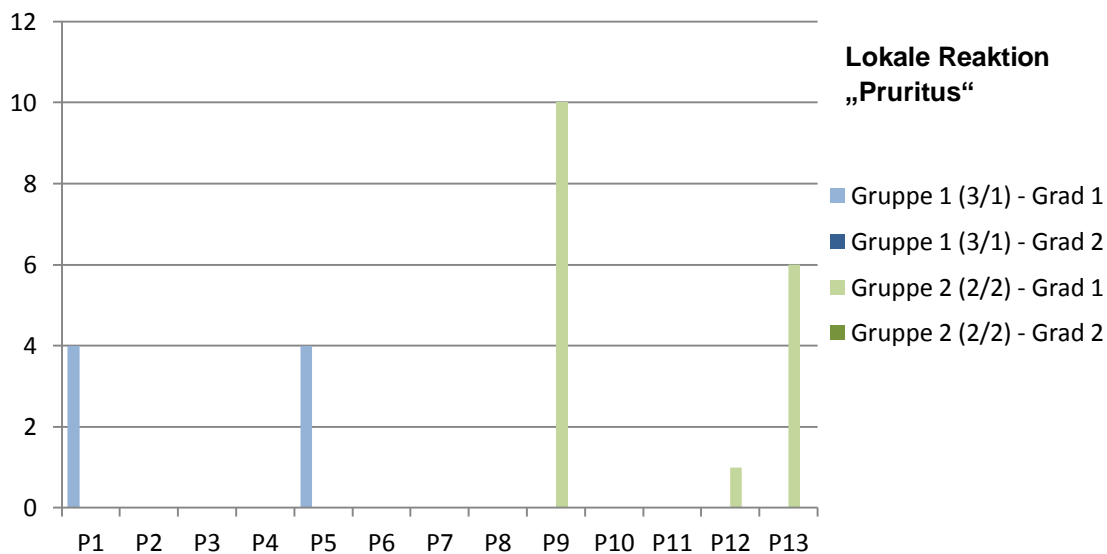


Abbildung 4.2. Lokale Reaktion „Pruritus“ (Anzahl der Nennungen): Angaben der einzelnen Probanden (P1 - P13) nach Grad 1 und 2.

- Pruritus wurde in Gruppe 1 von 29 % und in Gruppe 2 von 50 % der Probanden angegeben, jeweils Grad 1, dabei verteilte sich das Vorkommen von Jucken 8-mal auf Gruppe 1 und 17-mal auf Gruppe 2 (siehe Abbildung 4.2).
- Rötungen wurden in Gruppe 1 von 57 % und in Gruppe 2 von 17 % der Probanden beobachtet, wiederum nur in Grad 1, davon 26-mal in Gruppe 1 und 8-mal in Gruppe 2 (siehe Abbildung 4.3).

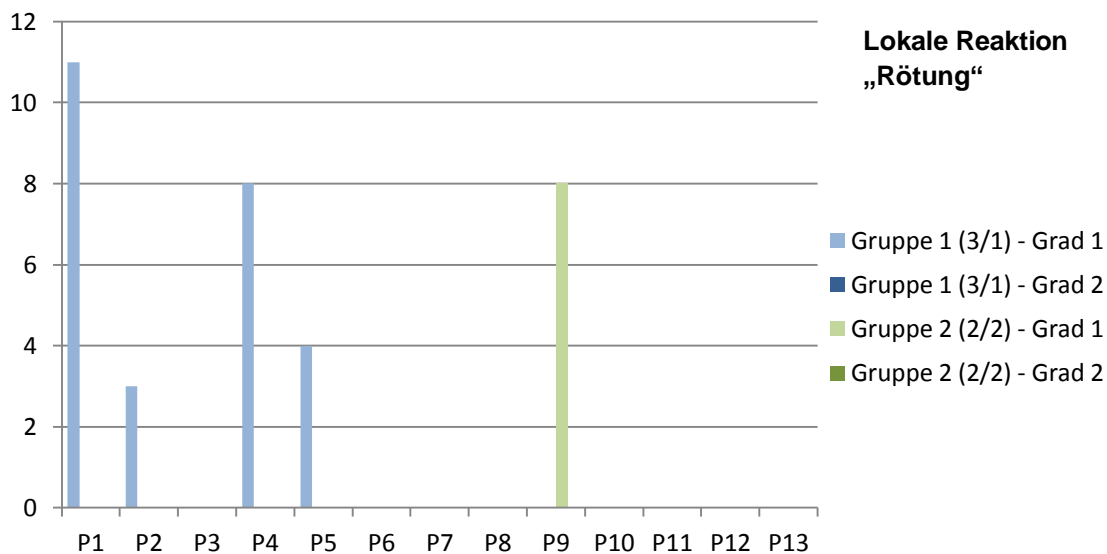


Abbildung 4.3. Lokale Reaktion „Rötung“: Nennungen der einzelnen Probanden (P1-13) nach Grad 1 und 2.

- Bläschen sowie blutige Bläschen wurden nur von Proband 9 genannt, und zwar 7-mal jeweils in Grad 1.
- Harte Schwellungen traten bei 29 % der Probanden in Gruppe 1 und zu 17 % in Gruppe 2 auf. In Gruppe 1 waren fünf Beobachtungen und in Gruppe 2 sogar 11 Beobachtungen, wiederum nur von einer Person (Proband 9).

Insgesamt wurden von den 13 Probanden 164 lokale Reaktionen gemeldet, davon 68 seitens der Gruppe 1 (davon 64 von Grad 1 und 4 von Grad 2) und 96 Reaktionen seitens der Gruppe 2 (davon 94 von Grad 1 und zwei von Grad 2).

4.1.2 Systemische Reaktionen

In den Probandentagebüchern wurden systemische Reaktionen weniger oft genannt als Lokalreaktionen. Insgesamt wurden 53 Reaktionen dokumentiert. Dabei nannten 46 % aller Probanden eine oder mehrere systemische Reaktionen. In Gruppe 1 zeigten 57 % und in Gruppe 2 ein Drittel der Probanden eine systemische Reaktion. Keiner der Probanden zeichnete nach den Impfterminen eine erhöhte Temperatur auf. Krankheitsgefühl und Abgeschlagenheit wurden in beiden Gruppen genannt, davon zweimal vom Grad 2 (mäßig; siehe Abbildung 4.4).

- Hitzewallungen und Schüttelfrost wurde in beiden Gruppen jeweils zweimal genannt (jeweils vom Grad 1).

- Generalisierter Muskelschmerz wurde nur in Gruppe 2 dokumentiert; davon 11-mal vom Grad 1 und zweimal vom Grad 2.

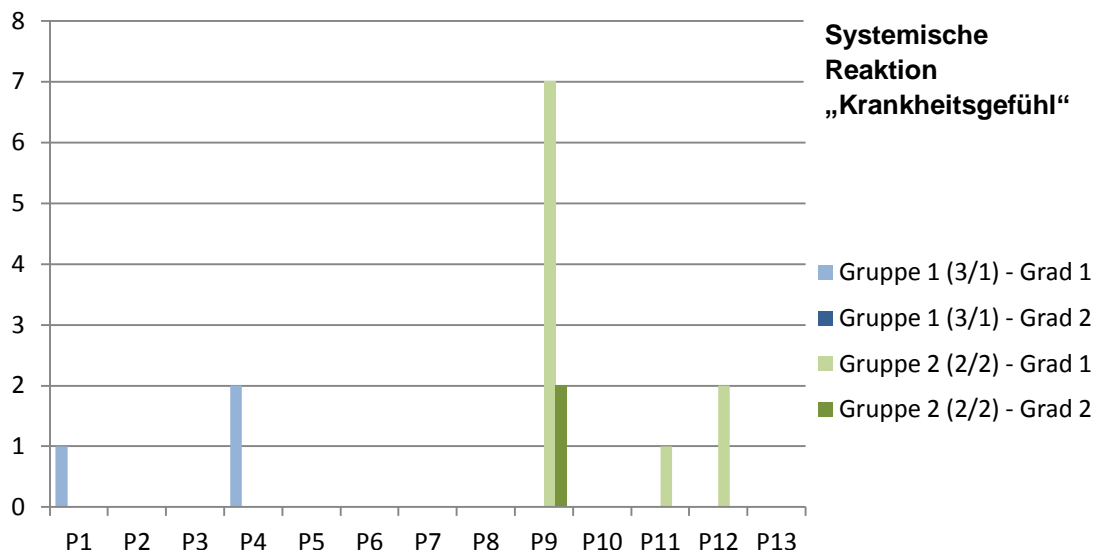


Abbildung 4.4. Systemische Reaktion „Krankheitsgefühl“: Nennungen der einzelnen Probanden (P1-13) nach Grad 1 und 2.

- Kopfschmerzen wurden von 14 % der Probanden der Gruppe 1 und von 50 % der Probanden der Gruppe 2 genannt. Die Kopfschmerzen wurden nur einmal in Gruppe 1 und 4-mal in Gruppe 2 von Grad 1 und in Gruppe 2 3-mal vom Grad 2 genannt.
- Übelkeit und Erbrechen traten nur in Gruppe 2 auf; Übelkeit 3-mal vom Grad 1 und einmal vom Grad 2; Erbrechen jeweils einmal vom Grad 1 und einmal vom Grad 2.

Eine Medikation war nur einmal in Gruppe 2 in Verbindung mit einer potentiellen Impfreaktion eingenommen. Die Medikation bestand aus 1g Acetylsalicylsäure sowie einem Eisenpräparat 80 mg pro Tag wegen einer bekannten Eisenmangelanämie.

4.1.3 Akutreaktionen der beiden Impfreime im Vergleich

Im Vergleich des Impfreimes der Gruppe 1 (3 DNA-/1 NYVAC-Vakzine) zum Impfreime der Gruppe 2 (2 DNA-/2 NYVAC-Vakzine) fallen folgende Unterschiede auf:

- In allen Reaktionen, außer bei der Rötung, überwiegt die Gruppe 2 in der Anzahl der genannten Reaktionen. Bei den lokalen Reaktionen liegen die Reaktionen in der Gruppe 2 mit 96 Reaktionen um 40 % höher als diejenigen der Gruppe 1 (68 Reaktionen). Bei den systemischen Reaktionen ist der Unterschied mit 49 Reaktionen für Gruppe 2 und vier bei Gruppe 1 noch deutlicher.
- Dieser Unterschied zeigt sich auch an dem Anteil der Personen und des Reaktionsgrades. Bei Gruppe 2 wird von jeweils 17 % der Probanden (eine Person) bei insgesamt sieben Symptomen der Grad 2 angegeben, bei der Gruppe 1: keine Meldung (siehe Abbildung 4.5). Bei vier Symptomen des Grades 1 erreicht der Anteil meldender Probanden 50 % der Gruppe 2, während der Anteil bei Gruppe 1 nur bei zwei Symptomen erreicht wird.
- Rötung an der Einstichstelle wird von Proband 1 (11 Mal) und Proband 4 (acht Mal) genannt. Dabei ist innerhalb der Gruppe keine eindeutige Korrelation zwischen DNA- oder NYVAC-Vakzine zu erkennen (vgl. Abschnitt Ergebnisse im Längsschnitt der Vakzinations-Termine).

Zudem ist hier zu beachten, dass der größte Anteil aller Reaktionen von Proband 9 in Gruppe 2 mit 41 Reaktionen dokumentiert wurde (16 lokale und 25 systemische Symptome).

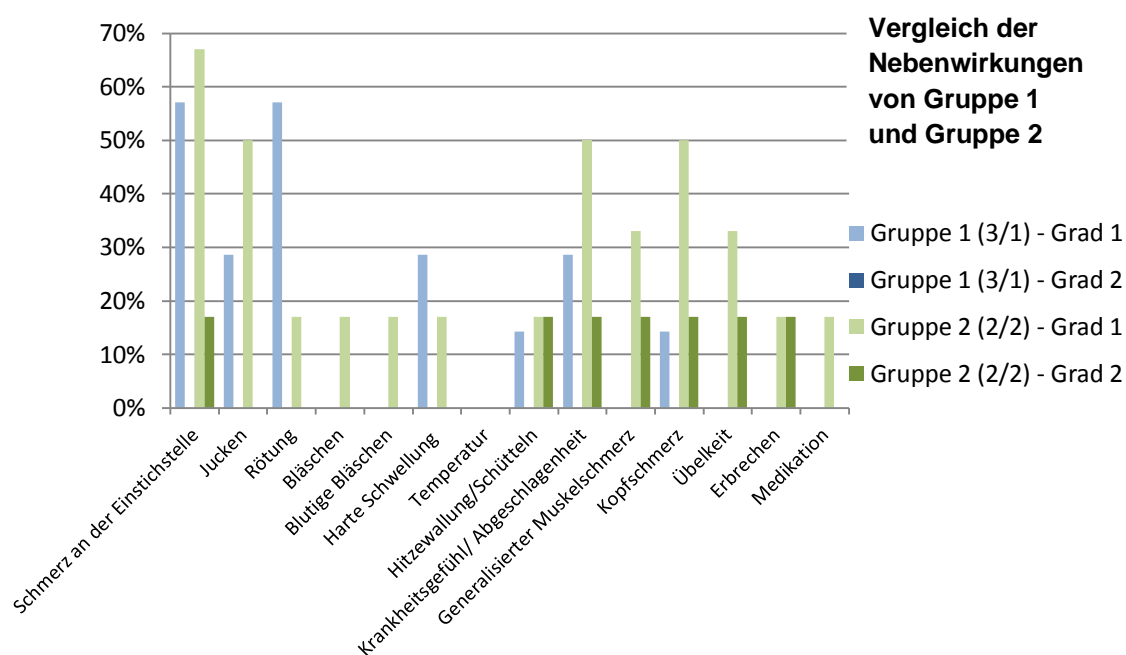


Abbildung 4.5. Anteile der Probanden mit lokalen und systemischen Nebenwirkungen (Angaben in Prozent) in Gruppe 1 (n = 7) und Gruppe 2 (n = 6).

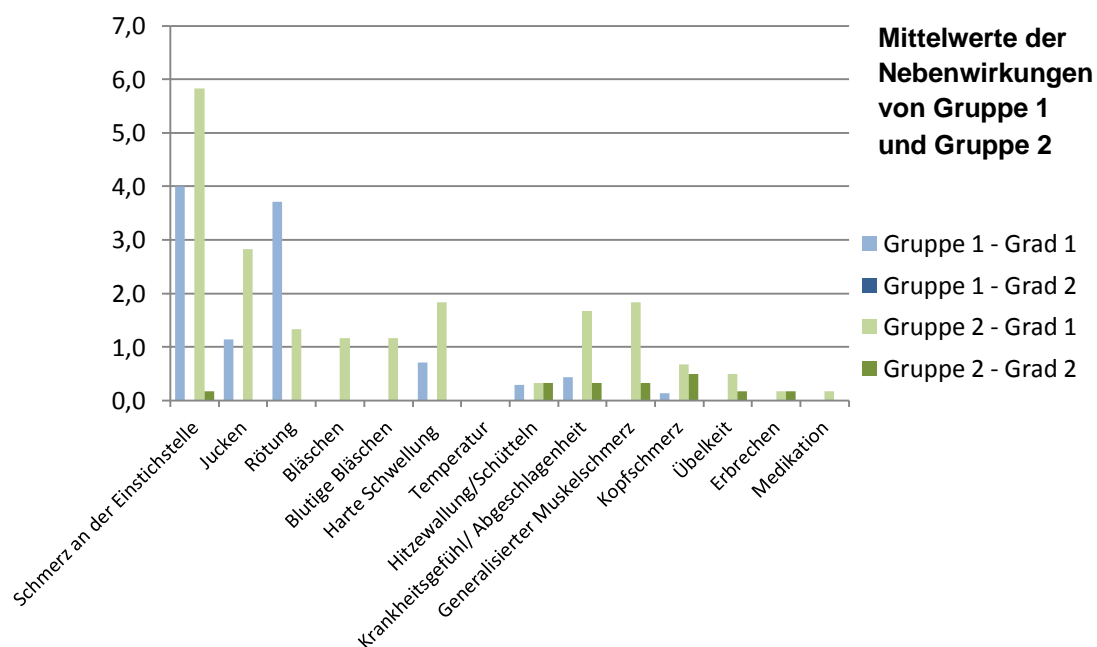


Abbildung 4.6. Mittelwerte der lokalen und systemischen Reaktionen, gegliedert nach den beiden Gruppen und den Reaktionsgraden.

4.2 Ergebnisse im Längsschnitt der Vakzinationstermine

Da das Impfregime beim dritten Impftermin der Gruppe 2 von der DNA- auf die NYVAC-Vakzine wechselte, während dies in Gruppe 1 erst beim vierten Impftermin erfolgte, ist auch ein zeitlicher Längsschnitt erforderlich.

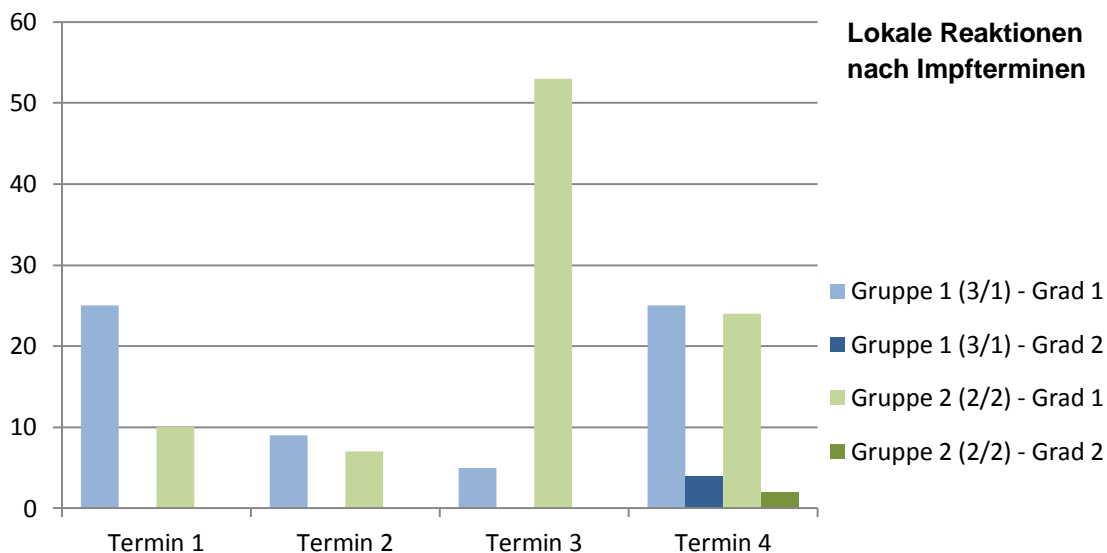


Abbildung 4.7. Anzahl der beobachteten lokalen Reaktionen, gegliedert nach den vier Impfterminen, den Gruppen und den Reaktionsgraden.

- Bei den ersten beiden Impfterminen ist bei beiden Gruppen ein sinkender Trend bezüglich der lokalen Reaktionen zu erkennen. Mit Wechsel auf die NYVAC-C-Impfung zeigt sich bei Gruppe 2 am dritten Impftermin eine deutliche Steigerung der Reaktionsintensität mit 53 Nennungen von Nebenwirkungen. Beim vierten Termin erreichen beide Gruppen die gleiche Reaktionshöhe von ca. 25 Nennungen von Grad 1 und einige von Grad 2 in beiden Gruppen (siehe Abbildung 4.7).
- Bei den systemischen Reaktionen zeigt Gruppe 1 nach dem Vakzine-Wechsel am vierten Termin mit der NYVAC-Vakzine ein leichtes sensitives Korrelat, während Gruppe 2 am Vakzine-Wechsel beim dritten Termin ebenfalls verstärkte Reaktionen zeigt (siehe Abbildung 4.8). Die systemischen Reaktionen nehmen sowohl bei Gruppe 1 als auch bei Gruppe 2 mit der neuen Vakzine am dritten bzw. vierten Termin deutlich zu.

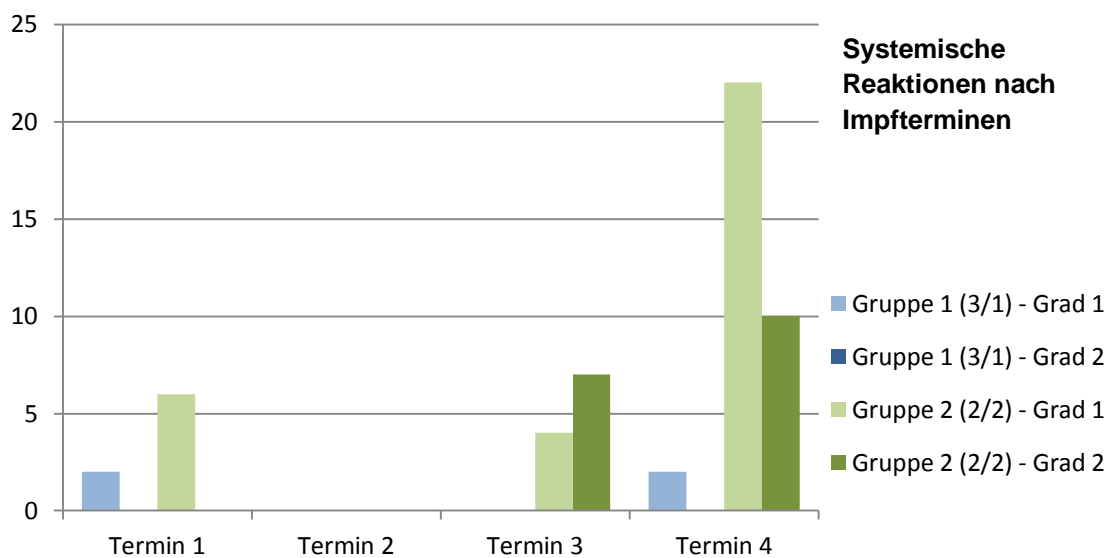


Abbildung 4.8. Anzahl der beobachteten systemischen Reaktionen, gegliedert nach den vier Impfterminen, den Gruppen und den Reaktionsgraden.

Tabelle 4.3. Systemische Nebenwirkungen nach Impftermin und Impfgruppe sowie Grad der Nebenwirkung.

Systemisches Symptom	Impftermin 1		Impftermin 2		Impftermin 3		Impftermin 4		Summe der Reaktionen	
	Gruppe 1 n = 7	Gruppe2 n = 6	Gruppe 1 n = 7	Gruppe2 n = 6	Gruppe 1 n = 7	Gruppe2 n = 6	Gruppe 1 n = 7	Gruppe2 n = 6	Gruppe 1 n = 7	Gruppe2 n = 6
Krankheitsgefühl										
Grad 1	2 (14)	2 (17)	0	0	0	0	1 (14)	8 (50)	3 (29)	10 (50)
Grad 2	0	0	0	0	0	0	0	2 (17)	0	2 (17)
gener. Muskelschmerz										
Grad 1	0	3 (33)	0	0	0	1 (17)	0	7 (33)	0	11 (33)
Grad 2										
Kopfschmerz										
Grad 1	0	1 (17)	0	0	0	1 (17)	1 (14)	2 (17)	1 (14)	4 (50)
Grad 2	0	0	0	0	0	0	0	3 (17)	0	3 (17)
Übelkeit										
Grad 1	0	0	0	0	0	1 (17)	0	2 (17)	0	3 (33)
Grad 2	0	0	0	0	0	0	0	1 (17)	0	1 (17)
Erbrechen										
Grad 1	0	0	0	0	0	0	0	1 (17)	0	1 (17)
Grad 2	0	0	0	0	0	0	0	1 (17)	0	1 (17)
Hitzewallung										
Grad 1	0	0	0	0	0	0	0	2 (17)	0	2 (17)

4.3 Statistische Analysen zu den Unterschieden der kurzfristigen Nebenwirkungen zwischen den beiden Gruppen

Die deskriptive Darstellung der aufgetreten Nebenwirkungen zeigte Unterschiede zwischen den beiden Probandengruppen (vgl. vorangegangenen Kapitel 4.1). Aufgrund der geringen Anzahl der Fälle ist eine statistische Auswertung der Ergebnisse nur im Zusammenhang der gesamten Studie sinnvoll sein und ist hier nicht Gegenstand dieser Arbeit.

4.4 Übersicht über Laborergebnisse

Im Rahmen der laborchemischen Untersuchungen wurden folgende Referenzwertabweichungen aufgezeichnet.

Im Blutbild der Probanden zeigten sich vereinzelt minimale Veränderungen, welche aber durch die Anzahl der Vakzinationen nicht zunahmen und in jeder Probandengruppe als normal zu bezeichnen wären. Diese Abweichungen waren „Reizformen der Lymphozyten“ (z. B. Proband 9) sowie ein diskreter „Abfall CD8-positive T-Zellen“ von 30 % vor den Impfungen auf 26 % nach der letzten Impfung.

Die einzige relevante Laborwertabweichung war eine vorbestehende GPT-Erhöhung (Glutamat-Pyruvat-Transaminase (= ALAT, Alanin-Aminotransferase)). Die GPT betrug vor Beginn der Studie 59 U/l, vor der ersten Vakzination 63 U/l und stieg nach der vierten Vakzination auf 77 U/l an. Es handelte sich somit um eine Laborwertabweichung nach dem WHO-Schweregrad 1. Sie war während der Studie symptomlos.

Die Antikörper-Titer (ANA, Anti-DNA) blieben bei allen 13 Probanden unverändert.

Tabelle 4.4. Übersicht über Laborwertabweichungen

Parameter	Anzahl	Art der Abweichung
Reizformen der Lymphozyten	1	-
GPT-Erhöhung	1	WHO I Abweichung
ANA Autoantikörper	0	-
DNA ds Autoantikörper	0	-

5 Diskussion

Im Rahmen der HIV-Vakzinenentwicklung wurden bereits mehrere Studien durchgeführt, die sich mit der Verträglichkeit von HIV-Vakzine auseinandersetzten. Das zentrale Ziel dieser Arbeit war, die Verträglichkeit und die akuten kurzfristigen Nebenwirkungen der HIV-Vakzine der EuroVacc03-Studie in den ersten sechs Monaten nach Vakzination empirisch zu prüfen. Des Weiteren sollten mögliche Korrelationen von beobachtbaren Nebenwirkungen zu den verschiedenen durchgeführten Impfbereimen bzw. zu deren zeitlichen Abfolgen identifiziert werden. Hierfür wurden 13 Probanden mit zwei verschiedenen Impfbereimen geimpft. Die erste Probandengruppe erhielt dreimalig ein DNA-C-Priming und einmalig ein NYVAC-Boost (3/1). Die zweite Gruppe erhielt zweimal ein DNA-C-Priming und zweimal ein NYVAC-Boost (2/2).

Wie in der Vorgängerstudie EuroVacc02 [McCormack et al., 2008] zeigte sich in der vorliegenden Arbeit ein mildes Nebenwirkungsprofil. Es kam zu keinen schweren Komplikationen. Vielmehr wurden von den insgesamt 13 Probanden nur Nebenwirkungen des Grades 1 und 2 vermerkt, davon waren knapp 90 % ersten Grades und die meisten davon nur für einen Tag andauernd. Sowohl diese, als auch die für mehrere Tage anhaltenden Nebenwirkungen waren selbstlimitierend. Keine der lokalen und systemischen Nebenwirkungen erforderte eine ärztliche Behandlung. Nur wenige wurden symptomatisch z. B. mit Analgetika vom Probanden selbst behandelt.

Auf deskriptiver Ebene ergaben sich im Rahmen der durchgeführten Impfstudie folgende Ergebnisse. Von über 75 % der Probanden wurden lokale Nebenwirkungen angegeben, wobei Schmerzen an der Einstichstelle sowie Pruritus und Rötungen hierbei am häufigsten genannt wurden. Deutlich seltener wurden hingegen systemische Nebenwirkungen beobachtet. Hierzu zählten Hitzewallungen und Schüttelfrost, sowie generalisierter Muskelschmerz, Übelkeit, Erbrechen und Kopfschmerzen.

Die meisten lokalen und systemischen Reaktionen klangen innerhalb von vier Tagen wieder ab. Einerseits war im Tagebuch keine Eintragungsmöglichkeit für Reaktionen, die länger als sieben Tage andauerten, vorgesehen, und andererseits wurden Nebenwirkungen am siebten Tage nur einmalig bei der vierten Impfung von Proband 9 beschrieben. Diese Nebenwirkungen waren Krankheitsgefühl / Abgeschlagenheit und Kopfschmerzen, wobei auch eine Stärkenabnahme zu erkennen war.

Der Vergleich im Nebenwirkungsprofil der beiden Impfschemata zeigt, dass die Gruppe 2/2 im Vergleich zur Gruppe 3/1 sowohl deutlich mehr lokale als auch systemische Nebenwirkungen aufwies und darüber hinaus die Intensität der aufgetretenen Nebenwirkungen stärker war.

Im Längsschnitt der Studie konnte eine deutliche Nebenwirkungszunahme bei dem Wechsel des Impfstoffes von der DNA- auf die NYVAC-Vakzine der Gruppe 2 am dritten Impftermin dargestellt werden, sowie eine moderate Zunahme in der Gruppe 1 am vierten Impftermin.

Akute lokale Nebenwirkungen wurden in dieser Studie von 75 % der Probanden genannt. Schmerzen an der Einstichstelle nannten in beiden Gruppen über 50 % der Probanden. Jucken wurde etwas seltener dokumentiert (29 % in Gruppe 1 und 50 % in Gruppe 2). Auch Rötungen wurden weniger und in unterschiedlichem Ausmaß in den beiden Gruppen beobachtet (57 % in Gruppe 1 und 17 % in Gruppe 2). Deutlich seltener wurde von blutigen Bläschen berichtet (ein Proband). Insgesamt war der Großteil der Nebenwirkungen am vierten Tag nach Vakzination abgeklungen.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit anderen HIV-Vakzinestudien, zeigen sich folgende Gemeinsamkeiten: In der bekannten Placebo-kontrollierten VAX 004 Studie traten akute Nebenwirkungen, wie z. B. Schwellungen (36 %), Indurationen (29 %) oder subkutane Knoten (21 %) bei der Vakzine-Gruppe auf und hielten durchschnittlich drei Tage nach der Vakzination an. Ähnliche Ergebnisse lieferte die ALVAC-Studie. In beiden Studien waren die lokalen Nebenwirkungen gering ausgeprägt und waren in der Vakzine-Gruppe häufiger als in der Placebogruppe [Flynn, 2005; Russel et al., 2007]. Darüber hinaus zeigte sich in der Placebo-kontrollierten Step-Studie [Priddy et al., 2008] ein von der Impfdosis der HIV-Vakzine abhängiges Auftreten der lokalen Nebenwirkungen, wobei hier lokale Schmerzen (77 %), Rötung (26 %) und Schwellung (16%) als häufigste Nebenwirkungen bei den höchsten Impfdosen auftraten.

Die Ergebnisse der vorliegenden EuroVacc-Studie bezüglich der akuten lokalen Nebenwirkungen reihen sich gut in die die Resultate bisheriger HIV-Vakzinestudien ein.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, sind die oben genannten hier aufgetretenen akuten lokalen Reaktionen im Rahmen der zu erwartenden Reaktionen des Immunsystems auf eine Immunisierung zu verstehen und stellen somit voraussichtlich kein gesundheitliches Risiko für den Probanden dar.

Im Vergleich zu den akuten lokalen Nebenwirkungen wurden in der vorliegenden Studie deutlich seltener systemische Nebenwirkungen beobachtet. Von 56 % der

Probanden wurden systemische Nebenwirkungen beschrieben: dabei wurden Hitzewallungen und Schütteln in beiden Gruppen genannt, generalisierter Muskelschmerz sowie Übelkeit und Erbrechen nur in Gruppe 2, und Kopfschmerzen imponierte mit 50% der Probanden vermehrt in Gruppe 2.

Auch in der Step-Studie waren systemische Nebenwirkungen in der Vakzinegruppe häufiger als in der Placebogruppe: dabei traten in der Gruppe, die die höchste Impfdosis erhielt, Kopfschmerzen in 42 %, Fieber in 35 %, Schüttelfrost in 29 %, Fatigue in 23 %, Muskelschmerz in 16 % und Übelkeit in 10 % auf [Priddy et al., 2008]. Die Ergebnisse der ALVAC-Studie [Russel et al., 2007] zeigen ebenfalls ein mildes systemisches Nebenwirkungsprofil der Impfung. Die Nebenwirkungen, die Abgeschlagenheit, Fieber, Kopfschmerzen und Übelkeit beinhalteten, traten bei 67% der Geimpften auf und klangen innerhalb von ein bis fünf Tagen nach Impfung ab. Somit liegt die Intensität des systemischen Nebenwirkungsprofils der EuroVacc-Studie zwischen denen der Step- und der ALVAC-Studie.

Ebenso wie bei den akuten lokalen Reaktionen, stehen die akuten systemischen Nebenwirkungen der vorliegenden Studie im Einklang mit der bisher in der Literatur beschriebenen systemischen Nebenwirkungsrate und betonen somit das kaum bzw. mild ausgeprägte akute Nebenwirkungsprofil von HIV-Vakzinen.

Dennoch sollte bezüglich der systemischen Nebenwirkungen auf die Problematik statistischer Ausreißer hingewiesen werden. So bleibt unklar, ob bei Proband 9 im Vergleich zu den übrigen Probanden eine höhere Sensibilität gegenüber dem Vakzineregime besteht, oder ob bei diesem Probanden andere Einflussfaktoren das Ergebnis mitbestimmten, zumal sich die beobachteten Reaktionen auf die systemischen Nebenwirkungen konzentrierten und insbesondere erst ab dem dritten Impftermin auftraten.

Neben der Erfassung der Akuttoxizitäten aller Probanden, wurde in der vorliegenden Studie auch das Nebenwirkungsprofil der beiden Impfschemata bezüglich lokaler und systemischer akuter Nebenwirkungen verglichen. In diesem Vergleich zeigte sich, dass in der Gruppe 2/2 im Vergleich zur Gruppe 3/1 deutlich mehr lokale (96 vs. 68) sowie auch systemische (49 vs. 4) Nebenwirkungen auftraten.

Zusätzlich zum Vergleich der Impfschemata der beiden Gruppen wurden die Ergebnisse im Längsschnitt der Vakzinationstermine betrachtet. So ließ sich ein abnehmender Trend der lokalen Nebenwirkungen im Verlauf der DNA-Vakzinen-Impftermine erkennen. Da jedoch sowohl die lokalen als auch die systemischen Reaktionen bei beiden Gruppen mit dem Impfstoffwechsel am dritten bzw. vierten

Termin deutlich zunehmen, liegt die Annahme nahe, dass die aufgetretenen Nebenwirkungen Vakzinen-abhängig sind und dass die NYVAC-Vakzine mehr Nebenwirkungen verursacht als die DNA-Vakzine.

So konnten auch in der Step-Studie beobachtet werden, dass systemische Nebenwirkungen in der Folge der Injektionen abnehmen [Priddy et al., 2008]. Lokale Nebenwirkungen blieben jedoch konstant, diese Ergebnisse konnten in dem hier untersuchten Kollektiv nicht bestätigt werden.

Aus den Ergebnissen des Impfschematavergleichs sowie des Längsschnittes der Vakzinationstermine lassen sich folgende Hypothesen ableiten: 1) die akuten Nebenwirkungen nehmen im zeitlichen Verlauf der Injektionen ab, 2) im Vergleich zum DNA-Impfstoff ist der NYVAC-Impfstoff mit mehr Nebenwirkungen behaftet.

Bereits Anfang der 1990er Jahre konnte die gute Verträglichkeit und Immunogenität von NYVAC bewiesen werden [Paoletti et al., 1994]. Weitere Studien mit vergleichbarer Probandenzahl wurden an 30 Freiwilligen mit dem Japanischen Encephalitis Virus und NYVAC durchgeführt [Kanasa-thasan, N. et al, 2000]. In dieser Studie war das lokale akute Nebenwirkungsprofil ebenfalls vergleichbar mit der vorliegenden Arbeit. Es wurden Schmerzen, Überwärmung, Druckschmerzhaftigkeit, Ödem, Erythem und Verhärtungen beschrieben. Vesikel, Pusteln oder Ulzerationen traten nicht auf. Die systemischen Nebenwirkungen waren moderat, es trat kein Fieber und keine Lymphadenopathie auf. Es wurden ebenfalls keine ärztlichen Behandlungen nötig. Weitere vergleichbare Beobachtungen bezüglich des NYVAC-Impfstoffes konnten in einer Studie, die einen Impfstoff gegen Plasmodium falciparum testete, gemacht werden [Ockenhouse et al., 1998]. In dieser Studie wird ebenfalls von vergleichbar milden lokalen Nebenwirkungen, wie in der vorliegenden Arbeit, berichtet. Die systemischen Nebenwirkungen sind jedoch besonders in der Gruppe mit der höheren Dosis deutlich höher als in der vorliegenden Arbeit. Diese systemischen Nebenwirkungen erreichten Prozentwerte von 20 % - 50 % der Probanden, und waren ähnlich zur Symptomatik einer saisonalen Influenza-Infektion mit Schmerzen, Übelkeit, Fieberhaftigkeit, Schüttelfrost und Kopfschmerzen. Die Dauer der Nebenwirkungen war jedoch wieder vergleichbar mit derjenigen in der vorliegenden Arbeit und diese klangen fast alle innerhalb von drei Tagen wieder ab. Dabei ist jedoch nicht klar, ob die vermehrten systemischen Nebenwirkungen von der erhöhten NYVAC- oder von der Anopheles-Antigen-Komponente her rühren.

Die bisherige Diskussion der Ergebnisse, bei der sich bezüglich der aufgetretenen Akutreaktionen Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Gruppen zeigten, belief sich auf rein deskriptiver Ebene.

Limitationen

Neben den beschriebenen Ergebnissen, die einen wichtigen Beitrag zur HIV-Vakzinen-Forschung darstellen, weist die vorliegende Studie aber auch folgende Limitationen auf. Zunächst muss festgestellt werden, dass eine Studie mit lediglich 13 Probanden - zudem aufgeteilt in zwei Gruppen mit jeweils vier Impfterminen - lediglich erste Grundlagen für eine Hypothesenbildung erbringen kann. Für statistisch abgesicherte Aussagen würde man eine deutlich höhere Teilnehmerzahl benötigen, da andere Einflussfaktoren, insbesondere in Hinblick auf die systemischen Nebenwirkungen, das Ergebnis beeinflussen können und nur durch eine entsprechend hohe Anzahl von Probanden statistisch erkannt und eliminiert werden könnten.

Darüber hinaus besteht für den Fall der systemischen Nebenwirkungen das Problem, dass hier nicht kontrollierte Störgrößen, wie leichte grippale Infekte oder psychische Belastungen der Probanden, die Ergebnisse verfälschen können. Die berichteten Nebenwirkungen lassen sich daher nicht sicher auf die Vakzination zurückführen. Durch die geringe Fallzahl ist nicht davon auszugehen, dass sich solche Störgrößen in den beiden Gruppen ausnivellieren, d. h. gleichverteilt auftreten.

Da stets zuerst mit dem DNA-Impfstoff begonnen wurde, kann nicht ausgeschlossen werden, dass die DNA-Príme deshalb in den beschriebenen Reaktionen überbewertet wurden, weil sie jeweils als Erstimpfung stattfanden. Auf diesen psychologischen Effekt deuten die relativ häufigen Reaktionen des Ersttermins (mit 35 lokalen und acht systemischen Reaktionen) gegenüber den deutlich verringerten Reaktionen im zweiten Termin (16 lokale Reaktionen und keine systemischen Reaktionen) hin. Dieser Effekt könnte daran liegen dass die Probanden die Nebenwirkungen selbst in ein Tagebuch aufzeichneten und somit die Intensität der Nebenwirkungen sehr von der subjektiven Empfindung abhing. Dieser Effekt könnte sich in zukünftigen Studien vermieden werden, indem bereits in den ersten Tagen Follow-up-visits der Probanden durchgeführt würden, und dadurch zumindest die objektivierbaren Nebenwirkungen, wie Rötung, etc. neutraler dokumentiert werden könnten. Nebenwirkungen wie Kopfschmerzen oder Krankheitsgefühl sind durch die aktive Befragung durch eine Study-Nurse ebenfalls objektiver zu erheben.

Auch erfasste die vorliegende Studie keine Spätfolgen der Impfung, die möglicherweise bei Langzeitanalysen zu beobachten gewesen wären. Allerdings bestünde auch hier das Problem der statistischen Relevanz infolge der geringen Probandenzahl.

Eine weitere Limitation der durchgeführten Studie ist das Fehlen einer Placebogruppe. So konnten kein Vergleich zwischen den applizierten Impfstoffen und einem Placeboimpfstoff durchgeführt werden. Im Studienprotokoll wurde keine Placebogruppe vorgesehen, weil bereits in der Vorgängerstudie EuroVacc02 ein sehr mildes Nebenwirkungsprofil bestätigt wurde und primär in der Gesamtstudie die Immunogenität der beiden Impfschemata untersucht werden sollte. In dieser Teilstudie geht es aber ausschließlich um die Unterschiede im Nebenwirkungsprofil der beiden Impfschemata, welche auch nachgewiesen werden konnten, aber nicht signifikant sind.

Aufgrund dieser Untersuchungsmethode und -ergebnisse können die beiden untersuchten Impfschemata dieser EuroVacc03-Teilstudie als gut verträglich erachtet werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bei der vorliegenden EuroVacc03-Impfstudie - wie auch bei den genannten bisherigen HIV-Vakzinationsstudien - mit keiner schweren akuten Toxizität der Vakzine zu rechnen ist und nur leichte bis moderate Nebenwirkungen zu erwarten sind. Des Weiteren kann geschlussfolgert werden, dass die NYVAC-Vakzine sowohl mit mehr akuten lokalen als auch mit mehr systemischen Nebenwirkungen assoziiert ist.

Die vorliegende Arbeit ist ein Beitrag zur Sicherheit der HIV-Vakzinenentwicklung, und dadurch auch ein kleiner Baustein in der immensen weltweiten Anstrengung der letzten Jahre und Jahrzehnte, einen Impfstoff gegen HIV zu entwickeln. Dabei ist es auch essentiell das Vertrauen der Bevölkerung in die Vakzinenforschung allgemein zu stärken, was nur durch eine gute Sicherheit der Vakzine gewährleistet werden kann. Nur so werden sich auch in Zukunft ausreichend Probanden für die Vakzinenentwicklung zur Verfügung stellen.

Diese Studie kann dazu beitragen, die Wissenschaft und die Forschung weiter voranzutreiben - sowohl in der Grundlagenforschung als auch in klinischen Studien. Mit diesen Daten lassen sich mit guter Sicherheit weitere Impfstudien, die auf den bekannten rekombinierten Proteinen, Vektoren oder DNA-Vakzinen basieren, durchführen.

6 Literatur

- Altfeld M, Addo MM, Eldridge RL, Yu XG, Thomas S, Khatri A, et al. HIV-1 Infection Vpr is preferentially targeted by CTL during HIV-1 infection. *J Immunol* 2001; 167: 2743-2752.
- Andréoletti L, Réveil B, Moret H, Brodard V, Philbert F, Tabary T, et al. Significant Genetic and Antigenic Variability within the env Gene of Systemic Human Immunodeficiency Virus Type 1 Group O Populations during the Natural Course of a Heterosexual Infection: a Pilot Study. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45(4): 1319-1321.
- Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for AIDS. *Science* 1983; 220: 868-871.
- Barouch DH, Letvin NL: DNA Vaccination for HIV-1 and SIV. *Intervirolgy* 2000; 43: 282-287.
- Barouch DH. Challenges in the development of an HIV-1 vaccine. *Nature* 2008; 455: 613-619.
- Barouch DH. Novel Adenovirus Vector-Based Vaccines for HIV-2010. *Curr Opin HIV AIDS*. 2010; 5(5): 386-390.
- Bart P-A, Goodall R, Barber T, Harari A, Guimaraes-Walker A, Khonkarly M, et al. EV01: A phase I trial in healthy HIV negative volunteers to evaluate a clade C HIV vaccine, NYVAC-C undertaken by the EuroVacc Consortium. *Vaccine* 2008; 26, 3153-3161.
- Behbehani AM. The Smallpox Story: Life and Death of an Old Disease. *Microbiol. Rev.* 1983; 47: 455-509
- Belshe RB, Stevens C, Gorse GJ, Buchbinder S, Weinhold K, Sheppard H, et al. Safety and Immunogenicity of a Canarypox-Vectored Human Immunodeficiency Virus Type 1 Vaccine with or without gp120: A Phase 2 Study in Higher- and Lower-Risk Volunteers. *The J.Infectious Dis.* 2001; 183: 1343-1352.
- Berkovic SF, Harkin L, McMahon JM, Pelekanos JT, Zuberi SM, Wirrell EC, et al. De-novo mutations of the sodium channel gene SCN1A in alleged vaccine encephalopathy: a retrospective study. *The Lancet Neurology* 2006; 5(6): 488-492.
- Berry N, Jaffar S, Schim van der Loeff M, Ariyoshi K, Harding E, Tamba N'Gom P, et al. Low Level Viremia and High CD4% Predict Normal Survival in a Cohort of HIV Type-2-Infected Villagers. *AIDS Res. and Human Retroviruses* 2002; 18(16): 1167-1173.
- Bethony JN, Cole RN, Guo X, Kamhawi S, Lightowlers MW, Loukas A, et al. Vaccines to combat the neglected tropical diseases. *Immunol Rev.* 2011; 239(1): 237-270.
- Bolens M, Borst F, Siegrist CA. Suche nach Nebenwirkungen der Masern-Mumps-Röteln- Kombinationsimpfung. *Pediatrica (Swiss society of paediatrics)* 2008; 19(3): 65-67.
- Bonhoeffer J, Gold MS, Heijbel H, Vermeer P, Blumberg D, Braun M, et al. Hypotonic-Hyporesponsive Episode (HHE) as an adverse event following immunization: case definition and guidelines for data collection, analysis, and presentation. *Vaccine*. 2004 Jan 26; 22(5-6):563-8.

- Brave A, Boberg A, Gudmundsdotter L, Rollman E, Hallermalm K, Ljungberg K, et al. A New Multi-clade DNA Prime/Recombinant MVA Boost Vaccine Induces Broad and High Levels of HIV-1-specific CD8+ T-cell and Humoral Responses in Mice. *Molecular Therapy* 2007; 15(9): 1724-1733.
- Breman G, Cofi E., Bomba-Ires KR, Foster, SO, Hermann, KL. Evaluation of a measles-smallpox vaccination campaign by a sero-epidemiologic method. *American journal of epidemiology* 1975; 102: S. 564-571.
- Buchbinder SP, Mehrotra DV, Duerr A, Fitzgerald DW, Mogg R, Li D, et al. Efficacy assessment of an cell-mediated immunity HIV-1 vaccine (the Step-Study): a double-blind, randomised, placebo-controlled test of concept trial. *Lancet* 2008; 372: 1881-1893.
- Buetcher M, Heininger U, Braun M, Bonhoeffer J, Halperin S, Heijbel H, et al. Hypotonic-hypo-responsive episode (HHE) as an adverse event following immunization in early childhood: case definition and guidelines for data collection, analysis and presentation. *Vaccine* 2007; 31: 5875-5881.
- Buonaguro M, Tornesello L, Buonaguro FM: Human Immunodeficiency Virus Type 1 Subtype Distribution in the Worldwide Epidemic: Pathogenetic and Therapeutic Implications. *J. Virology* 2007; 81(19): 10209-10219.
- Burkly LC, Olson D, Shapiro R, Winkler G, Rosa JJ, Thomas DW, et al. Inhibition of HIV infection by a novel CD4 domain 2-specific monoclonal antibody. Dissecting the basis for its inhibitory effect on HIV-induced cell fusion. 1992;149(5):1779-87
- Casimiro DR, Chen L, Fu TM, Evans RK, Caulfield MJ, Davies ME, et al. Comparative immunogenicity in rhesus monkeys of DNA plasmid, recombinant vaccinia virus, and replication-defective adenovirus vectors expressing a human immunodeficiency virus type 1 gag gene. *J. Virol.* 2003; 77: 6305-6313.
- Catanzaro AT, Koup RA, Roederer M, Bailer RT, Enama ME, Moodie Z, et al. Phase 1 safety and immunogenicity evaluation of a multiclade HIV-1 candidate vaccine delivered by a replication-defective recombinant adenovirus vector. *J. Infect. Dis.* 2006; 194: 1638-1649.
- Cerecedo Carballo MC, Pastor D, Bartolomé Zavala B, Sánchez Cano M, de la Hoz Caballer B. Safety of measles-mumps-rubella vaccine (MMR) in patients allergic to eggs. *Allergologia et Immunopathologia* 2007; 35(3): 105-109.
- Chen JD, Bai X, Yang AG, Cong Y, Chen SY: Inactivation of HIV-1 chemokine co-receptor CXCR-4 by a novel intrakine strategy. *Nat Med.* 1997; 3: 1110-1116.
- Chong SY; Egan, MA, Kutzler MA, Megati S, Masood A, Roopchard V, et al.: Comparative ability of plasmid IL-12 and IL-15 to enhance cellular and humoral immune responses elicited by a SIVgag plasmid DNA vaccine and alter disease progression following SHIV(89.6P) challenge in rhesus macaques. *Vaccine* 2007; 25: 4967-4982.
- Clark SJ, Shaw GM. The acute retroviral syndrome and the pathogenesis of HIV-1 infection. *Seminars in Immunology* 1993; 5: 149-155.
- Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F, Chamaret S, Rey MA, Santos-Ferreira O. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* 1986; 233: 343-346.
- Clements JC. The evidence for the safety of thiomersal in newborn and infant vaccines. *Vaccine* 2004; 22: 1854-1861

- Clerici M, Giorgi JV, Chou CC, Gudeman VK, Zack JA, Gupta P, et al. Cell-mediated immune response to HIV (HIV) type-1 in seronegative homosexual men with a recent sexual exposure to HIV-1. *J. Infect Diseases* 1992; 165
- Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, Gamble T, Hosseinipour MC, Kumarasamy N, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *New England Journal of Medicine* 2011a; 365: 493-505.
- Cohen MS, Shaw GM, McMichael AJ, Haynes BF. Acute HIV-1 infection. *N Engl J Med.* 2011b; 364: 1943-1954.
- Cox NH, Moss C, Forsyth A. Allergy to non-toxoid constituents of vaccines and implications for patch testing. *Contact Dermatitis* 1988; 18: 143-146.
- Collins KL, Chen BK, Walker BD, Baltimore D. *HIV-1 nef protein protects infected primary cells against killing by cytotoxic T lymphocytes.* *Nature* 1998; 391: 397-401.
- Coult R. Operation of inoculation of the smallpox as performed in Bengall (from R. Coult to Dr Oliver Coult in: *An account of the diseases of Bengall.* Calcutta, Feb 10. 1731). Reprinted in: Dharampal: *Indian science and technology in the eighteenth century.* Impex Delhi India 1971; S. 141-143
- CPMP/ICH/135/97 2002. Note for Guidance on Good Clinical Practice. Juli 2002
- Cullen BR. HIV-1 auxiliary proteins: making connections in a dying cell. *Cell* 1998; 93: 685-692.
- Dabis F, Msellati P, Dunn D, Lepage P, Newell ML, Peckham C, et al. Estimating the rate of mother-to-child transmission of HIV. Report of a workshop on methodological issues Ghent (Belgium), 17-20 February 1992. *AIDS* 1993; 7: 1139-1148.
- Dalgleish AG, Beverley PC, Clapham PR, Crawford DH, Greaves MF, Weiss RA. *The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus.* *Nature* 1984; 312: 763-767.
- Deng H, Liu R, Ellmeier W, Choe S, Unutmaz D, Burkhart M, et al. *Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1.* *Nature* 1996; 381: 661-666.
- Derdeyn CA, Decker JM, Bibollet-Ruche F, Mokili JL, Muldoon M, Denham SA, et al. Envelope-constrained neutralization-sensitive HIV-1 after heterosexual transmission. *Science* 2004; 303: 2019-2022.
- Doan LX, Li M, Chen C, Yao Q: Virus-like particles as HIV vaccines. *Rev Med Virol.* 2005 Mar-Apr; 15(2): 75-88
- Doranz BJ, Rucker J, Yi Y, Smyth RJ, Samson MS, Peiper SC, et al. *A Dual-Tropic Primary HIV-1 Isolate That Uses Fusin and the β -Chemokine Receptors CKR-5, CKR-3, and CKR-2b as Fusion Cofactors.* *Cell*, 1996; 85: 1149-1158.
- Dragic T, Litwin V, Allaway GP, Martin SR, Huang Y, Nagashima KA, et al. *HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5.* *Nature* 1996; 381: 667-673.
- Dubay L: Der Stadt- und Kreisfysikus J.A. Reiman und die Variolisierung in Prebv. *Zbornik vedeckg konzrencie, Presov, Osveta* 1972; 58-67
- Edwardes EJ. A concise history of small-pox and vaccination in Europe. Lewis London; 1902: 272 ff

- Ehrlich P, Kossel H, Wassermann A. *Über Gewinnung und Verwendung des Diphtherie-Heilserums*. Dt. Medizinische Wochenschrift 1894; Vol. 20: S. 353-355
- Embretson J, Zupancic M, Ribas JL, Burke A, Racz P, Tenner-Racz K, et al. Massive covert infection of helper T lymphocytes and macrophages by HIV during the incubation period of AIDS. *Nature* 1993; 362: 359-362.
- EURODIAB Substudy 2 Study Group: Infections and vaccinations as risk factors for childhood type I (insulin dependent) diabetes mellitus: a multicentre case-control investigation. *Diabetologia* 2000; 43(1): 47-53.
- EuroVacc. "European Vaccine Effort Against HIV/AIDS" 2013.
- European Centre for Disease Prevention and Control and WHO Regional Office for Europe. *HIV/AIDS surveillance in Europe 2011*. Stockholm, European Centre for Disease Prevention and Control, 2011
- Evans AS. Causation and Disease: The Henle-Koch Postulates Revisited. *Yale J. Biology & Medicine* 1976; 49:175-195
- Excler JL. AIDS Vaccine development: perspectives, challenges and hopes. *Indian J Med Res* 2005; 121(4): 568-581.
- Fätkenheuer G, Pozniak AL, Johnson MA, Plettenberg A, Staszewski S, Hoepelman AIM, et al. Efficacy of short-term monotherapy with maraviroc, a new CCR5 antagonist, in patients infected with HIV-1. *Nat Med* 2005; 11: 1170-1172.
- Fätkenheuer G, Nelson M, Lazzarin A, Konourina I, Hoepelman AIM, Lampiris H, et al. for the MOTIVATE 1 and MOTIVATE 2 Study Teams: Subgroup Analyses of Maraviroc in Previously Treated R5 HIV-1 Infection. *N Engl J. Med.* 2008; 359: 1442-1455.
- Feng Y, Broder CC, Kennedy PE, Berger EA. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science* 1996; 272: 872-877.
- Fenner F, Henderson DA, Arita I, Jezek Z, Ladnyi ID. Smallpox and its Eradication. World Health Organisation. Geneva. 1988; 246 ff
- Ferrari G, Pollar J, Kozink D, Harms T, Drinker M, Freel S, et al.: An HIV-1 gp120 Envelope Human Monoclonal Antibody That Recognizes a C1 Conformational Epitope Mediates Potent Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity (ADCC) Activity and Defines a Common ADCC Epitope in Human HIV-1 Serum. *J. Virol* 2011; 85(14): 7029-7036.
- Fiebig E, Wright D, Rawal B, Garrett P, Schumacher R, Peddada L, et al. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS* 2003; 17(13): 1871-1879.
- Fleming DT, Wasserheit JN. From epidemiological synergy to public health policy and practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection *Sexual Transmitted Infections* 1999; 75: 3-17.
- Flynn NM, Forthal DN, Harro CD, Judson FN, Mayer KH, Para MF and the rgp120 HIV Vaccine Study Group. Placebo-controlled phase 3 trial of a recombinant glycoprotein 120 vaccine to prevent HIV-1 infection. *The Journal of Infectious Diseases* 2005; 191(5): 654-665.

- Friedland GH, Saltzman BR, Rogers MF, Kahl PA, Lesser ML, Mayers MM, et al. Lack of Transmission of HTLV-III/LAV Infection to Household Contacts of Patients with AIDS or AIDS-Related Complex with Oral Candidiasis. *N Engl J Med* 1986; 314: 344-349.
- Gallo RC, Sarin PS, Gelmann EP, et al.: Isolation of human T cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983; 220: 865-867.
- Gao F, Yue L, Robertson DL, Hill SC, Hui H, Biggar RJ, et al. Genetic Diversity of Human Immunodeficiency Virus Type 2: Evidence for distinct sequence subtypes with differences in virus biology. *J. Virology* 1994; 62(11): 7433-7447.
- Gao F, Vidal N, Li Y, Trask SA, Chen Y, Kostrikis LG, et al. Evidence of Two Distinct Subsubtypes within the HIV-1 Subtype A Radiation. *AIDS RES. Human Retrov.* 2001; 17(8): 675-688.
- Geier DA, Geier MR. A two-phased population epidemiological study of the safety of thimerosal-containing vaccines: a follow-up analysis. *Med Sci Monit*, 2005; 11(4): CR160-170.
- Gelderblom HR, Gentile M, Scheidler A, Özel M, Pauli G. Zur Struktur und Funktion bei HIV: Gesichertes, neue Felder und offene Fragen. *AIFO* 1993; 8(5): 231-242.
- Georgitis JW, Fasano MB. Allergenic components of vaccines and avoidance of vaccination-related adverse events. *Current Allergy and Asthma Reports* 2001; 1(1): 11-17.
- Gilbert PB, Chiu YL, Allen M, Lawrence DN, Chapdua C, Israel H, et al. Long-term safety analysis of preventive HIV-1 vaccines evaluated in AIDS vaccine evaluation group NIAID-sponsored Phase I and II clinical trials. *Vaccine* 2003; 21: 2933-2947.
- Gilbert PB, Peterson ML, Follmann D, Hudgens MG, Francis DP, Gurwith M, Heyward WL, et al. Correlation between Immunologic Responses to a Recombinant Glycoprotein 120 Vaccine and Incidence of HIV-1 Infection in a Phase 3 HIV-1 Preventive Vaccine Trial. *The J. Infectious Dis.* 2005; 191: 666-677.
- Girard MP, Bansal GP. HIV/AIDS Vaccines. A Need for New Concepts? *International Reviews of Immunology* 2008; 27: 447-471.
- Girard MP, Osmanow S, Assossou OM, Kieny MP. Human immunodeficiency virus (HIV) immunopathogenesis and vaccine development: a review. *Vaccine* 2011; 29: 6191-6218.
- Goonetilleke N, Liu MK, Salazar-Gonzalez JF, Ferrari G, Giorgi E, Gantsov VV, et al. The first T cell response to transmitted/founder virus contributes to the control of acute viremia in HIV-1 infection. *J Exp Med* 2009; 206(6): 1253-1272.
- Gomez CE, Najera JL, Jimenez EP, Jimenez V, Wagner R, Graf M, et al. Head-to-head comparison on the immunogenicity of two HIV/AIDS vaccine candidates based on the attenuated poxvirus strains MVA and NYVAC co-expressing in a single locus the HIV-1BX08 gp120 and HIV-1IIIIB Gag-Pol-Nef proteins of clade B. *Vaccine* 2007; 25: 2863-2885.
- Graham BS, Koup RA, Roederer M, Bailer RT, Enama E, Moodie Z, et al. Phase 1 safety and immunogenicity evaluation of a multiclade HIV-1 DNA candidate vaccine. *J. Infect. Dis* 2006; 194: 1650-1660.
- Grimmer F, Perneczky R, Kurz, A. Aktueller Stand der Immuntherapie bei Alzheimer Krankheit. *Der Nervenarzt* 2008; 79(7): 832-835.

- Gupta K, Hudgens M, Corey L, McElrath MJ, Weinhold K, Montefiori DC, et al. Safety and Immunogenicity of a High-Titered Canarypox Vaccine in Combination With rgp120 in a Diverse Population of HIV-1–Uninfected Adults: AIDS Vaccine Evaluation Group Protocol 022A. *J. Acquired Immune Deficiency Syndromes* 2002; 29: 254-261.
- Haber P, Sejvar J, Mikaeloff Y, DeStefano F. Vaccines and Guillain-Barre´ Syndrome. *Drug Safety* 2009; 32 (4): 309-323.
- Hamel DJ, Sankale JL, Eisen G, Thakore S, Meloni H, Mullins C, et al. *Twenty Years of Prospective Molecular Epidemiology in Senegal: Changes in HIV Diversity*. *AIDS Res. and Human Retroviruses* 2007; 23(10): 1189-1196.
- Harari A, Bart PA, Stöhr W, Tapia G, Garcia M, Medjitna-Rais E, Pantaleo G, et al. An HIV-1 clade C DNA prime, NYVAC boost vaccine regimen induces reliable, polyfunctional, and long-lasting T cell responses. *JEM* 2008; 205: 63-77.
- Haygarth J. Sketch of a Plan to Exterminate the Casual Smallpox from Great Britain. Johnson London, 1793.
- Haynes B F, Liao HX, Tomaras CD. Is developing an HIV-1 vaccine possible? *Curr. Opin. HIV AIDS* 2010; 5(5): 362-367.
- Heidary N & Cohen DE. Hypersensitivity reactions to vaccine components. *Dermatitis* 2005; 16(3):115-120.
- Hernan MA, Jick SS, Olek MJ, Jick H. Recombinant hepatitis B vaccine and the risk of multiple sclerosis. *Neurology* 2004; 63: 838-924.
- Hernan MA, Alonso A, Hernández-Díaz S. Tetanus vaccination and risk of multiple sclerosis- A systematic review. *Neurology* 2006; 67(2): 212-215.
- Hill AVS. Vaccines against malaria. *Phil. Trans. R. Soc. B* (2011) 366, 2806–2814
- Hopkins DR. Princes and Peasants. Smallpox in History, University of Chicago Press. Chicago 1983.
- Huppertz HI, Soriano-Gabarró M, Grimprel E, Franco E, Mezner Z, Desselberger U, et al. Intussusception Among Young Children in Europe. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2006; 25(1): S22-S29.
- Hviid A, Stellfeld M, Wohlfahrt J, Melbye M. Childhood vaccination and type I diabetes. *N.Engl. J. Med.* 2004; 350: 1389-1404.
- IAVI (International AIDS Vaccine Initiative). *AIDS Vaccine Blueprint 2008: A Challenge to the Field, A Roadmap for Progress*. New York 2008. ISBN 0-9792432-8-9
- Des Jarlais DC, Friedmann SR, Stoneburner RL. HIV Infection and Intravenous Drug Use: Critical Issues in Transmission Dynamics, Infection Outcomes, and Prevention. *Clin Infect Dis.* 1988; 10(1): 151-158.
- Des Jarlais DC, Friedman SR. Fifteen years of research on preventing HIV infection among injecting drug users: what we have learned, what we have not learned, what we have done, what we have not done. *Public Health Rep.* 1998; 113(Suppl 1): 182-188.
- Jenner E. An inquiry into the causes and fleets of the variolae vaccinae, A disease discovered in some of the western counties of England, particularly Gloucestershire, and known by the name of the cowpox. London 1798. Reprinted in: Camac C.N.B.(ed). *Classics of medicine and surgery*. Dover New York; 1959: 213-240.

- Johnston MI, Fauci AS. An HIV vaccine-evolving concepts. *NEJM* 2007; 356: 2073-2081.
- Kartikayan S, Bharmal RN, Tiwari RP, Bisen PS. HIV and ADIDS - Basic Elements and Priorities. Springer Dordrecht. The Netherlands 2007; 24.
- Karchmer AW, Friedman JP, Casey HL, Shope TC, Riker JB, Kappelman MM, et al. Simultaneous administration of live virus vaccines. Measles, mumps, poliomyelitis and smallpox. *American Journal of diseases of children* 1971; 121: 382-388.
- Kaslow RA, Carrington M, Apple R, Park L, Muñoz A, Saah AJ, et al. Influence of combinations of human major histocompatibility complex genes on the course of HIV-1 infection. *Nat. Med* 1996; 2: 405-411.
- Keller-Stanislawski B, Heuß N, Meyer C. Verdachtsfälle von Impfkomplicationen nach dem Infektionsschutzgesetz und Verdachtsfälle von Nebenwirkungen nach dem Arzneimittelgesetz vom 1.1.2001 bis zum 31.12.2003. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 2004; 47(12): 1151-1164.
- Khurana S, Needham J, Mathieson B, Rodriguez-Chavez IR, Catanzaro AT, Bailer RT, et al. and the HIV Vaccine Trial Network. Human Immunodeficiency Virus (HIV) Vaccine Trials: a Novel Assay for Differential Diagnosis of HIV Infections in the Face of Vaccine-Generated Antibodies. *J Virol.* 2006; 80(5): 2092-2099.
- Kirchhoff DF, Czajak SC, Sehgal PK, Desrosiers RC. Protective effects of a live attenuated SIV vaccine with a deletion in the nef gene. *Science* 1992; 258(5090): 1938-1941.
- Klatzmann D, Champagne E, Chamaret S, Gruest J, Guetard D, Hercend T, et al. T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. *Nature* 1984; 312: 767-768.
- Klein NP, Fireman B, Yih WK, Lewis E, Kulldorff M, Ray P, et al. Measles-Mumps-Rubella-Varicella Combination Vaccine and the Risk of Febrile Seizures. *Pediatrics* 2010; 126:e1.
- Koch R. Die Ätiologie der Tuberkulose (1884). in: *Gesammelte Werke von Robert Koch*. Schwalbe J (Hrsg.), Bd 1. Verlag von Georg Thieme, Leipzig 1912; 467–565.
- Kohl NE, Emini EA, Schleif WA, Davis LJ, Heimbach JC, Dixon RAF, et al. Active HIV protease is required for viral infectivity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85(13): 4686-4690.
- Kohler KA, Banerjee K, Hlady WG, Andrus JK, Sutter RW. Vaccine-associated paralytic poliomyelitis in India during 1999: decreased risk despite massive use of oral polio vaccine. *Bulletin of the World Health Organization* 2002; 80: 210-216.
- Koup RA, Safrit JT, Cao Y, Andrews CA, McLeod G, Borkowski W, et al. Temporal Association of Cellular Immune Responses with the Initial Control of Viremia in Primary Human Immunodeficiency Virus Type 1 Syndrome. *J Virol.* 1994 July; 68(7): 4650–4655.
- Kühl A, Münch J, Sauter D, Bertram S, Glowacka I, Steffen I, et al. Calcium-modulating cyclophilin ligand does not restrict retrovirus release. *NatMed.* 2010; 16: 155-156.
- Kurz RW: Historischer Rückblick: Emil Adolph von Behring (1854-1917)? Retter der Kinder und Soldaten. in O. Janata (Hrsg.): *Infektiologie aktuelle Aspekte: Jahrbuch 2001/2002*; Springer Wien New York; 2001: 31-41.

- Kuritzkes DR, Jacobson J, Powderly WG, Godofsky E, DeJesus E, Haas F, et al. Antiretroviral activity of the anti-CD4 monoclonal antibody TNX-355 in patients infected with HIV type 1. *J Infect Dis.* 2004 Jan 15;189(2):286-91.
- Letvin N.L, Barouch DH, Montefiori DC. Prospects for Vaccine Protection against HIV-1 Infection and AIDS. *Ann. Rev. Immunology*, 2002; Vol.20, 73-99.
- Levy Y, Ellefsen K, Stöehr W, Bart PA, Lelièvre JD, Launay O, Wolf H, Weber J, Chêne G, Pantaleo G. Optimal priming of poxvirus vector (NYVAC)-based HIV vaccine regimens requires 3 DNA injections - Long term Results of the EV03/ANRS Vac20 Phase I/II Trial. Presentation 2010. Lausanne, London, Mandor, Cochin, Tenon, Toulouse, Marseille, Regensburg.
- Li Y, Migueles SA, Welcher B, Svehla K, Phogat A, Louder MK, et al. Broad HIV-1 neutralization mediated by CD4-binding site antibodies. *Nat Med.* 2007; 13: 1032-1034.
- Lifson JD, Rossio JL, Piatak Jr M, Bess Jr J, Chertova E, Schneider DK, et al. Evaluation of the safety, immunogenicity, and protective efficacy of whole inactivated simian immunodeficiency virus (SIV) vaccines with conformationally and functionally intact envelope glycoproteins. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2004; 20(7):772- 787.
- Liu J, Kjekken R, Mathiesen I, Barouch DH. Recruitment of antigenpresenting cells to the site of inoculation and augmentation of human immunodeficiency virus type 1 DNA vaccine immunogenicity by in vivo electroporation. *J. Virol.* 2008; 82: 5643-5649.
- Löffler F. Untersuchung über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphtherie beim Menschen, bei der Taube und beim Kalbe. *Mitteilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte* 1884; 2: 421–499.
- Lore K, Smed-Sorensen A, Vasudevan J, Mascola JR, Koup R. Myeloid and plasmacytoid dendritic cells transfer HIV-1 preferentially to antigen-specific CD4+ T cells. *J Exp Med* 2005; 201(12): 2023-2033.
- Louwagie J, Janssens W, Mascola J, Eyndrickx LH, Hegerich P, van der Groen G, et al. Genetic Diversity of the Envelope Glycoprotein from Human Immunodeficiency Virus Type 1 Isolates of African Origin. *J.Virology* 1995; 69(1): 263–271.
- Luckay, A, Sidhu MK, Kjekken R, Megati S, Chong SY, Roopchand V, et al. Effect of plasmid DNA vaccine design and in vivo electroporation on the resulting vaccine-specific immune responses in rhesus macaques. *J. Virol.* 2007; 81: 5257-5269.
- Macgowan DJ. Dr D.J. Macgowan's report on the health of Wenchow for the half-year ended 31 March 1884. *China, imperial maritime customs medical reports* 1884; 27: 9-18.
- Mariani R, Chen D, Schröfelbauer B et al. Species-specific exclusion of APOBEC3G from HIV-1 virions by vif. *Cell* 2003; 114: 21-31.
- Marlink R, Kanki P, Thior I, Travers K, Eisen G, Siby T et al. Reduced Rate of Disease Development After HIV-2 Infection as Compared to HIV-1. *Science* 1994; 265: 1587-1590.

- Mascola JR, Snyder SW, Weislow OS, Belay SM, Belshe RB, Schwartz DH, et al. for the National Institute of Allergy and Infectious Diseases AIDS Vaccine Evaluation Group: Immunization with envelope subunit vaccine products elicits neutralizing antibodies against laboratory-adapted but not primary isolates of human immunodeficiency virus type 1. *The Journal Infectious Diseases* 1996; 173: 340-348.
- Mascola JR & Montefiori DC. The role of antibodies in HIV vaccines. *Annu. Rev. Immunol.* 2010; 28: 413-444.
- MacNeil A, Sarr AD, Sankalé JL, Meloni ST, Mboup S, Kanki P. Direct Evidence of Lower Viral Replication Rates In Vivo in Human Immunodeficiency Virus Type 2 (HIV-2) Infection than in HIV-1 Infection. *J. Virol.* 2007; 81(10): 5325-5330.
- McCormack S, Stöhr W, Barber T, Bart PA, Harari A, Moog C, et al. EV02: A Phase I trial to compare the safety and immunogenicity of HIV DNA-C prime-NYVAC-C boost to NYVAC-C alone. *Vaccine* 2008; 26: 3162-3174.
- McCutchan FE, Salminen MO, Carr JK, Burke DS. HIV-1 genetic diversity. *Aids* 1996; 10(3): 13-20.
- McCutchan FE, Carr JK, Bajani M, Sanders-Buell E, Harry TO, Stoeckli TC, et al. Subtype G and multiple forms of A/G intersubtype recombinant human immunodeficiency virus type 1 in Nigeria. *Virology* 1999; 254: 226-234.
- McCutchan FE, Salminen MO, Carr JK. Global epidemiology of HIV. *Journal of Medical Virology* 2006; 78 Supplement: S. S7-S12.
- Meers PD. Further observation on 17D-yellow fever vaccination by scarification, with and without simultaneous smallpox vaccination. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.*(1960) 54: S. 493-501.
- Mehandru S, Wrin T, Galovich J, Stiegler G, Vcelar B, Hurley A, et al. Neutralization Profiles of Newly Transmitted Human Immunodeficiency Virus Type 1 by Monoclonal Antibodies 2G12, 2F5, and 4E10. *J Virol.* 2004a; 78(24): 14039-14042.
- Miller G. *The Adoption of Inoculation for Smallpox in England and France.* University of Philadelphia, Philadelphia: 1957.
- Miller E, Farrington P, Goldacre M, Pugh S, Colville A, Flower A, et al. Risk of aseptic meningitis after measles, mumps, and rubella vaccine in UK children. *The Lancet* 1993; 341(8851): 979-982.
- Miller RH, Sarver N. HIV accessory proteins as therapeutic targets. *Nat Med* 1997; 3: 389-394.
- Miller E, Waight P, Farrington CP, Andrews N., Stowe J, Taylor B. Idiopathic thrombocytopenic purpura and MMR vaccine. *Arch Dis Child* 2001; 84(3): 227-229.
- Moore JP, Cao Y, Ho DD, Koup RA. Development of the anti-gp120 antibody response during seroconversion to human immunodeficiency virus type I. *J Virol*1994;68:5142-55.
- Murphy K. *Janeway's Immunobiology.* 7th edition. Garland Science, London 2007.
- Murray CJ, Rosenfeld LC, Lim SS, Andrews KG, Foreman KJ, Haring D, et al. Global malaria mortality between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet* 2012; 379(9814): 413-431.

- Nathanson N & Langmude AD. The cutter incident poliomyelitis following formaldehyde-inactivated poliovirus vaccination in the United States during the spring of 1955. *Am. J. Epidemiol.* 1963; 78(1): 61-81.
- Neil SJD, Zang T, Bieniasz PD: Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV-1 Vpu. *Nature* 2009; 451: 425-430.
- Nieminen U, Peltola H, Syrjälä MT, Mäkipernaa A, Kekomäki R. Acute thrombocytopenic purpura following measles, mumps and rubella vaccination. A report on 23 patients. *Acta Paediatrica* 1993; 82(3): 267–270.
- Nitayaphan S, Pitisuttithum P, Karnasuta C, Eamsila C, de Souza M, Morgan P, et al. Safety and Immunogenicity of an HIV Subtype B and E Prime-Boost Vaccine Combination in HIV-Negative Thai Adults. *The J. Infectious Dis.* 2004; 190: 702-706.
- Oberle D, Pönisch C, Weißer K, Keller-Stanislawski B, Mentzer D. Schutzimpfung gegen Rotavirusgastroenteritis - Assoziation mit dem Kawasaki-Syndrom? *Monatsschr Kinderheilkunde* 2010; 1-7.
- Ockenhouse CF, Pei-fang Sun, Lanar DE, Wellde BT, Hall BT, Kester K, et al. Phase I/IIa Safety, Immunogenicity, and Efficacy Trial of NYVAC-Pf7, a Pox-Vectored, Multiantigen, Multistage Vaccine Candidate for Plasmodium falciparum Malaria. *The Journal of Infectious Diseases* 1998;177:1664–73.
- Pantaleo G, Graziosi C, Demarest JF, Butini L, Montroni M, Fox CH, et al. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature* 1993; 362: 355-358.
- Paoletti E, Tartaglia J, Taylor J. Safe and effective poxvirus vectors-NYVAC and ALVAC. *Developments in Biological Standardization* 1994, 82:65-69.
- Pasteur L & Chamberland BE: Sur la vaccination charbonneuse. *C.R. Acad. Sc. Paris* 1881; 92: 1378-1383.
- Petousis-Harris H. Vaccine injection technique and reactogenicity—Evidence for practice. *Vaccine* 2008; 26(50): 6299-6304.
- Picker LJ, Hagen SI, Lum R, Reed-Inderbitzin EF, Daly LM, Sylwester AW, et al. Insufficient Production and Tissue Delivery of CD4+Memory T Cells in Rapidly Progressive Simian Immunodeficiency Virus Infection. *JEM* 2004; 200(10): 1299-1314.
- Pitisuttithum P, Gilbert P, Gurwith M, Heyward W, Martin M, van Griensven F, et al. For the Bangkok Vaccine Evaluation Group:Randomized, double-blind, placebo-controlled efficacy trial of a bivalent recombinant glycoprotein 120 HIV-1 vaccine among injection drug users in Bangkok, Thailand. *Journal of Infectious Diseases* 2006; 194: 1661-1671.
- Plotkin SA. Vaccines: past, present, and future. *Nature Medicine Supplement* 2005; 11(4): S5-S11.
- Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA. A short history of vaccination. *Vaccines*. Chapter 1. Elsevier; 2008.
- Popper SJ, Sarr AD, Guèye-Ndiaye A, Mboup S, Essex ME, Kanki PJ. Low Plasma Human Immunodeficiency Virus Type 2 Viral Load Is Independent of Proviral Load: Low Virus Production In Vivo. *J Virol.* 2000; 74(3): 1554-1557.
- Proebstle TM, Jugert FK, Merk HF, Gall H. Severe anaphylactic reaction to topical administration of framycetin. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96(3):429-430.

- Priddy FH, Brown D, Kublin J, Monahan K, Wright DP, Lalezari J, et al. Safety and Immunogenicity of a Replication-Incompetent Adenovirus Type 5 HIV-1 Clade B gag/pol/nef Vaccine in Healthy Adults. *Clinical Infectious Diseases* 2008; 46:1769-1781.
- Reef SE, Redd S, Abernathy E, Zimmerman L, Icenogle J. The epidemiology of rubella and CRS in the United States from 1998–2004: The evidence for absence of endemic transmission. *Clin Infect Dis* 2006; 43(Suppl)3: S126-132.
- Rerks-Ngarm S, Pitisuttithum P, Nitayaphan S, Kaewkungwal J; Chiu J, Paris R, et al. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. *New England Journal of Medicine* 2009; 361: 2209-2220.
- Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, Carr JK, Foley B, Funkhouser RK, et al. HIV-1 Nomenclature Proposal - A Reference Guide to HIV-1 Classification. IV-55, 1999
- Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, Carr JK, Foley B, Funkhouser, RK, et al. HIV-1 nomenclature proposal [letter]. *Science* 2000; 288: 55-56.
- Romano A, Viola M, Di Fonso M, Rosaria Perrone M, Gaeta F, et al. Anaphylaxis to streptomycin. *Allergy* 2002; 57(11):1087-1088
- Rubbert-Roth A, Behrens G. Pathophysiologie der HIV-Infektion. HIV-Buch 2010. Hoffmann Ch, Rockstroh JK, Hrsg.) *Medizin Fokus, Hamburg* 2010: 27-40.
- Rowland-Jones, Sutton J, Ariyoshi K, Dong T, Gotch F, McAdam S, et al. HIV-specific cytotoxic T-cell activity in HIV-exposed but uninfected Gambian woman. *Nature Med* 1995; 1: 59-64.
- Russel ND, Graham BS, Keefer MC, McElrath MJ, Self SG, Weinhold KJ, et al. Phase 2 Study of an HIV-1 Canarypox Vaccine (vCP1452) Alone and in Combination With rgp120: Negative Results Fail to Trigger a Phase 3 Correlates Trial. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2007; 44(2): 203-212.
- Saha K, Zhang, J, Zerhouni B. Evidence of Productively Infected CD8+T Cells in Patients with AIDS: Implications for HIV-1 Pathogenesis. *JAIDS*, 2001; 26: 199-207.
- Schacker TW, Collier AC, Hughes J, Shea T, Corey L: Clinical and Epidemiologic Features of Primary HIV Infection. *Ann Intern Med.* 1996; 125: 257-264.
- Schirmacher V: Tumorstoffe und aktiv spezifische Immuntherapie. *Der Internist* 1996; 37: 1050-1054.
- Schim van der Loeff MF, Awasana AA, Sarge-Njie R, van der Sande M, Jaye A, Sabally S, et al. Sixteen years of HIV surveillance in a West African research clinic reveals divergent epidemic trends of HIV-1 and HIV-2. *Int. J. Epidemiol.* 2006; 35(5): 1322-1328.
- Schmitz JE, Kuroda MJ, Santra S, Sasseville VG, Simon MA, Lifton MA, et al. Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8+ lymphocytes. *Science* 1999; 283: 857-860.
- Schneeweiß B, Pfeleiderer M, Keller-Stanislawski B. Impfsicherheit heute. *Dtsch Arztebl* 2008; 105(34-35): 590-595.
- Schwalbe J. *Gesammelte Werke von Robert Koch. Bd 1.* Verlag von Georg Thieme, Leipzig 1912.
- Seal D, Ficker L, Wright P, Andrews V. The case against thiomersal. *Lancet* 1991; 338: 315-316

- Sharp PM, Robertson DL, Gao DL, Hahn BH. Origins and diversity of human immunodeficiency viruses. *AIDS* 1994; 8(suppl 1): S.S27-S42.
- Sharp PM, Hahn BH. The evolution of HIV-1 and the origin of AIDS. *Phil. Trans. R. Soc. B* 2010; 365: 2487-2494.
- Sharp PM, Hahn BH. Origins of HIV and the AIDS Pandemic. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2011; 1: a006841.
- Sheehy A M, Nathan C, Gaddis NC, Choi JD, Malim MH. Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. *Nature* 2002; 418: 646-650.
- Sheppard HW, Lang W, Ascher MS, Vittinghoff E, Winkelstein W. The characterization of non-progressors: long-term HIV-1 infection with stable CD4+ T-cell levels. *AIDS* 1993; 7(9): 1159-1166.
- Shiver JW, Fu TM, Chen L, Casimiro DR, Davies ME, Evans RK, et al. Replication-incompetent adenoviral vaccine vector elicits effective anti-immunodeficiency-virus immunity. *Nature* 2002; 415: 331-335.
- Shiver JW, Emini EA. Recent advances in the development of HIV-1 vaccines using replication-incompetent adenovirus vectors. *Annu. Rev. Med.* 2004; 55: 355-372.
- da Silva ZJ, Cotten M, Rowland-Jondes SL, HIV-2: the forgotten AIDS virus. *Trends in Microbiology* 2008a; 16(12): 588-595.
- da Silva ZJ, Oliveira I, Andersen A, Dias F, Rodrigues A, Holmgren, B, et al. Changes in prevalence and incidence of HIV-1, HIV-2 and dual infections in urban areas of Bissau, Guinea-Bissau: is HIV-2 disappearing? *AIDS* 2008b; 22: 1195-1202.
- Simon F, Mauclore P, Roques A, Loussert-Ajaka I, Müller-Trutwin MC, et al. Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. *Nature Med* 1998; 4(9): 1032-1073.
- Song E, Zhu P, Lee SK, Lee SK, Chowdhury D, Kussman S, et al. Antibody mediated in vivo delivery of small interfering RNAs via cell-surface receptors. *Nat Biotechnol* 2005; 23: 709-717.
- Spiess H, Heining U, Jilg W (Hrsg.). *Impfkompendium*. 7.Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart und New York 2012. ISBN 9783134989076
- DeStefano F, Mullooly JP, Okoro CA, Chen RT, Marcy SM, Ward IJ, et al. Childhood vaccinations, vaccination timing and risk of type I. diabetes mellitus. *Pediatrics* 2001; 108(6): E112(1-5).
- DeStefano F, Verstraeten T, Jacksin LA. Vaccination and risk of central nervous system demyelinating diseases in adults. *Arch. Neurolo.* 2003; 60: 504-509.
- Steinbrook R. One Step Forward, Two Steps Back - Will there ever be an AIDS vaccine? *N Engl j. Med.* 2007; 357(26): 2653-2655.
- Strebel OM, Henaó-Restrepo AM, Hoekstra E, Olivé JM, Papania MJ, Cochi SL. Global Measles Elimination Efforts: The Significance of Measles Elimination in the United States. *Journal of Infectious Diseases* 2004; 189(Supplement 1): 251-257.
- Taupitz J. Die Neufassung der Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes vom Oktober 2000. *MedR Medizinrecht* 2000; 19(6): 277-286.
- Tindall B, Barker S, Donovan B, Barnes T, Roberts J, Kronenberg C, et al. Characterization of the Acute Clinical Illness Associated With Human Immunodeficiency Virus Infection. *Arch Intern Med.* 1988; 148(4): 945-949.

- UNAIDS/WHO. Global Report - UNAIDS Report on the global AIDS epidemic 2010. Geneva, Switzerland: 2010. ISBN 978-92-9173-871-7
- UNAIDS (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS). World AIDS Day Report 2011 – How to get to zero. Faster. Smarter. Better. Geneva, Switzerland: 2011.
- Vaishnav YN, Wong-Staal F. The biochemistry of AIDS. *Annu. Rev. Biochem.* 1991; 60: 577-630.
- Varthakavi V, Heimann-Nichols E, Smith RM, Sun Y, Bram RJ, Ali S, et al. Identification of calcium-modulating cyclophilin ligand as a human host restriction to HIV-1 release overcome by Vpu. *Nature Medicine* 2008; 14: 641-647.
- Velu V, Titanji K, Zhu B, Husain S, Pladevega A, Lai L, et al. *Enhancing SIV-specific immunity in vivo by PD-1 blockade.* *Nature* 2009; 458: 206-210.
- Vestergaard M, Hviid A, Meldgaard Madsen K, Wohlfahrt J, Thorsen P, Schendel D, et al. MMR Vaccination and Febrile Seizures - Evaluation of Susceptible Subgroups and Long-term Prognosis. *JAMA.* 2004; 292(3): 351-357.
- Virgin HW, Walker BO. Immunology and the elusive AIDS vaccine. *Nature* 2010; 464: 224-231.
- Ward JW, Bush TJ, Perkins HA, Lieb LE, Allen, JR, Goldfinger D, et al. The Natural History of Transfusion-Associated Infection with Human Immunodeficiency Virus. *N Engl J Med* 1989; 321: 947-952.
- Warfield KE, Blutt SE, Crawford SE, Kang G, Conner ME. Rotavirus Infection Enhances Lipopolysaccharide-Induced Intussusception in a Mouse Model. *J Virol.* 2006; 80(24): 12377-12386.
- Watkins DI. HIV Vaccine Development. 18th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. *Top Antivir Med.* 2011; 19(2): 36-37.
- Wei X, Decker JM, Wang S, Hui H, Kappes GC, Wu X, et al. Antibody neutralization and escape by HIV-1. *Nature* 2003; 422: 307-312.
- Weißer K, Bauer K, Volkert P, Keller-Stanislawski B. Thiomersal und Impfungen. *Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz* 2004; 47: 1165-1174.
- Weißer K & Keller-Stanislawski, B. Nebenwirkungen von Impfungen und Impfkomplicationen. Bleibende Schäden sind eine absolute Rarität. *Pädiatrie Hautnah* 2006; 18(2): 46.
- Weißer K, Barth I, Keller-Stanislawski B. Sicherheit von Impfstoffen. *Bundesgesundheitsbl* 2009: 1-12.
- Westby M, Lewis M, Whitcomb J, Youle M, Pozniak AL, James JT, et al. Emergence of CXCR4-Using Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Variants in a Minority of HIV-1-Infected Patients following Treatment with the CCR5 Antagonist Maraviroc Is from a Pretreatment CXCR4-Using Virus Reservoir. *J. Virol.* 2006; 80: 4909-4920.
- WHO. Accelerating progress towards the health-related Millennium Development Goals. Geneva, Switzerland 2010.
- Wiedermann-Schmidt U, Maurer W: Adjuvantien und Additive in Impfstoffen - medizinische Bedeutung. *Wien Klin Wochenschr.* 2005; (8)117: 510-519.

-
- Wille-Reece U, Flynn BJ, Loré K, Koup AR, Miles AP, Saul A, et al. Toll-like receptor agonists influence the magnitude and quality of memory T cell responses after prime-boost immunization in nonhuman primates. *J. Exp. Med.* 2006; 203: 1249-1258.
- Winter PA, Mason JH, Kuhr E, Schaafsma AW, Robinson M, Saayman LR, et al. Combined immunization against poliomyelitis diphtheria, whooping cough, tetanus and smallpox. *South African Medical Journal* 1963; 11(37): 513-515.
- Woo J, Robertson DL, Lovell SC. Constraints on HIV-1 Diversity from Protein Structure. *J. Virol.* 2010; 84(24): 12995-13003.
- Zack JA, Arrigo SJ, Weitsman SR, Go AS, Haislip A, Chen ISY. HIV-1 entry into quiescent primary lymphocytes: Molecular analysis reveals a labile, latent viral structure. *Cell* 1990; 61(2): 213-222.
- Zerhouni B, Nelson JAE, Saha K. Isolation of CD4-Independent Primary Human Immunodeficiency Virus Type 1 Isolates That Are Syncytium Inducing and Acutely Cytopathic for CD8+ Lymphocytes. *J Virol.* 2004; 78: 1243-1255.

7 Anhang

7.1 Probandentagebuch

Das Probandentagebuch hatte die üblichen Erläuterungen für die Zuordnung der Grade der Toxizitäten, Hinweise zum täglichen Ausfüllen und Hinweise zu den Notizen der Medikamenten-Anwendung (s.u.).

Anleitung zur Einteilung der Lokalreaktionen

	<i>Grad 1 - mild</i>	<i>Grad 2 - mäßig</i>	<i>Grad 3 - schwer</i>	<i>Grad 4 - Sehr schw</i>
<i>Schmerz im Muskel, in den die Injektion erfolgte (hier nicht Reaktion der Haut eintragen)</i>	<i>Keine Behandlung oder gelegentliche Einnahme von Paracetamol o. ä.</i>	<i>Regelmässige Einnahme von Paracetamol o. ä. notwendig</i>	<i>Regelmässige Einnahme starker Schmerzmittel notwendig</i>	<i>Stat. Aufnahme</i>
<i>Jucken oder Hautreizung an einer Einstichstelle</i>	<i>Keine Behandlung oder gelegentliche Einnahme von Paracetamol o.ä.</i>	<i>Regelmässige Einnahme von Paracetamol o. ä. notwendig</i>	<i>Regelmässige Einnahme starker Schmerzmittel notwendig</i>	<i>Stat. Aufnahme</i>

Lokale Symptome –bitte maximalen Schweregrad eintragen (0 falls keine Beschwerden) und max. Größe in cm																
	12 Std.		Tag 1		Tag 2		Tag 3		Tag 4		Tag 5		Tag 6		Tag 7	
	li	re	li	re	li	re	li	re	li	re	li	re	li	re	li	re
Schmerz an der Einstichstelle																
Jucken oder Hautreizung																
Rötung/Entfärbung (cm)																
Bläschen/Blasen (cm)																
Blutige Blasen (cm)																
Harte Schwellung an oder nahe der Einstichstelle (cm)																

Geburtsdatum	
Studien-Nr.	
Studienzentrum	Regensburg
Impfzyklus	1 2 3 4 Please circle as appropriate
Impfdatum	
Kontaktadressen:	
Studienzentrum Telefon	0941-9447063
Infektionsambulanz Telefon	0941-9447146
Kliniksleitstelle Telefon	0941-944-7010
Notaufnahme (Notfälle) Telefon	0941-9447075 (24h)
Paul-Ehrlich-Institut (Aufsichtsbehörde)	
Telefon	+49 6103 77 1811
Fax:	+49 6103 77 1275

7.2 Abkürzungsverzeichnis

AIDS	Acquired immunodeficiency syndrome
ART	Antiretroviral Therapy
BMI	Body Mass Index
CCR-5	Chemokin-Rezeptor 5
CRF	Zirkulierende rekombinierte Formen
CTL	Cytotoxic Lymphocytes
CXCR-4	Chemokin-Rezeptor 4
DC	Dendritische Zellen
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDCTP	European and Developing Countries Clinical Trial Partnership
EDQM	European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ELISPOT	Enzyme-linked Immuno Spot Assay
EMA	European Medicines Agency
env	Envelope-Gen
Env	Envelope-Protein
EV02	EuroVacc02-Studie
FDC	Follikuläre Dendritische Zellen
gag	group specific antigen-Gen
Gag	group specific antigen
GBA	Guillan-Barré-Syndrom
GCP	Good Clinical Practice
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase(=ASAT, Aspartat-Aminotransferase)
gp	Glycoprotein
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase (= ALAT, Alanin-Aminotransferase)
HAART	Highly active antiretroviral therapy
HIV	Human immunodeficiency virus
HLA	Human leucocyte antigen
HVTN	HIV Vaccine Trials Network
IAVI	International AIDS Vaccine Initiative

IDU	intravenous drug users
INF- γ	Interferon gamma
lat.	Lateinisch
LAV	Lymphadenopathy associated virus
LTNP	Long term non progressors
LTR	long terminal repeat
MALT	Mukosa-assoziiertes lymphatisches Gewebe
MHC	Major Histocompatibility Complex
MMRV	Masern, Mumps, Röteln, Varicellen
mRNA	Messenger RNA
MS	Multiple Sklerose
nef	negative factor
NIAID	National Institute of Allergy and Infectious Diseases
NIH-VRC	National Institutes of Health Vaccine Research Center
NRTI	Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren
Pol	Polymerase
pol	Polymerase-Gen
rev	Regulator of virion
RNA	Ribonukleinsäure
RT	Reverse Transkriptase
SFU	Spot forming units
SIV	Simian immune deficiency virus
Tat	Transactivator of transcription
TNF	Tumornekrosefaktor alpha
UNAIDS	Joint United Nations Programme on HIV/AIDS
UNICEF	United Nations International Children's Emergency Fund
VAPP	Vaccine-associated paralytic polio
VLP	Virus like particles
WHO	World Health Organisation

7.3 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1.1 Mortalität der Pockeninfektion in Schweden in der Periode 1770 bis 1850 und Impfanteil von Neugeborenen in Prozent, 1820 bis 1845 [Edwardes, 1902].
- Abbildung 1.2 HIV und seine Bestandteile [Gelderblom et al., 1993].
- Abbildung 1.3 Genetischer Aufbau eines HIV [Rubbert-Roth & Behrens, 2010].
- Abbildung 1.4 Entwicklung der HIV-Neuinfektionen und der AIDS-bedingten Todesfälle, weltweit, 1990 bis 2010 [UNAIDS, 2011].
- Abbildung 1.5 Entwicklung der Neuinfektionen (blaue Linie) und der Präventions- bzw. Behandlungskosten (schwarze Linie), weltweit, 1990 bis 2010 [UNAIDS, 2011].
- Abbildung 3.1 Impfgemeinschaft der beiden untersuchten Gruppen in der EuroVacc03 Gesamtstudie im Vergleich [Levy et al., 2010].
- Abbildung 4.1 Lokale Reaktion „Schmerz an der Einstichstelle“: Nennungen der einzelnen Probanden (P1-13) nach Grad 1 und 2.
- Abbildung 4.2 Lokale Reaktion „Pruritus“: Nennungen der einzelnen Probanden (P1-13) nach Grad 1 und 2.
- Abbildung 4.3 Lokale Reaktion „Rötung“: Nennungen der einzelnen Probanden (P1-13) nach Grad 1 und 2.
- Abbildung 4.4 Systemische Reaktion „Krankheitsgefühl“: Nennungen der einzelnen Probanden (P1-13) nach Grad 1 und 2.
- Abbildung 4.5 Anteile der Probanden mit lokalen und systemischen Nebenwirkungen (Angaben in Prozent) in Gruppe 1 (n = 7) und Gruppe 2 (n = 6).
- Abbildung 4.6 Mittelwerte der lokalen und systemischen Reaktionen, gegliedert nach den beiden Gruppen und den Reaktionsgraden.
- Abbildung 4.7 Anzahl der beobachteten lokalen Reaktionen, gegliedert nach den vier Impfterminen, den Gruppen und den Reaktionsgraden.
- Abbildung 4.8 Anzahl der beobachteten systemischen Reaktionen, gegliedert nach den vier Impfterminen, den Gruppen und den Reaktionsgraden.

7.4 Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1.1 Zahl der HIV-Infizierten 2001 und 2010, Prävalenz für Erwachsene und Jugendliche sowie Todesfälle 2010, Welt und nach Weltregionen [UNAIDS & WHO, 2011].
- Tabelle 3.1 Grundlegende Merkmale der Gruppen 1 und 2.
- Tabelle 4.1 Anzahl der Probanden nach Geschlecht und Altersgruppen.
- Tabelle 4.2 Lokale Nebenwirkungen nach Impftermin und Impfgruppe sowie Grad der Nebenwirkung.
- Tabelle 4.3 Systemische Nebenwirkungen nach Impftermin und Impfgruppe sowie Grad der Nebenwirkung.
- Tabelle 4.4 Übersicht über Laborwertabweichungen

7.5 Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen.

Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.