

Chemotherapeutika-Resistenz und neue Virusvarianten bei sexuell übertragbaren Infektionen

Chemotherapeutic Resistance and Novel Virus Variants in Sexually Transmitted Infections

M. Stürmer, H. W. Doerr, W. Preiser

Zusammenfassung: Trotz der erheblichen Schwierigkeiten aufgrund des obligaten Zellparasitismus der Viren sind heute gegen die wichtigsten sexuell übertragbaren Viren antivirale Chemotherapeutika verfügbar: Humane Immundefizienzviren (HIV-1, HIV-2), Hepatitis-B-Virus (HBV), Hepatitis-C-Virus (HCV), Herpes-simplex-Virus Typ 2 (HSV-2), Humanes Zytomegalievirus (CMV) und Humane Papillomviren (HPV).

Ein großes Problem ist die Resistenzentwicklung, nach dem klassischen Prinzip der „Mutation und Selektion“. Das in der Praxis wichtigste Beispiel ist HIV: Hier begünstigt die hohe Mutationsfrequenz bei der Bildung der intermediären cDNA aufgrund der hohen „Fehler-rate“ der Reversen Transkriptase die Resistenzentwicklung (wegen des fehlenden „Proofreading“-Mechanismus von RNA-Polymerasen); auch die Replikationsstrategie des HBV ist von einem Reverse Transkriptions-Schritt abhängig. Daher ist eine möglichst vollständige Suppression der Virusreplikation – gemessen an der „Viruslast“ – das Ziel jeder antiretroviralen (heutzutage obligatorischen Kombinations-)Therapie. Primär resistente HIV-Stämme werden in Industrieländern mittlerweile häufig übertragen.

Weitere Resistenz-begünstigende Faktoren sind starke Replikationsaktivität, reduzierte Immunüberwachung oder suboptimale Suppression, etwa durch ungenügende Wirkstoffspiegel, z.B. aufgrund schlechter Compliance oder zellulärer anti-drug Mechanismen. Obwohl das Resistenzproblem bei den anderen viralen Erregern nicht dasselbe Ausmaß erreicht wie beim HIV, kommt es auch hier mitunter zur Entstehung einer antiviralen Resistenz.

Faustregel: Je virusspezifischer ein Medikament ist, desto leichter wird es durch eine Mutation „ausgehebelt“. Daher wird in Zukunft die Problematik der Resistenzentwicklung vermehrte Aufmerksamkeit erfordern. Die virologische Kontrolle („Monitoring“) des Therapieerfolges („Viruslast“-Testung) und die frühzeitige Erkennung neuer, therapieresistenter Virusvarianten

(durch Phäno- und Genotypisierung) haben sich als wichtige zusätzliche Aufgabenfelder der virologischen Laboratoriumsdiagnostik herauskristallisiert.

Schlüsselwörter: antivirale Chemotherapie; Resistenz; Virusvarianten; sexuell übertragbare Viren.

Summary: Despite considerable difficulties due to the intracellular parasitic nature of viruses, antiviral chemotherapeutic agents are today available against the most important sexually transmissible viruses: human immunodeficiency viruses (HIV-1, HIV-2), hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), herpes simplex virus type 2 (HSV-2), human cytomegalovirus (CMV) and human papillomaviruses (HPV).

A formidable problem is the development of resistance, following the classical principle of „mutation and selection“. The best known example is HIV: Here the high incidence of mutation during formation of the intermediary cDNA due to the high „error rate“ of reverse transcriptase favours the development of resistance (because of the missing proofreading mechanism of RNA polymerases); the replication strategy of HBV, too, depends on a reverse transcription step. Therefore the, if possible, complete suppression of viral replication – assessed by „viral load“ measurements – is today the goal of all antiretroviral (combination) therapy. Primarily resistant HIV strains are nowadays frequently transmitted in industrialised countries.

Other factors favouring resistance are high replicative activity, reduced immune surveillance and suboptimal suppression, e.g. through insufficient drug levels due to low compliance or cellular anti-drug mechanisms. Although the problem of resistance does not reach the same level of significance in other viruses as it does in HIV, antiviral resistance may also occur here in some cases.

As a rule, the more virus-specific a drug is, the more easily its effect is countered by a mutation. Therefore the problem of development of resistance will require more attention in future. The virological monitoring of treatment success („viral load“ testing) and the early detection of novel, therapy-resistant viral variants (through pheno- or genotyping) have become important new areas of virological laboratory diagnosis.

Keywords: antiviral chemotherapy; resistance; virus variants; sexually transmissible viruses.

Institut für Medizinische Virologie, Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Deutschland.

Korrespondenz: Dr. rer. nat. Martin Stürmer, Institut für Medizinische Virologie

Klinikum der J. W. Goethe-Universität, Paul-Ehrlich-Straße 40, 60 596 Frankfurt am Main, Deutschland.

Tel.: +49 69 63 01 64 54

Fax: +49 69 6301 64 77

E-mail: M.Stuermer@em.uni-frankfurt.de

Tabelle 1 Sexuell übertragbare Viren und virale Erreger von genitalen Infektionen, gegen die eine Chemotherapie verfügbar ist

Virus	Krankheitsassoziation
Sexuell übertragbare Viren	
Humane Immundefizienzviren (HIV-1, HIV-2)	Erworbenes Immunschwächesyndrom AIDS
Hepatitis-B-Virus (HBV)	akute Virushepatitis, chronische Virushepatitis, Leberzirrhose, Leberzellkarzinom
Hepatitis-C-Virus (HCV)	seltene akute Virushepatitis, häufig chronische Virushepatitis, Leberzirrhose, Leberzellkarzinom
Humanes Zytomegalievirus (CMV)	meist inapparent, beim Immunsupprimierten teilweise schwere Manifestationen (CMV-Retinitis, -Kolitis, -Hepatitis etc.)
Virale Geschlechtskrankheiten	
Herpes-simplex-Virus Typ 2 (HSV-2)	Herpes genitalis (seltener durch HSV-1 verursacht), Herpes neonatorum; cave: häufig unerkannte oder subklinische Infektionen
Humane Papillomviren (HPV)	oft inapparente Infektionen, gutartige Papillome, bei sogenannten „Hochrisiko“-HPV-Typen Zervixkarzinom etc.

Die Hauptschwierigkeit bei der Entwicklung spezifischer antiviraler Chemotherapeutika ist der obligate Zellparasitismus der Viren. Mittlerweile wurden jedoch zahlreiche virusspezifische Schritte während der Virusvermehrung identifiziert, welche potentielle Angriffspunkte für nebenwirkungsarme Chemotherapeutika bieten. Dazu zählen Inhibitoren viraler Enzyme wie Polymerasen und Proteasen, aber auch Hemmstoffe der Translation, des Attachments an die Wirtszelle oder der Freisetzung neugebildeter Virionen [1, 2].

Mittlerweile sind gegen die wichtigsten sexuell übertragbaren oder genitale Infektionen verursachenden Viren (siehe Tabelle 1) antivirale Therapieoptionen verfügbar [3, 4]. Hierzu zählen in erster Linie die beiden Typen des Humanen Immundefizienzvirus (HIV-1, HIV-2), das Hepatitis-B-Virus (HBV), das Hepatitis-C-Virus (HCV), die Herpesviren Herpes-simplex-Virus Typ 2 (HSV-2) und Humanes Zytomegalievirus (CMV) sowie die Humanen Papillomviren (HPV) [5, 6].

Die Behandlung der Virusinfektion mit dem Ziel der Eradikation ist nur in wenigen Fällen therapeutisches Ziel, etwa bei chronischen Infektionen mit dem Hepatitis B- (HBV) oder dem Hepatitis-C-Virus (HCV). Weder bei der HIV-Infektion – mit Ausnahme der extrem früh nach dem Infektionszeitpunkt eingesetzten Post-expositionsprophylaxe – noch bei den Herpesviren gelingt es, die lebenslange Viruspersistenz im Organismus zu beenden. Eine antivirale Chemotherapie richtet sich somit in erster Linie gegen die virusbedingte Erkrankung, nicht gegen die Infektion als solche. Bei einer zunehmenden Zahl von Erregern hat sich nach Entwicklung quantitativer Methoden zum Virusnachweis gezeigt, daß die Menge (Konzentration) an Virus (gemessen meist über das virale Genom) mit der Schwere des Krankheitsbildes korreliert. Auch umgekehrt – d. h. nach Senkung der „Viruslast“ durch antivirale Therapie – zeigt sich diese Korrelation: Je besser die Reduktion

der Viruslast als Ausdruck der fortbestehenden viralen Replikationsaktivität gelingt, desto größer der Therapieerfolg [7].

Humanes Immundefizienzvirus (HIV)

Die sicherlich spektakulärsten Fortschritte konnten bei der Behandlung der HIV-Infektion erzielt werden. Durch den Einsatz von Zidovudin als Hemmer der Reversen Transkriptase im Jahre 1987 [8] konnte die Viruslast nur über einen sehr kurzen Zeitraum unterdrückt werden. Das Vorhandensein von resistenten Virusvarianten wurde bei Therapieversagen unter Zidovudin-Monotherapie beobachtet [9], kurze Zeit später konnten spezifische Mutationen im Reverse Transkriptase-Gen mit diesem Therapieversagen korreliert werden [10]. Auch der Einsatz von Kombinationstherapien führte vorerst nur zu einer vorläufigen Reduktion der Viruslast, wenn auch effektiver als mit Monotherapien [11]. Erst mit dem Einsatz von potenteren Medikamenten wie Lamivudin seit dem Jahre 1995 [12] gelang es, die Viruslast über einen längeren Zeitraum zu unterdrücken. Der Durchbruch in der HIV-Therapie erfolgte mit der Einführung der Proteasehemmer im Jahre 1996. Die Dreifachkombination aus Hemmern der Reversen Transkriptase und der Protease war den bisherigen Therapieoptionen deutlich überlegen [13] und wird als HAART (= hochaktive antiretrovirale Therapie) bezeichnet [14, 15]. Damit ist es zumindest in den Industrieländern gelungen, die AIDS-bedingte Morbidität und Mortalität sehr stark zu reduzieren [16] (Abb. 1). Mittlerweile sind 16 antiretrovirale Substanzen in Deutschland zugelassen (Tabelle 2); diese gehören drei unterschiedlichen Substanzklassen an und hemmen zwei verschiedene virale Enzyme, die Reverse Transkriptase und die Protease (Abb. 2).

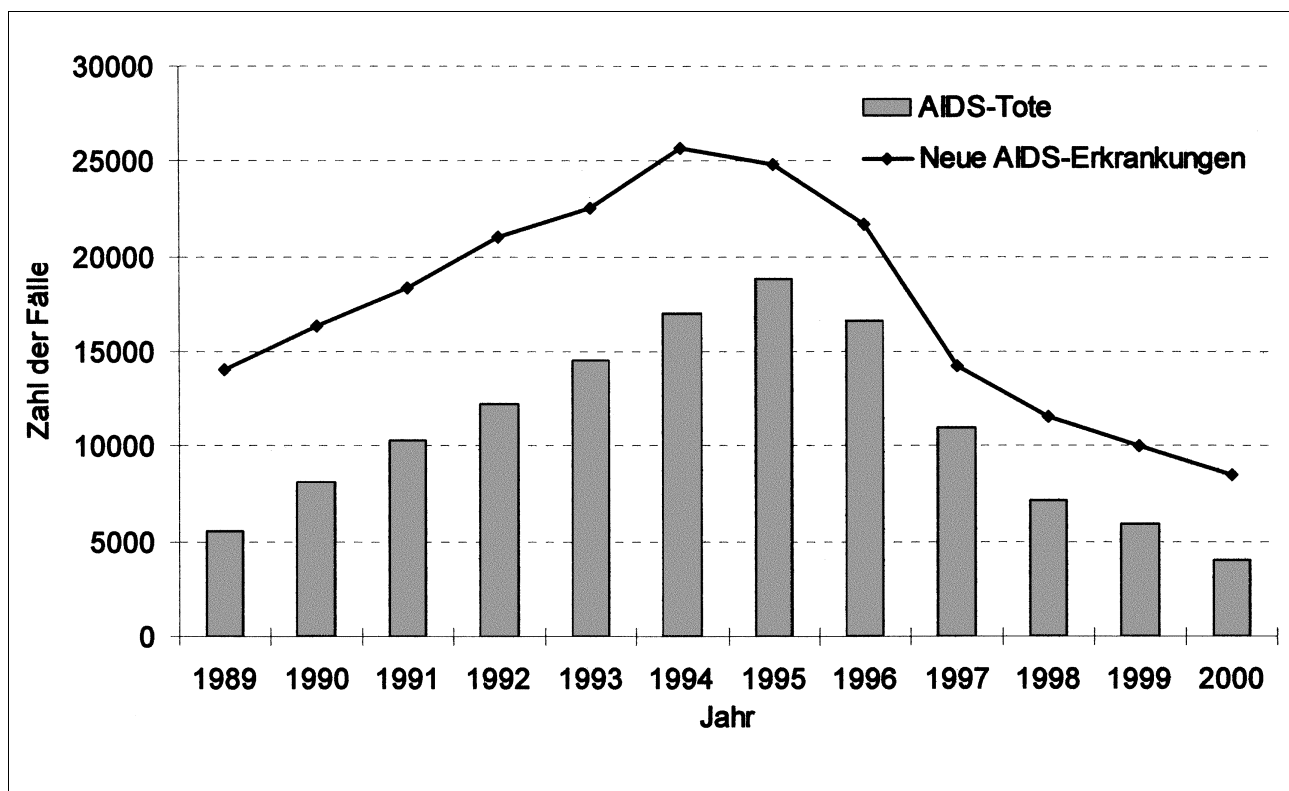


Abbildung 1 Jährliche Todes- und Erkrankungsfälle an AIDS in Westeuropa von 1989 bis 2000. Quelle: European Centre for the Epidemiological Monitoring of AIDS, 2001

Trotz dieser Erfolge sprechen viele Patienten nicht oder nur ungenügend auf eine HAART an [17, 18, 19]. Damit ist das Therapieversagen eines der Hauptprobleme der antiretroviralen Chemotherapie. Es darf jedoch keinesfalls mit einem Medikamentenversagen gleichgesetzt werden, denn neben einer viralen Resistenzentwicklung können eine Reihe weiterer Faktoren zum Versagen der Therapie führen [17, 18, 19] und ihrerseits, sekundär, wiederum ein Medikamentenversagen begünstigen. An vorderster Stelle stehen mangelnde Compliance bei der Einnahme, pharmakologische und pharmakokinetische Probleme – wie z. B. verminderte Resorption aus dem Darm oder Interaktionen mit anderen Medikamenten über das Cytochrom P450-System [20] – und Änderungen des intrazellulären Metabolismus, z. B. mit der Folge einer mangelnden Aktivierung von nukleosidalen Reverse Transkriptase-Inhibitoren [21, 22] (zelluläre Resistenz).

Ein Medikamentenversagen im eigentlichen Sinne wird durch eine virale Resistenzentwicklung verursacht. Es scheint, daß Viren mit Resistenzmutationen im *pol*-Gen bereits vor Beginn der Therapie als minoritäre Varianten (Quasispezies) vorliegen und im Verlauf der Therapie selektioniert werden [23]. Durch die relativ hohe Fehlerquote bei der Reversen Transkription (die *in vivo*-Mutationsrate von HIV-1 liegt zwischen 1 zu 1000 und 1 zu 10000 pro Base [24, 25]) sowie der

außerordentlich große Menge an täglich neu produzierten Viren (ca. 10^9 Viren/Tag) [26, 27] sind sämtliche Varianten in mehr oder minder großer Anzahl vorhanden. Welche Viruspopulation dominant ist, hängt von dem Einfluß der jeweiligen Mutationen auf die „Fitness“ des Virus ab. Ein durch eine Therapie induzierter Selektionsdruck kann bei suboptimaler Suppression der Virusreplikation relativ schnell zur Selektion der resistenten Varianten führen, die dann die neue dominante Population darstellen [28]. Die Potenz der antiviralen Medikation spielt hierbei eine wichtige Rolle (Abb. 3): Man versucht in der Praxis, möglichst übergangslos von keiner antiretroviralen Potenz (d. h. untherapiert, im Diagramm ganz links) hin zu einer vollständigen Suppression der Virusreplikation zu gelangen (ganz rechts), da bei Fehlen einer Replikationsaktivität keine Mutationen auftreten und selektiert werden können. Andererseits spielt die Übertragung von bereits resistenten Virusvarianten in Ländern mit breit verfügbarer HAART eine zunehmende Rolle [29].

Grundsätzlich gibt es zwei Möglichkeiten, eine virale Resistenz zu bestimmen: Mit Hilfe der genotypischen Resistenzbestimmung werden die entsprechenden Gene sequenziert und daraus die Aminosäuresequenz bestimmt [30]. Neben der Sequenzierung als Standardmethode existieren noch einige weitere Methoden: Mutationen können mittels einer spezifischen PCR

Tabelle 2 In Deutschland derzeit (Sommer 2002) verfügbare antiretrovirale Chemotherapeutika

I. Reverse Transkriptase-Inhibitoren (RTI)	
I. a) Nukleosidale Reverse Transkriptase-Inhibitoren (NRTI)	
Zidovudine (ZDV, AZT)	Retrovir® (GlaxoSmithKline)
Didanosine (ddI)	Videx® (Bristol-Myers Squibb)
Zalcitabine (ddC)	HIVID® (Roche)
Stavudine (d4T)	Zerit® (Bristol-Myers Squibb)
Lamivudine (3TC)	Epivir® (GlaxoSmithKline)
Abacavir (ABC)	Ziagen® (GlaxoSmithKline)
Tenofovir Disoproxil Fumarat (TDF)	Viread® (Gilead)
fixe Kombinationen:	
AZT + 3TC	Combivir® (GlaxoSmithKline)
AZT + 3TC + ABC	Trizivir® (GlaxoSmithKline)
I. b) Nicht-Nukleosidale Reverse Transkriptase-Inhibitoren (NNRTI)	
Nevirapine (NVP)	Viramune® (Boehringer Ingelh.)
Delavirdine (DLV)	Rescriptor® (Pharmacia Upjohn/Pfizer)
Efavirenz (EFV)	Sustiva® (DuPont/Bristol-Myers Squibb)
II. Protease-Inhibitoren (PI)	
Saquinavir (SQV)	Invirase®, Fortovase® (Roche)
Ritonavir (RTV)	Norvir® (Abbott)
Indinavir (IDV)	Crixivan® (MSD)
Nelfinavir (NFV)	Viracept® (Roche/Agouron/Pfizer)
Amprenavir (APV)	Agenerase® (GlaxoSmithKline)
Lopinavir (+ low-dose Ritonavir) (LPV)	Kaletra® (Abbott)

nachgewiesen werden, bei der von zwei Primerpaaren jeweils ein Primer nur den Wildtyp, der andere nur die Mutante detektiert [31]. Zwei weitere Systeme basieren auf der Hybridisierungstechnik, der LiPA-Test [32] sowie der GeneChip [33]. Zur Zeit sind für jedes der 16 zugelassenen Medikamente Mutationen bekannt, die zu einer Resistenz führen [34]. Das vorhandene Mutationsmuster wird dann zur Interpretation genutzt, in wie weit die einzelnen Medikamente wirksam sind. Bei der phänotypischen Resistenzbestimmung wird das Wachstum des Virus in Gegenwart der antiretroviralen Medikamente gemessen. Dafür wird entweder das Virus aus dem Patienten isoliert, oder der zu testende Genbereich mittels PCR amplifiziert und mit einem Laborvirus rekombiniert. Das isolierte bzw. rekombinierte Virus wird dann auf einer Zellkultur in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen von antiretroviralen Substanzen angezüchtet und mit einem mitgeführten Laborstamm verglichen. Der Quotient aus der Medikamentenkonzentration, bei der das Patientenvirus zu 50 % inhibiert ist (IC_{50}), und der IC_{50} des Laborvirus ergibt den Resistenzfaktor, der für jedes Medikament individuell ist [35].

Verschiedene Studien zeigen den Nutzen der Resistenztestung bei der Therapie der HIV-Infektion. Für

die Genotypisierung zeigt sich relativ eindeutig, daß bei vorbehandelten Patienten mit Therapieversagen ohne Resistenztestung ein geringerer Abfall der Virusmenge nach Umstellung der Therapie erfolgt, als bei Patienten mit Resistenztestung [36, 37, 38, 39]. Eine Studie zur Effektivität der Phänotypisierung zeigen, daß durch den Resistenztest mehr wirksame Medikamente ausgewählt werden und damit die Reduktion der Viruslast bei diesen Patienten größer ist als bei Patienten ohne Phänotypisierung [40]. In einer weiteren Studie zeigt sich kein Nutzen der Resistenztestung, sowohl für die Genotypisierung als auch für die Phänotypisierung [41]. Diese Ergebnisse sowie die Tatsache, daß trotz Resistenztest in den anderen Studien immer noch ein relativ großer Teil der Patienten nicht auf die neue Therapie anspricht, zeigen die Notwendigkeit, das vorhandene Verständnis der Resistenzentwicklung bei HIV weiter zu vertiefen [30].

Virushepatitis B und C

Eine akute Infektion mit dem Hepatitis B-Virus (HBV) führt mit einer Wahrscheinlichkeit zwischen 5 % im Erwachsenenalter und über 90 % beim perinatal infizier-

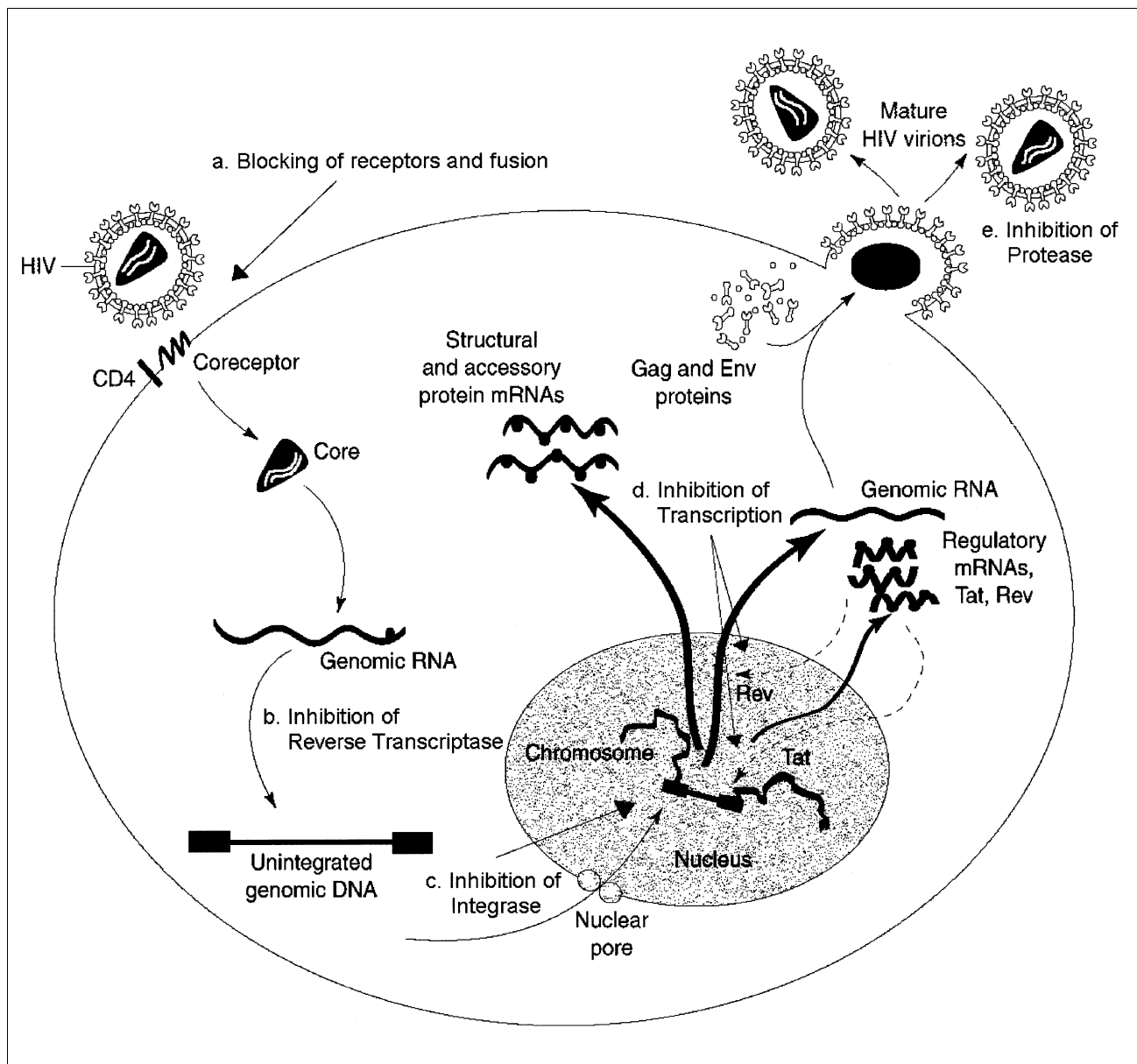


Abbildung 2 Replikationszyklus von HIV-1 mit möglichen Angriffspunkten einer antiretroviralen Chemotherapie

ten Neugeborenen zu einer chronischen Infektion. Bei einer Infektion mit dem Hepatitis C-Virus (HCV) hingegen kommt es in jedem Lebensalter in der Mehrzahl der Fälle zur Chronifizierung. Mögliche Langzeitfolgen einer chronisch-aktiven Infektion mit HBV oder HCV sind Leberzirrhose und hepatozelluläres Karzinom.

Eine antivirale Therapie der chronischen, histologisch gesicherten Virushepatitis B oder C mit Markern einer Virusreplikation (Nachweis von HBe-Antigen oder HBV-DNA bzw. HCV-RNA) kann mittels Interferon alpha-2a oder alpha-2b erfolgen. Der antivirale Effekt von Interferonen ist vielschichtig; zu einer immu-

modulierenden Wirkung (erhöhte MHC-Klasse I und II-Expression auf der Zelloberfläche, Induktion eines „antiviralen Zustandes“ der Zelle) kommt eine direkt antivirale, etwa durch Inaktivierung von viralen Boten-RNAs [42].

Die Erfolgsaussichten einer solchen – teuren, nebenwirkungsreichen und langdauernden (sechs bis zwölf Monate) – Interferon-Behandlung sind jedoch bei beiden Erregern eher mäßig, bei der Hepatitis C mit im Schnitt unter 20 Prozent sogar ausgesprochen dürftig. Hierbei spielen Faktoren wie Lebensalter des Patienten, HCV-„Viruslast“ (höhere Erfolgsrate wenn niedriger),

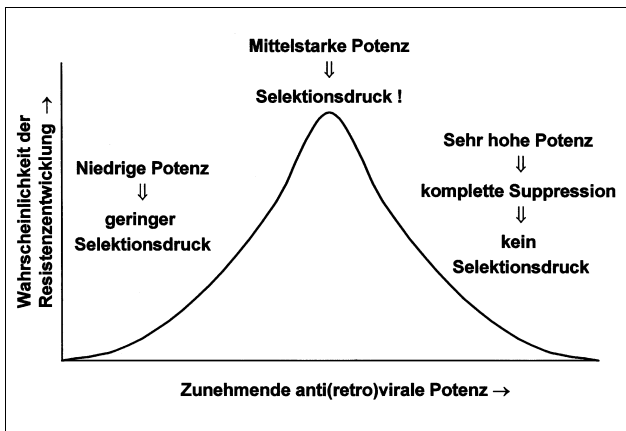


Abbildung 3 Zusammenhang zwischen Potenz der anti(retro)viralen Medikation und Wahrscheinlichkeit der Resistenzentwicklung

viraler Genotyp (besser bei Genotyp 2 oder 3, nicht 1) und die „interferon sensitivity-determining region“ (ISDR) im HCV-Nichtstrukturprotein NS5A eine Rolle [43]. Nach neuesten Ergebnissen kann eine frühzeitige Interferon-Behandlung die Chronifizierung einer akuten HCV-Infektion verhindern [44].

Eine Kombinationstherapie der chronischen Hepatitis C mit Interferon und dem – alleine gegen HCV wirkungslosen – Virostatikum Ribavirin (auch gegen Infektionen mit Respiratorischem Synzytial-, Hanta- und Lassaviren eingesetzt) verbessert die Aussicht auf eine nachhaltige Viruselimination erheblich, auf ca. 40 % HCV-RNA-Negativität 6 Monate nach Therapieende [45] und ist daher heutzutage fester Bestandteil der aktuellen Therapieempfehlungen [46].

Die Replikationsstrategie des HBV ist wie die des HIV von einem Reverse Transkriptions-Schritt abhängig. Das aus der HIV-Therapie bekannte Lamivudin (3TC) hat ebenfalls eine Wirksamkeit gegen die Reverse Transkriptase-Aktivität der DNA-Polymerase des HBV [47] und ist mittlerweile für diese Indikation zugelassen [48, 49]. Interessanterweise kommt es auch hierbei relativ rasch zu einer Resistenzentwicklung [50, 51]. Lamivudin-resistente HBV-Stämme zeichnen sich durch das sogenannte „YMDD“-Motiv in der viralen Polymerase aus, welches auch eine der resistenzvermittelnden Mutationen in der Reversen Transkriptase des HIV darstellt. Die dadurch bedingten strukturellen und Konformationsänderungen der Polymerase resultieren in einer verminderten Affinität für das Nukleosidanalogon [52]. Derzeit laufen außerdem Versuche mit Adefovir-Dipivoxil (bis-POM PMEAs; Preveon, Gilead), einem azyklischen Nukleotidphosphonat-Analogon [53]. Ferner haben auch das Penciclovir und das Famciclovir eine HBV-supprimierende Wirkung und befinden sich in klinischer Erprobung [54, 55]. Letztendlich wird wahrscheinlich auch beim HBV nur eine Kombinati-

onstherapie die Erfolgsraten der antiviralen Therapie verbessern können.

Die häufige Re-Infektion der Transplantatleber stellt ein großes Problem dar bei Patienten, die wegen fortgeschrittenen Leberversagens eine Lebertransplantation erhalten. Zusätzlich zu hohen Dosen HBV-Hyperimmunglobulin werden hierbei Lamivudin und andere Nukleosidanaloga verabreicht.

Herpesviren: Herpes-simplex-Virus Typ 2 (HSV-2) und Humanes Zytomegalievirus (CMV)

Die frühen, gegen Herpesviren aktiven Mittel Idoxuridin und Vidarabin zeichnen sich aus durch eine relativ geringe antivirale Wirksamkeit bei zugleich hoher Toxizität, das heißt eine geringe Selektivität; sie werden daher heute allenfalls noch topisch eingesetzt. Das erste Medikament mit hochspezifischer antiviraler Wirkung überhaupt war das Acyclovir (ACV), der Prototyp der Nukleosidanaloga. Es verfügt über einen breiten therapeutischen Index, d.h. es ist in antiviral wirksamen Konzentrationen nur gering toxisch. ACV ist in erster Linie gegen α -Herpesviren, in geringerem Maße auch gegen andere Herpesviren wirksam.

Die hohe Selektivität des ACV ist durch mehrere Faktoren bedingt. Nach Aufnahme in die Zelle muß die Substanz zunächst in ein Nukleotid umgewandelt werden, um als solches der DNA-Polymerase als Substrat dienen zu können (Schema siehe Abb. 4). Die Monophosphorylierung erfolgt hierbei durch die vom Virusgenom des HSV kodierte Thymidinkinasen, während das ACV gegenüber zellulären Kinasen nur eine sehr geringe Affinität besitzt. Zelluläre Enzyme überführen dann das ACV-Monophosphat in das ACV-Triphosphat. Dieses wiederum hat eine vielfach (10- bis 30-mal) stärkere Affinität zur viralen als zur zellulären DNA-Polymerase, so daß selektiv das virale Enzym gehemmt wird. Neben einer Blockierung der viralen DNA-Polymerase wirkt das ACV auch durch seinen Einbau in den in Synthese befindlichen viralen DNA-Strang, denn durch die Abwesenheit der vollständigen Ringstruktur der Desoxyribose (daher der Name A-Cyclo-vir) kommt es zum Kettenabbruch.

Prinzipiell gilt, daß bei vitaler Indikation Acyclovir intravenös gegeben werden sollte, da seine orale Bioverfügbarkeit mit etwa 20 % gering und eine topische Gabe meist nur bei oralen Herpes-simplex-Manifestationen ausreichend ist. Ist eine orale Verabreichung, wie in den meisten Fällen von Herpes genitalis, angemessen, so sollte trotz ihres höheren Preises den oralen Prodrugs der Vorzug gegeben werden. Das Valaciclovir (Val-ACV) wird als Valin-Ester des Acyclovir deutlich besser (zu ca. 55 %) resorbiert und anschließend zu Acyclovir hydrolysiert; somit ermöglicht es geringere orale Dosierungen und längere Dosierungsabstände bei ansonsten identischem Wirkspektrum und Aktivierungsmechanismus. Das Penciclovir (PCV) entspricht

Tabelle 3 In Deutschland derzeit (Sommer 2002) verfügbare antivirale Chemotherapeutika. UAW = unerwünschte Arzneimittelwirkungen

Wirksubstanz	Handelsname, Hersteller	Anmerkung
<u>α-Herpesviren: Herpes-simplex-Virus Typ 1 und 2 (HSV-1, HSV-2); Varizella-Zoster-Virus (VZV) – Systemica</u>		
Acyclovir (ACV)	Zovirax [®] , GlaxoSmithKline u. v. a.	erstes hochselektives Virustatikum, wenig UAW, doch geringe und schwankende orale Bioverfügbarkeit
Valaciclovir (Val-ACV)	Valtrex [®] , GlaxoSmithKline	ACV-Prodrug mit guter oraler Bioverfügbarkeit
Famciclovir	Famvir [®] , Novartis Pharma	orales Penciclovir-Prodrug, gute orale Bioverfügbarkeit
Brivudin (BVDU)	Zostex [®] , Berlin Chemie	gute orale Bioverfügbarkeit, nicht gegen HSV-2
<u>Zytomegalievirus (CMV)</u>		
Ganciclovir (DHPG, GCV)	Cymeven [®] , Syntex/Roche	geringe orale Bioverfügbarkeit, toxischer als ACV
Valganciclovir	Valcyte [®] , Patheon/Roche	GCV-Prodrug mit verbesserter oraler Bioverfügbarkeit
Foscarnet (PFA, FOS)	Foscavir [®] , Astra Zeneca	nicht-kompetitiver Hemmer der DNA-Polymerase
Cidofovir (HPMPC, CDV)	Vistide [®] , Pharmacia	Phosphonat: initiale Monophosphorylierung durch virales Enzym entfällt
Fomiviren	Vitravene [®] , Isis/Ciba Vision	einziges „Antisense“-Medikament; nur topisch (intravitreal)
<u>Hepatitis-B- und Hepatitis-C-Virus (HBV, HCV)</u>		
Interferon α – 2a	Roferon-A [®] , Roche	bei chronischer Hepatitis B oder C; starke subjektiv empfundene UAW; durch Pegylierung verbesserte Pharmakokinetik: gleichmäßigere Wirkstoffspiegel
Interferon α – 2b (rekombinant)	Intron A [®] , Essex Pharma	
Interferon alfacon-1	Inferax [®] , Yamanouchi	
Peginterferon α – 2b, liposomal (PEG)	PegIntron [®] , Essex Pharma	
Lamivudin (3TC)	Zeffix [®] , GlaxoSmithKline	bei HBV-Infektion; gegen HIV als Efavir [®] im Handel
Ribavirin	Rebetol [®] , Essex Pharma	oral bei chronischer HCV-Infektion in Kombination mit Interferon; per inhalationem bei schweren Infektionen mit dem respiratorischen Synzytialvirus (RSV) als Virazole [®] (ICN)
<u>Humane Papillomviren (HPV)</u>		
Imiquimod („Immune Response Modifier“)	Aldara Creme [®] , 3 M Medica	Follikelstimulation; bei HPV-Infektion; bei Genitalwarzen
Podophyllotoxin	Condylox [®] (Wolff), Wartec [®] (Stiefel)	
Interferon β human	Fiblaferon [®] Gel (biosyn)	
Cidofovir (HPMPC)	Vistide [®] (Pharmacia)	
Chirurgische u. a. Verfahren: Exzision, Kryotherapie, CO ₂ -Laser-Vaporisation, Elektrokoagulation, Trichloressigsäure		

in seinem Aktivitätsspektrum weitgehend dem ACV. Allerdings wird es enteral praktisch nicht resorbiert und daher nur in Form seines 6-Desoxy-Diacetylestern, Famciclovir (FAM), als orales Prodrug mit einer Bio-

verfügbarkeit von etwa 75 % eingesetzt. Analog dem Valaciclovir ist auch das Famciclovir zur Behandlung des primären und rezidivierenden genitalen Herpes und des Herpes zoster zugelassen.

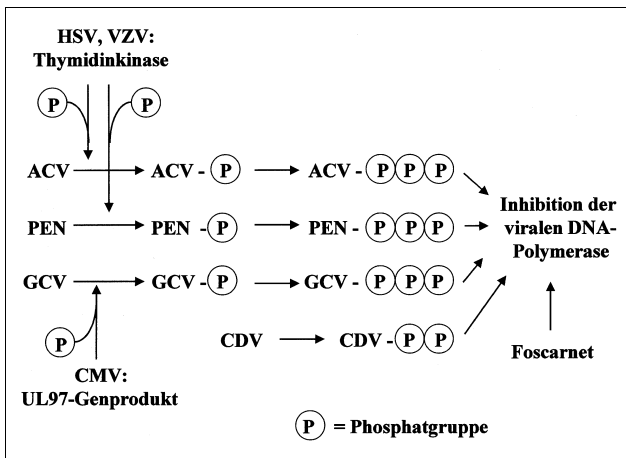


Abbildung 4 Antivirale Therapie der Herpesviren: intrazelluläre Phosphorylierung. Während ACV (Acyclovir), PEN (Penciclovir, bei oraler Einnahme von Famciclovir) und GCV (Ganciclovir) zunächst von viralen Enzymen monophosphoryliert werden müssen, entfällt dieser erste Schritt bei dem bereits monophosphorylierten CDV (Cidofovir) und dem allosterischen DNA-Polymerasehemmer Foscarnet

Heute gelingt es nicht nur, akute Herpes-simplex-Erkrankungen – sowohl bei Primärinfektion als auch durch Rekurrenz ausgelöst – erfolgreich zu behandeln; eine vorbeugende – sogenannte suppressive – Behandlung mit der – individuell zu ermittelnden – geringstmöglichen Dosis ACV vermag bei Patienten mit häufig wiederkehrenden Herpes genitalis-Rezidiven die Lebensqualität bedeutend zu verbessern.

Prinzipiell muß eine gezielte antivirale Therapie frühstmöglich beginnen, um die Erkrankungsschwere und -dauer beeinflussen zu können. In keinem Falle jedoch gelingt natürlich die Elimination des Herpesvirus, denn der lebenslang andauernde Latenzzustand ist einer Chemotherapie nicht zugänglich. Aufgrund der insgesamt sehr guten Verträglichkeit und geringen Toxizität des Acyclovir besteht kaum jemals ein triftiger Grund, vor einer klinisch indizierten Verwendung zurückzuschrecken [56].

Gegen antivirale Medikamente resistente HSV-Infektionen sind glücklicherweise relativ selten [57] und werden fast ausschließlich bei Immunsupprimierten gefunden (z. B. AIDS-Patienten mit hartnäckig rezidivierendem und therapieresistentem Herpes genitalis). Selbst unter langfristiger suppressiver Therapie treten beim Immungesunden keine resistenten HSV-2-Varianten auf. Der häufigste Resistenzmechanismus gegenüber den oben behandelten DNA-Polymerasehemmern beruht auf Mutationen der viralen Thymidinkinasen [58] und dadurch bedingt verminderte oder ganz fehlende Phosphorylierung der Medikamente. In diesen Fällen kann eine erfolgreiche Therapie mittels Cidofovir (CDV, HPMPC) – welches als Nukleosidphosphonat nicht auf die initiale Phosphorylierung angewiesen ist [59, 60] – oder das Pyrophosphatanalogon Foscarnet

(PFA, FOS) – einen allosterisch durch Interaktion mit der Pyrophosphatbindungsstelle wirkenden, nicht-kompetitiven Hemmer der DNA-Polymerase – erfolgen [61]. Beruht die antivirale Resistenz hingegen auf einer Mutation des für die virale DNA-Polymerase kodierenden Gens [62], so liegt meist eine Kreuzresistenz gegenüber allen DNA-Polymerasehemmern vor (vgl. dazu auch Abb. 4).

Klinisch signifikante Erkrankungen durch das Zytomegalievirus (CMV) können zwar auch bei Immungesunden auftreten, vor allem während der Fetalperiode, doch besteht eine Therapieindikation fast ausschließlich bei Patienten mit AIDS oder iatrogener Immunsuppression beispielsweise nach Organ- oder Knochenmarktransplantation.

Acyclovir und Penciclovir haben nur eine relativ schwach hemmende Wirkung auf die Replikation des CMV und werden deshalb allenfalls prophylaktisch eingesetzt. Mittel der Wahl ist das Nukleosidanalogon Ganciclovir (GCV, DHPG) [63]. Verglichen mit Acyclovir ist es jedoch deutlich toxischer; insbesondere die dadurch ausgelöste Myelotoxizität mit vorwiegend Neutro-, seltener Thrombopenie macht sich etwa bei Knochenmarktransplantierten nachteilig bemerkbar. Auch das Ganciclovir hat nur eine geringe Bioverfügbarkeit (5 bis 9%). Analog dem Valaciclovir wurde auch für das Ganciclovir ein Valinester, das Valganciclovir, als oral zu verabreichendes Prodrug entwickelt. Jüngste klinische Studien zeigen eine gute Wirksamkeit sogar zur Induktionstherapie bei CMV-Retinitis [64].

Auch beim Ganciclovir erfolgt eine intrazelluläre Phosphorylierung zum eigentlich wirksamen, d. h. die DNA-Polymerase hemmenden Triphosphat (d. h. Nukleotid). Der erste Phosphorylierungsschritt wird hierbei durch das UL97-Genprodukt des CMV, eine Phosphotransferase, vermittelt, die Bi- und Triphosphorylierung wiederum durch zellkodierte Enzyme (Abb. 4). Auch hier betrifft die Mehrzahl der klinisch beobachteten Resistenz-vermittelnden Mutationen das UL97-Genprodukt, weniger häufig das UL54-Genprodukt, die virale DNA-Polymerase [65, 66]. Resistenzen werden klinisch meist bei Immunkompromittierten gesehen, die langfristig antiviral therapiert werden müssen, ohne daß ihre körpereigene Abwehr imstande ist, der aktiven Infektion Herr zu werden [67, 68, 69].

Kann Ganciclovir aufgrund seines Nebenwirkungsspektrums nicht eingesetzt werden oder besteht der Verdacht auf eine Resistenz, so bietet Foscarnet als allosterischer DNA-Polymerasehemmer eine Alternative (siehe oben). Auch hierbei bereitet die Toxizität (Nierenfunktionsstörungen, Elektrolytverschiebungen) häufig Probleme.

Eine weitere Alternative zum Ganciclovir stellt das Cidofovir dar. Es ist in Deutschland bislang zur Behandlung der CMV-Retinitis bei AIDS-Patienten (als Therapie der zweiten Wahl) zugelassen. Auch Cidofovir muß intravenös verabreicht werden, und zwar 5 mg pro kg Körpergewicht einmal wöchentlich (sic!; aufgrund der langen intrazellulären Halbwertszeit). Gleichzeitig

mit der Cidofovir-Infusion müssen Probenecid per os und ausreichend physiologische Kochsalzlösung intravenös verabreicht werden, um die Gefahr der (dosisabhängigen) Nephrotoxizität zu vermindern. Dazu muß eine engmaschige Kontrolle von Nierenfunktion und Blutbild erfolgen. Die beträchtliche Toxizität ist eines der Hauptprobleme des Cidofovir: Neben der Nierenschädigung kann es zu Neutropenie, Senkung des Augeninnendruckes, Übelkeit, Erbrechen und Fieber führen.

Das Cidofovir ist ein Nukleosid-Phosphonat-Analogon. Eine Monophosphorylierung durch ein Virus-kodiertes Enzym und damit ein möglicher Resistenzmechanismus entfallen; die für die Phosphorylierung zum CDV-Diphosphat (CDVpp), dem funktionellen Analogon zum Nukleosid-Triphosphat, erforderlichen zwei Phosphorylierungsschritte erfolgen durch zelluläre Enzyme. Als CDV-pp inhibiert CDV die virale DNA-Polymerase und kompetiert mit dem natürlichen Substrat, Desoxycytosin-Triphosphat. Cidofovir hat ein breites Wirkungsspektrum gegen zahlreiche DNA-Viren, darunter Herpes-, Adeno-, Papilloma-, Polyoma- und Pockenviren [70, 71].

Als weltweit erstes „Antisense“-Präparat ist Fomivirsen (ISIS 2922) zur intravitrealen Injektion bei anderweitig nicht behandelbaren Fällen von CMV-Retinitis zugelassen.

Generell gilt, daß bei weiterbestehender Immunsuppression die genannten Substanzen zwar das Fortschreiten der HCMV-Infektion verlangsamen, die Erkrankung aber nicht heilen können. Daher muß etwa bei der CMV-Retinitis auf die sogenannte Induktionstherapie mit Ganciclovir eine Erhaltungstherapie (Sekundärprophylaxe) folgen, wobei Valganciclovir eine große Erleichterung verspricht. Insgesamt hat jedoch die Bedeutung von opportunistischen CMV-Infektionen bei HIV-Infizierten seit der breiten Einführung der hochaktiven antiretroviralen Therapie (HAART) Mitte der neunziger Jahre stark nachgelassen [72]. Bei iatrogen Immunsupprimierten spielen CMV-Infektionen und -Erkrankungen weiterhin eine große Rolle.

Da sich eine einmal manifeste CMV-assoziierte Erkrankung oft nur schlecht oder gar nicht antiviral behandeln läßt – bei der CMV-Pneumonitis nach Knochenmarktransplantation sterben mehr als 50 % der Erkrankten trotz antiviraler Therapie –, verlegte man sich recht früh auf eine prophylaktische antivirale Chemotherapie von Risikopatienten. Jedoch stellte sich heraus, daß dadurch aufgrund der Nebenwirkungen die Prognose insgesamt nicht verbessert wurde; zwar traten signifikant weniger CMV-Erkrankungen auf, doch aufgrund der später einsetzenden Immunrekonstitution wurden vermehrt bakterielle und Pilzinfektionen gefunden. Daher verwendet man heutzutage meist ein sogenanntes prä-emptives Konzept: Hierbei werden Risikopatienten regelmäßig (meist wöchentlich) mittels hochempfindlicher Methoden auf das Vorliegen einer aktiven CMV-Infektion getestet; liegt eine solche vor, wird dann – noch bevor es zu einer klinischen CMV-Er-

krankung kommt – antiviral therapiert (Tabelle 3) [73, 74]. Auf diese Weise kombiniert man den Vorteil einer therapeutischen Gabe (daß nämlich allen nicht betroffenen Patienten die Toxizität der antiviralen Therapie erspart bleibt) mit dem der Prophylaxe (daß es nämlich nicht zum Ausbruch einer CMV-Erkrankung kommt). Gegenwärtig gibt es zahlreiche Bemühungen, Protokolle und Testverfahren für prä-emptive Ansätze weiter zu optimieren [75, 76, 77, 78].

Humane Papillomviren (HPV)

Hierbei spielt die antivirale Chemotherapie eine geringere Rolle; in erster Linie kommen chirurgische Verfahren wie Exzision, Kryotherapie, CO₂-Laser-Vaporisation, Elektrokoagulation oder chemische Verätzung mittels Trichloressigsäure zum Einsatz. Für gutartige HPV-induzierte Gewebswucherungen kann topisch Podophyllotoxin eingesetzt werden oder mittels intraläsionaler Injektion Cidofovir, welches jedoch für diese Indikation nicht zugelassen ist [79, 80, 81]. Ferner versucht man, durch Stimulation der lokalen körpereigenen Abwehr mittels Interferon-Gel oder indirekt mit Hilfe des „Immune Response Modifiers“ Imiquimod die Läsionen zum Abheilen zu bekommen [82]. Eine Resistenzentwicklung spielt hierbei keine Rolle.

Ausblick

Aufgrund erheblicher Fortschritte bei der Virusforschung, insbesondere auf molekularbiologischem Gebiet, hat die Entwicklung antiviraler Wirkstoffe in den vergangenen Jahren eine erhebliche Beschleunigung erfahren. Ein zunehmendes Problem stellt die antivirale Resistenzentwicklung dar. Obwohl das Resistenzproblem bei den anderen viralen Erregern nicht dasselbe Ausmaß erreicht wie beim HIV, kommt es auch hier mitunter zur Entstehung einer antiviralen Resistenz, vorwiegend bei immunsupprimierten Patienten.

Als Faustregel gilt: Je virusspezifischer ein Medikament ist, desto leichter wird es durch eine Mutation „ausgehebelt“. Daher wird in Zukunft die Problematik der Resistenzentwicklung vermehrte Aufmerksamkeit erfordern. Die virologische Kontrolle („Monitoring“) des Therapieerfolges („Viruslast“-Testung) und die frühzeitige Erkennung neuer, therapieresistenter Virusvarianten (durch Phäno- und Genotypisierung) haben sich als wichtige zusätzliche Aufgabenfelder der virologischen Laboratoriumsdiagnostik herauskristallisiert [83].

Neben entsprechenden therapeutischen Strategien – obligatorische, synergistisch wirkende antiretrovirale Kombinationstherapie gegen HIV, präemptives Management bei CMV-Risikopatienten, regelmäßiges „Monitoring“ des Therapieerfolges – zur Vermeidung einer Resistenzentwicklung beruhen Hoffnungen auf

der Weiterentwicklung des antiviralen Wirkstoffarsenals.

Neben den Erfolgen des gezielten „drug design“, das heißt der meist computergestützten Entwicklung neuer Wirkstoffe anhand genau bekannter viraler Strukturen, können auch vergleichsweise einfache Modifikationen (etwa zur Steigerung der oralen Bioverfügbarkeit) zu signifikanten Verbesserungen der antiviralen Therapie führen. Als Beispiele neuer Therapieentwicklungen durch Derivatisierung seien genannt: erhöhte Bioverfügbarkeit durch Gabe von Prodrugs (Valaciclovir – HSV-2; Valganciclovir – CMV); durch Kopplung an Polyethylenglykol-Ketten optimierte Pharmakokinetik und somit verbesserte Ansprechrate von Interferon (pegyliertes IFN – HCV); PI-Boosterung durch Hemmung des Cytochrom P450-Metabolismus (Kaletra®: Kombination aus Lopinavir mit low-dose Ritonavir – HIV) [20].

Bei bereits verwendeten Angriffspunkten ist mit Neuentwicklungen zu rechnen, z.B. die Nukleosid-Phosphonat-Analoga Adefovir (PMEA) und Tenofovir (PMPA) [84]. Zudem werden große Hoffnungen gesetzt auf neuartige therapeutische Angriffsziele („targets“), im Falle der HIV-Therapie etwa: Korezeptor-Antagonisten, Adsorptions-(gp120-) und Fusions-(gp41-)Inhibitoren [85, 86], Antisense-Oligonukleotide, Integrase-[87] und Transkriptions-(Transaktivations-)Inhibitoren. Zahlreiche Substanzen erreichen jedoch trotz guter antiviraler Wirksamkeit nie den klinischen Einsatz; an ihrer zuvor unerwarteten erheblichen Toxizität scheiterten zwei Präparate gegen die chronische Virushepatitis B, das Thymidin-Nukleosidanalogon Fialuridin [88] und das Guanosin-Nukleosidanalogon Lobucavir.

Literatur

- Doerr HW, Preiser W, Weber B. Neue Entwicklungen in der antiviralen Chemotherapie. *Immun Infekt* 1993;21(6):171–176.
- B. Weber, M. Stürmer, W. Preiser. Grundlagen der Therapie. In: Doerr HW, Gerlich WH (Hrsg.) *Medizinische Virologie: Grundlagen, Diagnostik und Therapie virologischer Krankheitsbilder* (Lehrbuch). Stuttgart, New York: Gustav Thieme Verlag. 1. Auflage 2002;100–115.
- Preiser W, Berger A, Doerr HW. Neue Ansätze in der Therapie viraler Erkrankungen. *Deutsches Ärzteblatt* 2000;97 [Heft 50]: A3433–3439.
- Arzneimittelkommission der Deutschen Ärzteschaft. *Arzneiverordnungen. Kapitel 4: Virusinfektionen*. 19. Auflage. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag 2000.
- Balfour HH Jr. Antiviral drugs (Review). *N Engl J Med*. 1999; 340(16):1255–1268.
- De Clercq E. Antiviral drugs: current state of the art. *Journal of Clinical Virology* 2001;22:73–89.
- O'Brien TR, Blattner WA, Waters D, et al. Serum HIV-1 RNA levels and time to development of AIDS in the Multicenter Hemophilia Cohort Study. *JAMA* 1996;276(2):105–110.
- Fischl M, Richman D, Grieco M, et al. The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex: A double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med* 1987;317:185–191.
- Larder BA, Darby G, Richman DD. HIV with Reduced Sensitivity to Zidovudine (AZT) Isolated During Prolonged Therapy. *Science* 1989a;243:1731–1734.
- Larder BA, Kemp SD. Multiple Mutations in HIV-1 Reverse Transcriptase Confer High-Level Resistance to Zidovudine (AZT). *Science* 1989b;246:1155–1158.
- Collier AC, Coombs RW, Fischl MA, et al. Combination therapy with zidovudine and didanosine compared with zidovudine alone in HIV-1 infection. *Ann Intern Med* 1993;119:786–793.
- Eron JJ, Benoit SL, Jemsek J, et al. Treatment with lamivudine, zidovudine, or both in HIV-positive patients with 200 to 500 CD4+ cells per cubic millimeter: North American HIV working party. *N Engl J Med* 1995;333:1662–1669.
- Hammer S, Squires K, Hughes M, et al. A controlled trial of two nucleoside analogues plus didanosine in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. *N Engl J Med* 1997;337:725–733.
- Brockmeyer NH, Salzberger B, Doerr HW, Marcus U, Brodt HR. Antiretrovirale Therapie der HIV-Infektion. *Dt Ärztebl* 2001; 98[Heft 4]:A175–181.
- Lange CG, Stellbrink H-J, van Lunzen J. Indikationen zur Therapie der HIV-Infektion. *Dt Ärztebl* 2002;99[Heft 9]:A 570–576.
- Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining Morbidity and Mortality among Patients with Advanced Human Immunodeficiency Virus Infection. *N Engl J Med* 1998;338:853–860.
- d'Arminio Monforte A, Testa L, Adorni F, et al. Clinical outcome and predictive factors of failure of highly active antiretroviral therapy in antiretroviral-experienced patients in advanced stages of HIV-1 infection. *AIDS* 1998;12(13):1631–1637.
- van Roon EN, Verzijl JM, Juttmann JR, et al. Incidence of discontinuation of highly active antiretroviral combination therapy (HAART) and its determinants. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1999;20(3):290–294.
- Wit FW, van Leeuwen R, Weverling GJ, et al. Outcome and predictors of failure of highly active antiretroviral therapy: one-year follow-up of a cohort of human immunodeficiency virus type 1-infected persons. *J Infect Dis* 1999;179(4):790–798.
- van Heeswijk R P, Veldkamp A, Mulder J W, et al. Combination of protease inhibitors for the treatment of HIV-1-infected patients: a review of pharmacokinetics and clinical experience. *Antivir Ther* 2001;6(4):201–229.
- Antonelli G, Turriziani O, Verri A, et al. Long-term exposure to zidovudine affects in vitro and in vivo the efficiency of phosphorylation of thymidine kinase. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1996;12 (3):223–228.
- Gröschel B, Cinatl J, Cinatl J Jr. Viral and cellular factors for resistance against antiretroviral agents. *Intervirology* 1997;40(5–6):400–407.
- Mohri H, Singh MK, Ching WT, et al. Quantitation of Zidovudine-resistant Human Immunodeficiency Virus Type 1 in the Blood of Treated and Untreated Patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:25–29.
- Mansky LM, Temin HM. Lower In Vivo Mutation Rate of Human Immunodeficiency Virus Type 1 than That Predicted from the Fidelity of Purified Reverse Transcriptase. *J Virol* 1995;69: 5087–5094.
- Preston BD, Poiesz BJ, Loeb LA. Fidelity of HIV-1 reverse transcriptase. *Science* 1988;242:1168–1171.
- Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, et al. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995;373:123–126.
- Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995;373:117–122.
- Larder BA. Viral resistance and the selection of antiretroviral combinations. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1995; 10(Suppl 1):S28–33.

29. Yerly S, Kaiser L, Race E, Bru JP, Clavel F, Perrin L. Transmission of antiretroviral-drug-resistant HIV-1 variants. *Lancet* 1999; 354:729–733.
30. Stürmer M. Korrelation von Genotyp und phänotypischer Resistenz gegen Reverse Transkriptase-Inhibitoren bei HIV-1. S. 81–160. In: Cinatl J Jr, Doerr HW, Gröschel B (Hrsg.) Wege zur Aufklärung der Therapieresistenz bei Erkrankungen durch HIV-Infektion: Virale und zelluläre Faktoren. Lengerich etc., Pabst Science Publishers 2001.
31. Kaye S, Loveday C, Tedder RS. A microtitre format point mutation assay: application to the detection of drug resistance in human immunodeficiency virus type-1 infected patients treated with zidovudine. *J Med Virol* 1992;37(4):241–246.
32. Stuyver L, Wyseur A, Rombout A, et al. Line probe assay for rapid detection of drug-selected mutations in the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase gene. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41(2):284–291.
33. Vahey M, Nau ME, Barrick S, et al. Performance of the Affymetrix GeneChip HIV PRT 440 platform for antiretroviral drug resistance genotyping of human immunodeficiency virus type 1 clades and viral isolates with length polymorphisms. *J Clin Microbiol* 1999;37(8):2533–7.
34. Hirsch MS, Brun-Vezinet F, D'Aquila RT, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. *JAMA* 2000;283(18):2417–2426.
35. Harrigan PR, Montaner JS, Wegner SA, et al. World-wide variation in HIV-1 phenotypic susceptibility in untreated individuals: biologically relevant values for resistance testing. *AIDS* 2001; 15(13):1671–1677.
36. Durant J, Clevenbergh P, Halfon P, et al. Drug-resistance genotyping in HIV-1 therapy: the VIRADAPT randomised controlled trial. *Lancet* 1999;353(9171):2195–2199.
37. Baxter JD, Mayers DL, Wentworth DN, et al. A randomized study of antiretroviral management based on plasma genotypic antiretroviral resistance testing in patients failing therapy. CPCRA 046 Study Team for the Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS. *AIDS* 2000;14(9):F83–93.
38. Cingolani A, Antinori A, Rizzo MG, et al. Usefulness of monitoring HIV drug resistance and adherence in individuals failing highly active antiretroviral therapy: a randomized study (ARGENTA). *AIDS* 2002;16(3):369–379.
39. Tural C, Ruiz L, Holtzer C, et al. Clinical utility of HIV-1 genotyping and expert advice: the Havana trial. *AIDS* 2002;16(2):209–218.
40. Cohen CJ, Hunt S, Sension M, et al. A randomized trial assessing the impact of phenotypic resistance testing on antiretroviral therapy. *AIDS* 2002;16(4):579–588.
41. Meynard JL, Vray M, Morand-Joubert L, et al. Phenotypic or genotypic resistance testing for choosing antiretroviral therapy after treatment failure: a randomized trial. *AIDS* 2002;16(5):727–736.
42. Tossing G. New developments in interferon therapy. *Eur J Med Res* 2001;6(2):47–65.
43. Taylor DR, Shi ST, Romano PR, Barber GN, Lai MMC. Inhibition of the interferon-inducible protein kinase PKR by HCV E2 Protein. *Science* 1999;285(5424):107–110.
44. Jaeckel E, Cornberg M, Wedemeyer H, Santantonio T, Mayer J, Zankel M, Pastore G, Dietrich M, Trautwein C, Manns MP. Treatment of acute hepatitis C with interferon alfa-2b. *N Engl J Med*. 2001;345(20):1452–1457.
45. Brillanti S, Garson J, Folli M, Whitby K, Deaville R, Masci C, Miglioli M, Barbara L. A pilot study of combination therapy with ribavirin plus interferon alfa for interferon alfa-resistant chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1994;107(3):812–817.
46. European Association for the Study of the Liver (EASL). EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Paris: Consensus statement. *J Hepatol* 1999;30(5):956–961.
47. Summers J, Mason WS. Replication of the genome of a hepatitis B-like virus by reverse transcription of an RNA intermediate. *Cell* 1982;29(2):403–415.
48. Dienstag JL, Perrillo RP, Schiff ER, Bartholomew M, Vicary C, Rubin M. A preliminary trial of lamivudine for chronic hepatitis B infection. *N Engl J Med* 1995;333(25):1657–1661.
49. Lai CL, Chien RN, Leung NW, Chang TT, Guan R, Tai DI, Ng KY, Wu PC, Dent JC, Barber J, Stephenson SL, Gray DF. A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. Asia Hepatitis lamivudine study group. *N Engl J Med* 1998;339(2):61–68.
50. Ling R, Mutimer D, Ahmed M, Boxall EH, Elias E, Dusheiko GM, Harrison TJ. Selection of mutations in the hepatitis B virus polymerase during therapy of transplant recipients with lamivudine. *Hepatology* 1996;24(3):711–713.
51. Tipples GA, Ma MM, Fischer KP, Bain VG, Kneteman NM, Tyrrell DL. Mutation in HBV RNA-dependent DNA polymerase confers resistance to lamivudine in vivo. *Hepatology*. 1996;24(3):714–717.
52. Zoulim F. Detection of hepatitis B virus resistance to antivirals. *J Clin Virol* 2001;21:243–253.
53. Gilson RJ, Chopra KB, Newell AM, Murray-Lyon IM, Nelson MR, Rice SJ, Tedder RS, Toole J, Jaffe HS, Weller IV. A placebo-controlled phase I/II study of adefovir dipivoxil in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat* 1999;6(5):387–395.
54. Zoulim F, Treppe C. New antiviral agents for the therapy of chronic hepatitis B virus infection. *Intervirology* 1999;42(2–3):125–144.
55. De Clercq E. Perspectives for the treatment of hepatitis B virus infections. *Int J Antimicrob Agents* 1999;12(2):81–95.
56. Wutzler P, Petersen EE, Doerr HW, Gross G, Petzoldt D, Weissenbacher ER. Der Herpes genitalis. *Dt Ärzteblatt* 1999;96 [Heft 38]:A-2358–2364.
57. Shin YK, Cai GY, Weinberg A, Leary JJ, Levin MJ. Frequency of acyclovir-resistant herpes simplex virus in clinical specimens and laboratory isolates. *J Clin Microbiol* 2001;39(3):913–917.
58. Schnipper LE, Crumpacker CS. Resistance of herpes simplex virus to acycloguanosine: role of viral thymidine kinase and DNA polymerase loci. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980;77(4):2270–2273.
59. Lateef F, Don PC, Kaufmann M, White SM, Weinberg JM. Treatment of acyclovir-resistant, foscarnet-unresponsive HSV infection with topical cidofovir in a child with AIDS. *Arch Dermatol* 1998;134(9):1169–1170.
60. Blot N, Schneider P, Young P, Janvresse C, Dehesdin D, Tron P, Vannier JP. Treatment of an acyclovir and foscarnet-resistant herpes simplex virus infection with cidofovir in a child after an unrelated bone marrow transplant. *Bone Marrow Transplant* 2000;26(8):903–905.
61. Pechere M, Wunderli W, Trellu-Toutous L, Harms M, Saura JH, Krischer J. Treatment of acyclovir-resistant herpetic ulceration with topical foscarnet and antiviral sensitivity analysis. *Dermatology* 1998;197(3):278–280.
62. Andrei G, Snoeck R, De Clercq E, Esnouf R, Fiten P, Opdenakker G. Resistance of herpes simplex virus type 1 against different phosphonylmethoxyalkyl derivatives of purines and pyrimidines due to specific mutations in the viral DNA polymerase gene. *J Gen Virol* 2000;81(Pt 3):639–648.
63. Vogel JU, Scholz M, Cinatl J Jr. Treatment of cytomegalovirus diseases. *Intervirology* 1997;40(5–6):357–367.
64. Martin DF, Sierra-Madero J, Walmsley S, et al. A controlled trial of valganciclovir as induction therapy for cytomegalovirus retinitis. *N Engl J Med* 2002;346:1119–1126.
65. Pillay D. Emergence and control of resistance to antiviral drugs in herpes viruses, hepatitis B virus, and HIV. *Comm Dis Public Health* 1998;1:5–13.

66. Mousavi-Jazi M, Schloss L, Drew WL, Linde A, Miner RC, Harmenberg J, Wahren B, Brytting M. Variations in the cytomegalovirus DNA polymerase and phosphotransferase genes in relation to foscarnet and ganciclovir sensitivity. *J Clin Virol* 2001;23(1-2):1-15.
67. Chou S. Antiviral drug resistance in human cytomegalovirus. *Transpl Infect Dis* 1999 ;1(2):105-114.
68. Gilbert C, LeBlanc MH, Boivin G. Case study: rapid emergence of a cytomegalovirus UL97 mutant in a heart-transplant recipient on pre-emptive ganciclovir therapy. *Herpes* 2001;8(3):80-82.
69. Emery VC. Progress in understanding cytomegalovirus drug resistance. *J Clin Virol* 2001;21(3):223-228.
70. Albrecht H. Cidofovir. *Arzneimitteltherapie* 1997;9:267-274.
71. Safrin S, Cherrington J, Jaffe HS. Clinical uses of cidofovir. *Rev Med Virol* 1997;7:145-156.
72. Deayton JR. Changing trends in cytomegalovirus disease in HIV-infected patients. *Herpes* 2001;8(2):37-40.
73. de Jong MD, Boucher CA, Danner SA, Gazzard B, Griffiths PD, Katlama C, Lange JM, Richman DD, Vella S. Summary of the international consensus symposium on management of HIV, CMV and hepatitis virus infections. *Antiviral Res* 1998a;37(1):1-16.
74. de Jong MD, Galasso GJ, Gazzard B, Griffiths PD, Jabs DA, Kern ER, Spector SA. Summary of the II International Symposium on Cytomegalovirus. *Antiviral Res* 1998;39(3):141-162.
75. Peggs KS, Preiser W, Kottaridis PD, McKeag N, Brink NS, Tedder RS, Goldstone AH, Linch DC, Mackinnon S. Extended routine polymerase chain reaction surveillance and pre-emptive antiviral therapy for cytomegalovirus after allogeneic transplantation. *Br J Haematol* 2000;111(3):782-790.
76. Preiser W, Brauninger S, Schwerdtfeger R, Ayliffe U, Garson JA, Brink NS, Franck S, Doerr HW, Rabenau HF. Evaluation of diagnostic methods for the detection of cytomegalovirus in recipients of allogeneic stem cell transplants. *J Clin Virol* 2001;20(1-2):59-70.
77. Reusser P, Einsele H, Lee J, Volin L, Rovira M, Engelhard D, Finke J, Cordonnier C, Link H, Ljungman P. Randomized multicenter trial of foscarnet versus ganciclovir for preemptive therapy of cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2002;99(4):1159-64.
78. Berger A, Preiser W. Viral genome quantification as a tool for improving patient management: the example of HIV, HBV, HCV and CMV. *J Antimicrob Chemother* 2002;49(5):713-721.
79. Safrin S, Cherrington J, Jaffe HS. Clinical uses of cidofovir. *Rev Med Virol* 1997;7:145-156.
80. Snoeck R, Wellens W, Desloovere C, Van Ranst M, Naesens L, De Clercq E, Feenstra L. Treatment of severe laryngeal papillomatosis with intralesional injections of cidofovir [(S)-1-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl)cytosine]. *J Med Virol* 1998;54 (3):219-225.
81. Preiser W, Kapur N, Snoeck R, Groves RW, Brink NS. No apparent effect of cidofovir in epidermodysplasia verruciformis. *J Clin Virol* 2000;16:55-57.
82. Garland SM, Sellors JW, Wikstrom A, Petersen CS, Aranda C, Aractingi S, Maw RD. Imiquimod 5 % cream is a safe and effective self-applied treatment for anogenital warts-results of an open-label, multicentre Phase IIIB trial. *Int J STD AIDS*. 2001;12(11):722-729.
83. Linde A. The importance of specific virus diagnosis and monitoring for antiviral treatment (Review). *Antiviral Res* 2001;51(2):81-94.
84. Schooley RT, Ruane P, Myers RA, Beall G, Lampiris H, Berger D, Chen SS, Miller MD, Isaacson E, Cheng AK. Tenofovir DF in antiretroviral-experienced patients: results from a 48-week, randomized, double-blind study. *AIDS*. 2002;16(9):1257-1263.
85. Kilby JM, Hopkins S, Venetta TM, DiMassimo B, Cloud GA, Lee JY, Alldredge L, Hunter E, Lambert D, Bolognesi D, Matthews T, Johnson MR, Nowak MA, Shaw GM, Saag MS. Potent suppression of HIV-1 replication in humans by T-20, a peptide inhibitor of gp41-mediated virus entry. *Nat Med*. 1998;4(11):1302-1307.
86. Pilcher CD, Eron JJ Jr, Ngo L, Dusek A, Sista P, Gleavy J, Brooks D, Venetta T, DiMassimo E, Hopkins S. Prolonged therapy with the fusion inhibitor T-20 in combination with oral antiretroviral agents in an HIV-infected individual. *AIDS*. 1999;13(15):2171-2173.
87. d'Angelo J, Mouscadet JF, Desmaele D, Zouhiri F, Leh H. HIV-1 integrase: the next target for AIDS therapy? *Pathol Biol (Paris)*. 2001;49(3):237-246.
88. McKenzie R, Fried MW, Sallie R, Conjeevaram H, Di Bisceglie AM, Park Y, Savarese B, Kleiner D, Tsokos M, Luciano C, Pruett T, Stotka JL, Straus SE, Hoofnagle JH. Hepatic failure and lactic acidosis due to fialuridine (FIAU), an investigational nucleoside analogue for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1995;333 (17):1099-1105.