

Aus der Klinik für Neurologie und dem
Institut für Neuropathologie Sektion Neuroimmunologie und
Neuroinflammation
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

HIV-assoziierte Myositiden und die Rolle der
zytotoxischen T-Zellen bei der Einschlusskörperchenmyositis

HIV-associated myositis and the key role of cytotoxic T cells
in inclusion body myositis

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Sinja Kristin Vogt

Datum der Promotion: 30.11.2023

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	1
Abbildungsverzeichnis.....	4
Tabellenverzeichnis.....	5
Zusammenfassung.....	6
Abstract.....	8
1 Einleitung.....	10
1.1 Myositiden.....	10
1.1.1 Klassifikation.....	10
1.1.2 Overlap Myositis und Antisynthetase-Syndrom.....	12
1.1.3 Dermatomyositis.....	13
1.1.4 Immunvermittelte-nekrotisierende Myopathie.....	14
1.1.5 PM-Mito.....	14
1.1.6 Einschlusskörperchenmyositis.....	16
1.1.6.1 Epidemiologie.....	16
1.1.6.2 Klinische Manifestation.....	16
1.1.6.3 Paraklinische Merkmale.....	16
1.1.6.4 Therapie.....	17
1.1.6.4.1 Intravenöse Immunglobuline.....	18
1.1.6.5 Histologie.....	19
1.1.6.6 Pathophysiologie.....	20
1.1.6.7 T-Zellen.....	21
1.2 HIV.....	23
1.2.1 Epidemiologie.....	24
1.2.2 Klinische Manifestation, Diagnostik, Klassifikation.....	25
1.2.2.1 Die natürliche Infektion.....	25
1.2.2.2 CDC-Klassifikation.....	26
1.2.3 Chronische Non-AIDS Komorbiditäten.....	26

1.2.4	HIV-assoziierte neurologische Erkrankungen	28
1.2.4.1	HIV-assoziierte Myopathien	30
1.2.5	Therapie	31
1.2.5.1	UAW bei cART	31
1.2.6	Pathophysiologie	32
1.2.6.1	Replikationszyklus	32
1.2.6.2	HIV-1 Latenz	33
1.2.6.3	T-Zellen	33
1.3	Ziel des Forschungsprojekts	35
2	Material	37
2.1	Reagenzien	37
2.2	Antikörper	37
2.3	PCR-Sonden	38
2.4	Kommerzielle Kits und Enzyme	38
2.5	Geräte	38
3	Methodik	39
3.1	Patient*innenkollektiv	39
3.2	Datenschutz und ethische Richtlinien	41
3.3	Klinische Daten	41
3.4	Histologie	42
3.4.1	Anfertigung von Gefrierschnitten und Einzelfärbungen	42
3.4.2	Immunfluoreszenz mit LCO	43
3.4.3	Immunfluoreszenzdoppelfärbungen	43
3.4.4	Histologische Auswertung	44
3.5	Analyse der Genexpression	51
3.5.1	RNA-Isolation	51
3.5.2	cDNA Synthese	51
3.5.3	Quantitative Real Time Polymerase Kettenreaktion	52

3.5.4	Analyse und Auswertung.....	53
3.5.5	Statistische Auswertung	53
4	Ergebnisse	54
4.1	Klinische Daten.....	54
4.1.1	Demographische Daten.....	54
4.1.2	HIV-Vorgeschichte	54
4.1.3	Muskelspezifische Daten.....	56
4.1.3.1	Krankheitsgeschichte und klinische Untersuchung	56
4.1.3.2	Paraklinische Untersuchungen	57
4.1.3.3	Therapie.....	58
4.2	Histomorphologische Charakterisierung	59
4.2.1	Spektrum HIV-assoziiierter Myositiden	59
4.2.1.1	IMNM-like.....	62
4.2.1.2	Milde Myositis mit milder mitochondrialer Pathologie.....	64
4.2.1.3	PM-Mito.....	66
4.2.1.4	Milde Myositis mit vaskulärer Inflammation/kapillärer Pathologie	68
4.2.2	Histomorphologischer Vergleich HIV-IBM und sIBM	70
4.3	Zytotoxische T-Zellen bei HIV-IBM und sIBM.....	75
4.3.1	Einteilung in Differenzierungsstadien	75
4.3.1.1	Proteinebene.....	75
4.3.1.2	Genexpressionsebene	79
4.3.2	Immunregulatorische Moleküle	81
4.3.2.1	Proteinebene.....	81
4.3.2.2	Genexpressionsebene	83
4.4	Einzelauswertungen: HIV-IBM 1	85
4.4.1	Klinik.....	85
4.4.1.1	HIV-Vorgeschichte	85
4.4.1.2	Muskelbezogene Symptomatik	86

4.4.2	Histomorphologie	87
4.4.3	Genexpression	92
5	Diskussion.....	93
5.1	Spektrum HIV-assoziiertes Myositiden.....	94
5.2	Klinischer und histomorphologischer Vergleich HIV-IBM und sIBM.....	98
5.3	Hochdifferenzierte zytotoxische T-Zellen bei HIV-assoziiertes Myositis.....	101
5.4	Fallbeschreibung: HIV-IBM im Verlauf.....	103
5.5	Fazit und Ausblick	106
6	Literaturverzeichnis	108
7	Eidesstattliche Erklärung.....	117
8	Lebenslauf	118
9	Danksagungen	119
10	Bescheinigung Statistik.....	120

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
AIDS	acquired immune deficiency syndrome
ANPD	Asymptomatisches HIV-assoziiertes neuropsychologisches Defizit
Anti NXP2	Antikörper gegen nukleäre Transkriptionsfaktoren
Anti TIF1γ	Antikörper gegen den Transcription Intermediary Factor 1γ
Anti-cN1A	Antikörper gegen die zytosolische 5'-Nukleotidase 1A
anti-EJ	Antikörper gegen die Glycyl-t-RNA-Synthetase
Anti-HMGCR	Antikörper gegen 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase
Anti-Jo-1	Antikörper gegen die Histidyl-t-RNA-Synthetase
anti-KS	Antikörper gegen die Asparaginyln-t-RNA-Synthetase
Anti-Ku	Antikörper gegen p70/p80 Proteine
Anti-MDA5	Antikörper gegen das melanoma-differentiation-5-Gen
anti-OJ	Antikörper gegen die Isoleucyl-t-RNA-Synthetase
anti-PL-12	Antikörper gegen die Alanyl-t-RNA-Synthetase
anti-PL-7	Antikörper gegen die Threonyl-t-RNA-Synthetase
Anti-PM-Scl	Antikörper gegen nukleoläre Multiproteinkomplexe
Anti-Ro52	Antikörper gegen 52 kD Ribonukleoproteine
Anti-SRP	Antikörper gegen Signal recognition Particle
anti-Tyr	Antikörper gegen die Tyrosyl-t-RNA-Synthetase
Anti-U1-RNP	Antikörper gegen das U1 Ribonukleoprotein
anti-ZO	Antikörper gegen die Phenylalanyl-t-RNA-Synthetase
ART	Antiretrovirale Therapie
ASA	Antisynthetase-Syndrom
AZT	Azidothymidin
B3GAT1	3-Beta-Glucuronosyltransferase 1
bzw.	beziehungsweise
C5b-9	terminal complement complex
ca	circa
CD	Cluster of differentiation
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
cDNA	complementary deoxyribonucleic acid
CK	Kreatinkinase
COX	Cytochrom-c Oxidase
Ct	cycle threshold
DAPI	Diamidinphenylindol
DC	Dendritic cell
DM	Dermatomyositis
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSP	Distal symmetrische Polyneuropathie
ED	Erstdiagnose
EMG	Elektromyogramm
ENMC	European neuromuscular centre
ER	Endoplasmatisches Retikulum
EVG	Elastika-van-Gieson
Fab	antigen binding fragment
Fc	crystallizable fragment
HAART	highly active antiretroviral therapy

HAND	HIV-assoziiertes neurokognitives Defizit
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HLA	Humanes Leukozytenantigen
HPF	high-power field
HSP	Hitzeschockprotein
i.v.	intravenös
IBM	Inclusion body myositis
IgG	Immunglobulin G
IIM	Idiopathische inflammatorische Myopathie
IL	Interleukin
ILD	Interstitial lung disease
IMNM	Immune-mediated necrotizing myopathy
INF	Interferon
INSTIs	Integrase-Strangtransfer-Inhibitoren
IQR	interquartile range
IVIG	Intravenöse Immunglobuline
KLRG1	Killer cell lectin-like receptor G1
KP	Kapilläre Pathologie
LC3	microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3
LCOs	luminescent conjugated oligophenes
MAA	Myositis assoziierte Autoantikörper
MEM	Milde endomysiale Myositis
MHC cl.-I	major histocompatibility complex class I
MHCneonatal	myosin heavy-chain neonatal
ml	Milliliter
MMP	Milde mitochondriale Pathologie
MNCD	Mildes HIV-assoziiertes neurokognitives Defizit
MRC	Medical Research Council
mRNA	messenger RNA
MRT	Magnetresonanztomographie
MSA	Myositis spezifische Autoantikörper
MSM	Männer, die Sex mit Männern haben
mtDNA	mitochondriale DNA
MTX	Methotrexat
MxA	Myxovirus resistance A
NDC	non disease control
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
NNRTIs	Nicht-nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren
NO	Stickstoffmonoxid
NRTIs	Nukleosidische/nukleotidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren
OE	Obere Extremität
OSS	overall severity score
Pat	Patient*in
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PCP	Pneumocystis-cranii-Pneumonie
PCR	polymerase chain reaction
PD1	programmed cell death protein 1
pFTAA	pentameric formyl thiophene acetic acid
PGK	Phosphoglyceratkinase
PIs	Protease-Inhibitoren
PM	Polymyositis

PM-Mito	Polymyositis mit mitochondrialer Pathologie
qPCR	quantitative polymerase chain reaction
R	Spannweite
RNA	Ribonukleinsäure
SD	standard deviation
SDH	Succinat-Dehydrogenase
sIBM	sporadic inclusion body myositis
SLE	systemischer Lupus erythematosus
SMI-31	phosphorylated neurofilament-H
sog.	sogenannt
T-bet	T-Zell-spezifischer Transkriptionsfaktor der T-Box-Gene
TDP-43	transactive response DNA binding protein 43 kDa
TEMRA	terminally differentiated effector memory T cells
Th1	T1-Helferzellen
Th17	T17-Helferzellen
Th2	T2-Helferzellen
TIRM	Turbo-Inversion Recovery-Magnitude
TNF	Tumornekrosefaktor
Tregs	Regulatorische T-Zellen
tRNA	Transfer-RNA
u. Esterase	unspezifische Esterase
u.a.	unter anderem
U/l	Enzymeinheit pro Liter
UE	Untere Extremität
v.a.	vor allem
VCP	Valosin containing Protein
VI	Vaskuläre Inflammation
z.B.	zum Beispiel
ZDV	Zidovudin

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Klassifikation IIM anhand MSA	12
Abbildung 2: Mögliche Pathogenese IBM	21
Abbildung 3: T-Zell Differenzierung	23
Abbildung 4: Geschätzte Anzahl der HIV-Infizierten in Deutschland 1980-2019	25
Abbildung 5: HIV-Infektion und beschleunigte Alterung.....	28
Abbildung 6: Studienablauf.....	40
Abbildung 7: Histologische Einteilung Schweregrade COX/SDH, u. Esterase	46
Abbildung 8: Histologische Einteilung Schweregrade p62, CD56, MHCneo.....	47
Abbildung 9: Histologische Einteilung Schweregrade MHC cl.-I und MHC cl.-II	48
Abbildung 10: Weitere histologische Merkmale	49
Abbildung 11: overall severity score	50
Abbildung 12: Histomorphologisches Spektrum HIV-assoziiertes Myositiden.....	61
Abbildung 13: Histologische Merkmale Gruppe II: IMNM-like.....	63
Abbildung 14: Histologische Merkmale Gruppe III: MEM/MMP	65
Abbildung 15: Histologische Merkmale Gruppe IV: PM-Mito	67
Abbildung 16: Histologische Merkmale Gruppe V: MEM/VI, KP	69
Abbildung 17: Histomorphologischer Vergleich HIV-IBM & sIBM	70
Abbildung 18: Histologie HIV-IBM und sIBM: Degeneration	72
Abbildung 19: Histologie HIV-IBM und sIBM: Inflammation	74
Abbildung 20: Differenzierungsmarker	76
Abbildung 21: Immunfluoreszenzdoppelfärbungen Differenzierungsmarker.....	78
Abbildung 22: Δ Ct Differenzierungsmarker.....	80
Abbildung 23: Immunregulatorische Moleküle	82
Abbildung 24: Immunfluoreszenzdoppelfärbungen CD3/PD1.....	83
Abbildung 25: Δ CT Immunregulatorische Moleküle.....	84
Abbildung 26: HIV-IBM 1: Klinischer Verlauf anhand der Kraftgrade.....	87
Abbildung 27: HIV-IBM 1: Histologischer Vergleich 2006 und 2018	88
Abbildung 28: Histologischer Verlaufsvergleich I	89
Abbildung 29: Histologischer Verlaufsvergleich II	91
Abbildung 30: Genexpression HIV-IBM 1: Δ Ct 2006, 2018	92

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: CDC Klassifikation der HIV-Stadien.....	26
Tabelle 2: Reagenzien.....	37
Tabelle 3: Primäre Antikörper	37
Tabelle 4: Fluorochrome und weitere Fluoreszenz Färbelösungen	38
Tabelle 5: TaqMan-Sonden	38
Tabelle 6: Kommerzielle Kits und Enzyme	38
Tabelle 7: Geräte und Laborausrüstung	38
Tabelle 8: Semiquantitativer Score und Punktwerte histologischer Merkmale.....	45
Tabelle 9: Klinische Daten HIV-Vorgeschichte	55
Tabelle 10: Klinische Daten Myositis	58

Zusammenfassung

Es gibt einige Beobachtungen von inflammatorischen Myopathien bei Patient*innen mit HIV-Infektion. Bei der HIV-assoziierten Einschlusskörperchenmyositis (HIV-IBM) wurden dabei bis auf ein jüngeres Erkrankungsalter überwiegend gleiche klinische und histologische Merkmale im Vergleich zur sog. sporadischen Form (sIBM) gezeigt. Vor kurzem wurden bei der sIBM hochdifferenzierte zytotoxische T-Zellen im Muskel nachgewiesen, welche sich als spezifisch für diese Erkrankung im Vergleich zu anderen inflammatorischen Myopathien erwiesen. Diese Zellen sind durch eine Hochregulation von KLRG1, CD57 und gleichzeitigem Verlust von CD27 charakterisiert. Ebenfalls wurde eine sog. T-Zell-Erschöpfung mit Verlust von Effektorfunktion und Proliferationsfähigkeit sowie einer Hochregulation von programmed cell death protein 1 (PD1) beobachtet.

In dieser Arbeit wurden HIV-Patient*innen klinisch und histologisch charakterisiert. Zusätzlich wurde die HIV-IBM im Vergleich zur sIBM auf spezifische T-Zell-Differenzierungsmarker auf Proteinebene (KLRG1, CD57, CD27, PD1) und Genexpressionsebene (zusätzlich *CD244*, *TBX21*, *PDL1*, *PDL2*) untersucht.

Das mittlere Alter bei HIV-Erstdiagnose lag bei 36 Jahren. AIDS-definierende Erkrankungen waren anamnestisch bei 42% der Patient*innen bekannt und zum Zeitpunkt der Biopsie erhielten 74% antiretrovirale Therapie (ART). Es konnte ein Spektrum innerhalb der HIV-ass. Myositiden mit folgenden Subgruppen gezeigt werden: HIV-IBM, IMNM-like, PM-Mito, milde endomysiale Myositis mit milder mitochondrialer Pathologie, milde endomysiale Myositis mit vaskulärer Inflammation oder kapillärer Pathologie. Klinisch und histologisch stellte sich die HIV-IBM ähnlich der sIBM dar. Lediglich ein Unterschied im Alter bei Biopsie von durchschnittlich 53 (HIV-IBM) bzw. 70 Jahren (sIBM), sowie beim Zeitraum zwischen Symptombeginn und Biopsie mit durchschnittlich 1,8 (HIV-IBM) bzw. 6,2 Jahren (sIBM) wurden festgestellt. In der Muskulatur der HIV-IBM-Gruppe waren im Median keine Zellen KLRG1⁺ oder CD57⁺ und 16 Zellen pro HPF PD1⁺. In der sIBM-Gruppe konnten wir im Median sechs KLRG1⁺-Zellen, eine CD57⁺-Zelle und 22 PD1⁺-Zellen pro HPF nachweisen. Die Angaben stellen den Durchschnitt aus zehn HPF dar. Auf Genexpressionsebene zeigte sich bei allen untersuchten Markern eine signifikante Hochregulierung gegenüber der nicht betroffenen Kontrollgruppe (NDC), jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen beiden IBM-Gruppen.

Trotz eines überwiegend guten immunologischen Status unter ART zum Zeitpunkt der Biopsie scheint HIV einen Einfluss auf die IBM-Entwicklung zu haben. Spezifische hochdifferenzierte zytotoxische T-Zellen konnten wir mit signifikant mehr KLRG1⁺-Zellen bei der sIBM im Vergleich zur HIV-IBM detektieren. Neben dem alterierten Immunstatus könnte auch der durchschnittlich längere Zeitraum zwischen Symptombeginn und Biopsie in der sIBM-Gruppe eine probate Erklärung für diesen Unterschied sein.

Abstract

Inflammatory myopathies have been seen in several cases of HIV-infected patients. HIV-associated Inclusion body myositis (HIV-IBM) was shown to have a similar clinical and pathological pattern compared to the sporadic form (sIBM), except for an earlier onset of illness. Recently terminally differentiated effector memory cells (TEMRA) have been detected in muscle biopsies of sIBM patients, which were found to be specific for IBM compared to other inflammatory myopathies. TEMRA cells were identified as CD8⁺, KLRG1⁺, CD57⁺ with simultaneous loss of CD27. Additionally, so-called exhausted T cells have been detected in sIBM, which are characterized by a loss of their functional activity and proliferative capacity as well as increased programmed cell death protein 1 (PD1) expression.

In this study we characterized patients with HIV-associated myositis clinically and histologically. In addition, we performed immunohistochemical staining and quantitative PCR to examine specific T cell markers at protein (KLRG1, CD57, CD27, PD1) and gene expression levels (additionally *CD244*, *TBX21*, *PDL1*, *PDL2*) in patients with HIV-IBM and sIBM. The mean age at diagnosis of HIV was 36 years. AIDS-defining-illnesses were present in the history of 42%, and at the time of muscle biopsy 74% received antiretroviral therapy. We were able to show a spectrum of HIV-associated types of myositis including the following subgroups: HIV-IBM, IMNM-like, PM-Mito, mild endomysial myositis with mild mitochondrial pathology and mild endomysial myositis with vascular inflammation or capillary pathology. The clinical and pathological features of IBM were found to be similar in HIV⁺ patients compared to the sporadic form. Consistent with previous reports there was a significant difference in the age of onset with 53 (HIV-IBM) vs. 70 years (sIBM) and a longer period between onset of symptoms and muscle biopsy with an average of 6.2 years in the sIBM group and only 1.8 years in the HIV-IBM group. Concerning specific markers of cytotoxic T cells, patients with HIV-IBM showed no KLRG1⁺ or CD57⁺ cells per HPF, but a median of 16 PD1⁺ cells. In the sIBM group we were able to detect a median number of six KLRG1⁺ cells, one CD57⁺ cell and 22 PD1⁺ cells per HPF. At gene expression level all markers were shown to be significantly upregulated compared to the non-disease control group (NDC), but there was no significant difference between the IBM groups. In summary, our data suggest HIV-associated IBM to be similar to the sporadic form, although HIV⁺ patients became ill significantly earlier.

HIV appears to influence the development of IBM despite a satisfactory immunological status under antiretroviral therapy at the time of biopsy. We were able to identify significantly more KLRG1⁺ cells in sIBM compared to HIV-IBM. In addition to an altered immunological status, the longer period between symptom onset and biopsy can be a valid reason for the higher number of senescent cells in the sIBM group.

1 Einleitung

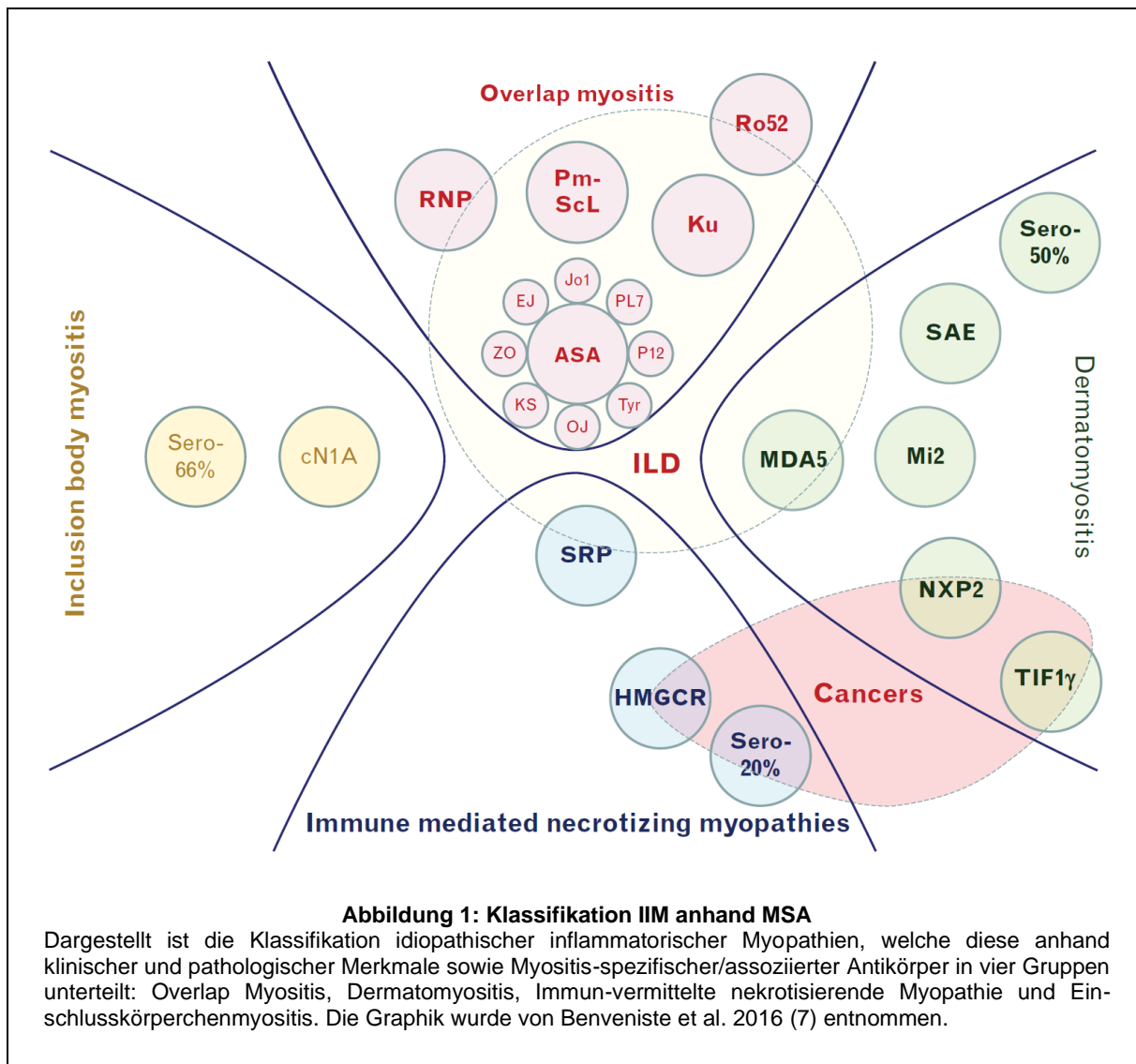
1.1 Myositiden

1.1.1 Klassifikation

Idiopathische inflammatorische Myopathien (IIM) stellen ein sehr heterogenes Spektrum aus erworbenen entzündlichen Muskelerkrankungen dar und können anhand von klinischen, serologischen, histologischen und immunpathologischen Kriterien in verschiedene Subgruppen eingeteilt werden. Erstmals wurde eine solche Einteilung 1975 von Bohan und Peter veröffentlicht, welche sich auf die beiden Hauptgruppen Polymyositis und Dermatomyositis konzentriert. Die Klassifikation beruht auf fünf Major-Kriterien und unterteilt fünf Gruppen: I Polymyositis (PM), II Dermatomyositis (DM), III Dermatomyositis/Polymyositis mit Neoplasie, IV juvenile-Dermatomyositis und Polymyositis mit Vaskulitis, V Overlap Syndrome. Die Kriterien beziehen sich auf Verlauf und Ausbreitung des Muskelschwundes, Analyse der Skelettmuskel-Biopsie, Messwerte im Serum, Elektromyographie und dermatologische Merkmale (1, 2). Im Jahr 1971 wurde die Einschlusskörperchenmyositis von Yunis und Samaha erstmals als weitere Entität klinisch und pathologisch abgegrenzt (3). Weiterhin wurden 1969 erste Fallbeschreibungen der nekrotisierenden Myopathie im Zusammenhang mit Karzinomen veröffentlicht (4). Später wurden auch für diese Subgruppen Konsensuskriterien ergänzt: 1995 für die Einschlusskörperchenmyositis und 2004 für die Immunvermittelte-nekrotisierende Myopathie (5, 6). Die Entdeckung Myositis spezifischer/assoziierter Autoantikörper (MSA/MAA) führte zu einer neuen Klassifikation, welche die ursprünglichen Myositis Kategorien mit der Einteilung anhand von MSA vereint. Diese unterscheidet folgende Subgruppen: I Overlap Myositis, II Dermatomyositis, III Immun-assoziierte nekrotisierende Myositis (IMNM), IV Einschlusskörperchenmyositis (IBM) (7). Die Autoantikörper sind jeweils mit einem bestimmten Phänotyp und klinischen Verlauf sowie auch bestimmten morphologischen Merkmalen assoziiert. Dabei kommen Myositis spezifische Autoantikörper (MSA) speziell bei IIM vor, während Myositis assoziierte Autoantikörper (MAA) auch bei anderen Bindegewebserkrankungen nachgewiesen werden können (8).

Polymyositis wird als eigene Myositis Form hinterfragt, da sie im Unterschied zur historischen Definition heute eine Überschneidung mit den anderen Subformen bildet. Die meisten Patient*innen welche ursprünglich als PM klassifiziert wurden, können als DM, Overlap Myositis, Antisynthetasesyndrom-assoziierte Myositis (ASyS), IMNM oder IBM neu zugeordnet werden (7, 9).

In **Abbildung 1** wird die Klassifikation der IIM anhand der MSA von Benveniste et al. (7) schematisch dargestellt. Hervorgehoben sind dabei zusätzliche gruppenübergreifende Merkmale wie ein höheres Risiko für eine zusätzliche Lungenbeteiligung oder maligne Erkrankung. Die zusätzliche Unterteilung in Autoantikörper-abhängige Syndrome kann helfen, zielgerichteter Untersuchungen, Prognosen und potentielle Therapien einzusetzen (10). Eine klinische Assoziation mit einer interstitiellen Lungenerkrankung (ILD) zeigten Patient*innen mit Antisynthetase-Syndrom und anderen Formen der Overlap Myositis mit Anti-PM-Scl- oder Anti-Ku-Autoantikörpern (7, 11, 12). Seltener war diese mit Anti-RNP- oder Anti-Ro52-Autoantikörpern assoziiert (7, 8, 13). Zusätzlich gibt es auch Autoantikörper-Konstellationen anderer Subgruppen wie der DM mit Anti-MDA5-Autoantikörpern und seltener auch der Anti-SRP⁺-IMNM, welche häufiger von schwerer ILD betroffen sind (7, 14, 15). Ein höheres Risiko für eine maligne Erkrankung ist mit Anti-HMGCR-Autoantikörpern und seronegativer IMNM sowie Anti-NXP2⁻- und Anti-TIF1 γ ⁺-DM assoziiert (7, 15).



1.1.2 Overlap Myositis und Antisynthetase-Syndrom

Als Overlap Myositis werden idiopathische inflammatorische Myopathien bezeichnet, welche zusätzlich extramuskuläre Manifestationen wie Arthralgien/Arthritis, interstitielle Lungenerkrankungen, das Raynaud-Phänomen oder das Sicca-Syndrom aufweisen (7). Die häufigste Form ist das Antisynthetase-Syndrom. Es wird mit verschiedenen Autoantikörpern assoziiert, welche sich gegen die Aminoacyl-tRNA-Synthetase richten: Anti-Jo-1, anti-PL-7, anti-PL-12, anti-OJ, anti-EJ, anti-KS, anti-ZO, anti-Tyr. Dabei unterscheiden sich die jeweiligen Subgruppen anhand von Phänotyp und Prognose (7, 15). Pathologisch wurden vor allem die Subgruppen anti-Jo-1, anti-OJ und anti-PL-7 beschrieben mit perifaszikulären Nekrosen, perifaszikulärer Fragmentierung und einem positiven Nachweis der alkalischen Phosphatase im Perimysium.

Ohne serologische Tests wurde das ASyS in der Vergangenheit fälschlicherweise teilweise auch als Polymyositis oder bei Hautveränderungen und perifaszikulärer Atrophie als Dermatomyositis zugeordnet werden (15).

Weitere Myositis-assoziierte Antikörper, welche der Gruppe der Overlap Myositiden im engeren Sinne zugeordnet werden, sind: Anti-Ku, Anti-PM-Scl (spezifisch für das Polymyositis-Sklerodermie-Überlappungssyndrom), Anti-U1-RNP und anti-Ro52, welche mit oder auch ohne Muskelbeteiligung ebenfalls bei systemischem Lupus erythematosus (SLE) und systemischer Sklerose vorkommen können (8, 15).

1.1.3 Dermatomyositis

Die Dermatomyositis wird unterteilt in eine juvenile und adulte Form. Die Diagnose wird nach den ENMC-Kriterien von 2018 (16) anhand von klinischen Merkmalen, DM-spezifischen Autoantikörpern und pathologischen Kriterien gestellt. Klinische Merkmale sind die typischen Hautveränderungen wie Gottron-Papeln, heliotroper Hautausschlag und eine proximale Muskelschwäche. Laborchemisch finden sich eine erhöhte Kreatinkinase (CK) und DM-spezifische Autoantikörper wie Anti-TIF1y, Anti-NXP2, Anti-Mi2, Anti-MDA5 und Anti-SAE. Jeder dieser Antikörper ist dabei mit einem unterschiedlichen klinischen Phänotyp assoziiert. Anti-Mi2 wird mit der klassischen DM ohneILD oder Malignität assoziiert und spricht in der Regel gut auf Corticosteroide und Rituximab an (7). Anti-MDA5 wird mit einer klinisch amyopathischen DM mit atypischen Hautveränderungen und in einem Teil der Fälle einer schnell progressiven interstitiellen Lungenerkrankung mit schlechter Prognose assoziiert (15). Anti-TIF1y und Anti-NXP2 werden bei Erwachsenen mit malignen Erkrankungen verknüpft (7). Bei Anti-SAE⁺-Patient*innen stehen oft zunächst die DM-typischen Hautveränderungen im Vordergrund mit Entwicklung von Muskelschwäche und Dysphagie im späteren Verlauf (7, 10, 15). Pathologisch ist die Muskelbiopsie von entscheidender Bedeutung. Zusätzlich findet sich in der Hautbiopsie das Bild einer Dermatitis. Charakteristische histologische Veränderungen im Muskel sind u.a. die perifaszikuläre Muskelfaseratrophie mit MxA-Überexpression, spezifischen Komplementablagerungen und Lymphozyteninfiltraten (16).

1.1.4 Immunvermittelte-nekrotisierende Myopathie

Die immunvermittelte nekrotisierende Myopathie bildet eine heterogene Gruppe ab und wurde zuletzt im Rahmen eines internationalen ENMC-Workshops 2016 mit Konsensusfindung umfänglich definiert und beschrieben (14). Klinisch fallen eine Schwäche der proximalen Muskulatur v.a. der unteren Extremitäten sowie eine teils stark erhöhte Serum-CK auf. Sie tritt vor allem im Erwachsenenalter auf, es werden jedoch auch einzelne Fälle bei Kindern beschrieben (14). Die IMNM wird in weitere Subgruppen unterteilt, welche die zuvor genannten Merkmale gemeinsam haben. Sie unterscheiden sich anhand des Antikörperstatus und werden unterteilt in anti-HMGCR-Myopathie, anti-SRP-Myopathie und Antikörper-negative IMNM (14). Die anti-HMGCR-Myopathie ist vor allem mit Patient*innen über 50 Jahren und vorheriger Statineinnahme assoziiert. Patient*innen mit anti-SRP-Myopathie sind manchmal schwerer betroffen und zeigen oft trotz Therapie einen nicht zufriedenstellenden Rückgang der Symptomatik. Beschrieben werden bei dieser Form auch extramuskuläre Manifestationen wie kardiale oder pulmonale Beteiligung. Die seronegative Form und Patient*innen mit anti-HMGCR-Nachweis haben ein etwas erhöhtes Malignitätsrisiko gegenüber der Normalbevölkerung, weswegen hier ein Screening empfohlen wird. Bei der anti-SRP-Myopathie wurde keine erhöhte Prävalenz für maligne Erkrankungen beobachtet (14). Die Therapie der IMNM basiert vor allem auf Steroiden und wird abhängig vom Antikörperstatus und der Krankheitsschwere durch Immunsuppressiva wie Methotrexat (MTX) und Rituximab oder intravenösen Immunglobulinen (IVIG) ergänzt (14). In der Muskelbiopsie zeigt sich ein ähnliches Bild in allen Subgruppen mit nekrotischen Fasern, Myophagozytosen und regenerativen Fasern in unterschiedlichen Stadien. Zusätzlich finden sich paucilymphozytäre Infiltrate mit einem prädominanten Anteil an Makrophagen. Als weitere Merkmale können eine sarkolemmale MHC cl.-I Expression auf nicht nekrotischen oder regenerativen Fasern, sarkolemmale Komplementablagerungen, endomysiale Fibrose und erweiterte Kapillaren auftreten (14).

1.1.5 PM-Mito

Polymyositis mit mitochondrialer Pathologie (PM-Mito) ist eine seltene Form der Myositis, welche sowohl Gemeinsamkeiten zur PM als auch zur sporadischen IBM aufweist. Definierte diagnostische Kriterien sind dabei noch nicht etabliert (17).

PM-Mito wurde erstmals 1997 von Blume et al. als langsam voranschreitende Muskelschwäche beschrieben, welche schlecht, bis gar nicht auf Corticosteroide anspricht (18). Histologisch wurden eine endomysiale fokale Invasion von intakten Muskelfasern durch CD8⁺-T-Zellen und schwere mitochondriale Veränderungen, jedoch keine geränderten Vakuolen beobachtet (18). Inzwischen gibt es weitere Fallbeschreibungen und kleine Serien von PM-Mito. Gemeinsamkeiten zur PM und sIBM sind die endomysiale Inflammation und Invasion durch vorwiegend CD8⁺-Lymphozyten von nicht-nekrotischen Fasern mit MHC cl.-I Expression (17). Von der PM grenzt sie sich durch die mitochondriale Schädigung in Form von COX-negativen Fasern und durch unspezifische Proteinaggregate sowie Nachweis von LC3-positiven autophagischen Phänomenen ab. Von der sIBM unterscheidet sich die PM-Mito durch das Fehlen der geränderten Vakuolen und Proteinablagerungen wie SMI-31- und TDP-43-positiven Aggregaten sowie der IBM-typischen p62- oder LC3-positiven grobscholligen Ablagerungen (19-21). Hiniker et al. unterscheiden noch weitere Subformen mit PM-COX und possible IBM (pIBM) (20). Bei der PM-COX sind dabei im Gegensatz zur pIBM keine oder milde Zeichen eines chronisch myopathischen Umbaus wie endomysiale Fibrose oder Kalibervarianz nachweisbar. Zusätzlich ist bei der pIBM-Gruppe der Anteil LC3-positiver Fasern deutlich höher als in der PM-COX-Gruppe, während der Anteil TDP-43-positiver Fasern in beiden Gruppen im Gegensatz zur IBM gering ist (20). Es gibt Fallbeschreibungen, bei denen ca. die Hälfte der Patient*innen mit dem Bild einer PM-Mito in der initialen Biopsie in Verlaufsbiopsien nach 2-10 Jahren geränderte Vakuolen als typisches Zeichen einer IBM zeigten (19). Es wird diskutiert, ob PM-Mito eine Übergangsform zwischen PM und sIBM darstellt (17). PM-Mito ist dabei primär eine histologische Diagnose, während das klinische Bild variabel sein kann und die präzise Diagnose nicht zulässt - es braucht hier also die Biopsie (17). Die klinische Präsentation zeigte sich zu einem späteren Zeitpunkt im Vergleich zur PM mit einem durchschnittlichen Alter von 60 Jahren, einer langsam progredienten Muskelschwäche v.a. der Knieextensoren und keiner Verbesserung durch immunsuppressive Therapie. Im Labor zeigte sich eine mild erhöhte CK mit einer 2-3-fachen Erhöhung verglichen mit Normalwerten (19).

1.1.6 Einschlusskörperchenmyositis

1.1.6.1 Epidemiologie

Die Einschlusskörperchenmyositis ist die häufigste Myositis Form ab einem Alter über 50 Jahren. Die Prävalenz liegt schätzungsweise zwischen 4,5 und 9,5/1 Million und erhöht sich auf 35/1 Million für Menschen über 50 Jahre (22). Männer sind häufiger betroffen als Frauen (Verhältnis 3:1) (23).

1.1.6.2 Klinische Manifestation

Die IBM ist gekennzeichnet durch eine langsam fortschreitende Muskelschwäche, welche sich über mindestens 12 Monate entwickelt. Die Schwäche zeigt sich oft zunächst asymmetrisch mit Betroffenheit der proximalen unteren Extremität (Schwäche der Knieextensoren \geq Schwäche der Hüftflexoren) und der distalen oberen Extremität (Schwäche der Fingerflexoren $>$ Schwäche der Schulterabduktoren) (23, 24). Zusätzlich wird häufig eine Dysphagie bei IBM Patient*innen beschrieben, welche manchmal auch als Erstsymptom auftritt (22).

1.1.6.3 Paraklinische Merkmale

Die CK ist häufig normal bis mild erhöht, jedoch in der Regel nicht mehr als 15-fach (24). Der Autoantikörper Anti-cN1A wird mit der IBM assoziiert und ist bei 33%-76% der Patient*innen positiv (7, 25, 26). Im Vergleich zu anderen Myositisformen waren nur weniger als 5% der Polymyositis- und Dermatomyositis-Patient*innen Anti-cN1A⁺ (7, 25). Es ist dabei umstritten, ob der Antikörperstatus einen Einfluss auf die Krankheitsschwere und den Krankheitsverlauf hat. Manche Autor*innen gaben keinen signifikanten Unterschied in der Ausprägung der Merkmale zwischen Anti-cN1A-positiven und seronegativen Patient*innen an (7), während andere die seropositive Gruppe einem schwereren Phänotyp und einem höheren Mortalitätsrisiko zuordneten (27). Im EMG werden myopathische oder gemischte Muster mit neurogenen Anteilen beobachtet, welches jedoch nicht als diagnostisches Kriterium gilt (23). In der MRT zeigen sich TIRM-hyperintense Veränderungen als Zeichen eines Muskelödems in der subakuten Phase (28) und im weiteren Krankheitsverlauf Atrophie sowie fettige Involution (28, 29).

1.1.6.4 Therapie

Die Therapiemöglichkeiten der IBM sind sehr eingeschränkt, da es bisher keine Evidenz für eine effiziente medikamentöse Therapie gibt (24, 30).

Bei den Therapieansätzen, welche auf inflammatorische Signalwege abzielen, gibt es bisher folgende Studienergebnisse: Immunsuppressive Therapien mit Corticosteroiden, Methotrexat, Azathioprin oder IVIG zeigten einen milden vorübergehenden Effekt bei manchen Patient*innen (31-34). Zwei Placebo-kontrollierte Studien mit IVIG zeigten zeitweise eine leichte Besserung der Kraft und vor allem der Dysphagie bei einzelnen Patient*innen (32, 33, 35, 36). Diese Effekte hielten jedoch nicht über längere Zeit an und scheinen keinen Einfluss auf den Langzeitverlauf zu haben (35).

Weitere klinische Studien zeigten lediglich Teileffekte bei einzelnen Parametern. Beispielsweise zeigte MTX eine Verringerung der Serum-CK, jedoch keinen Effekt auf die Muskelschwäche (34), wobei MTX in Kombination mit Anti-T-Lymphozyten Globulin eine leichte Verbesserung der Muskelkraft im Vergleich zur Monotherapie erzielte (37). Bei Therapie mit Etanercept (ein gentechnisch hergestelltes Protein zur Inaktivierung proinflammatorischer Mediatoren) konnte eine geringe aber signifikante Verbesserung der Handkraft nach 12 Monaten gezeigt werden, während bei anderen Muskelgruppen kein Effekt erzielt wurde (38). Alemtuzumab (ein monoklonaler Antikörper gegen CD52 insbesondere auf T-Zellen, B-Zellen und dendritischen Zellen (DC)) zeigte eine Verzögerung der Krankheitsprogression bis zu 6 Monaten, eine Verbesserung der Muskelkraft bei manchen Patient*innen und eine Reduktion von endomysialer Inflammation sowie der mRNA-Expression von Stressmolekülen wie Fas, Mip-1a und alpha-B-Crystallin (39). Doppelblinde, Placebo-kontrollierte Studien fehlen hier jedoch. Keinen Effekt auf Muskelkraft und Krankheitsverlauf zeigten Studien mit beta-IFN-1a- und IL-1-Rezeptorantagonisten (40, 41). Zusätzlich gibt es auch Therapieansätze, die auf die sogenannte degenerative Komponente (welche im Abschnitt 1.1.6.6 Pathophysiologie erläutert wird) der IBM abzielen. Arimoclomol verlängert die Aktivierung von Hitzeschockfaktor-1 in gestressten Zellen und erhöht den HSP Spiegel. In vitro und im Tiermodell (Mäuse mit Mutation im VCP-Gen) konnte mit dem Medikament eine Verbesserung der Muskelkraft und der degenerativen und inflammatorischen histopathologischen Merkmale erreicht werden. Zusätzlich konnte bei IBM-Patient*innen gezeigt werden, dass das Medikament sicher und gut verträglich ist, jedoch ohne signifikante klinische Besserung (42).

In einer Phase-II-Studie mit Arimoclolomol wurden nicht die primären und sekundären Endpunkte erreicht und es konnte keine Verbesserung auf der Inclusion Body Myositis Functional Rating Scale (IBMFRS) erzielt werden (43). Bimagrumab (ein inhibitorischer monoklonaler Antikörper gegen den Aktivin-Rezeptor-II) zeigte eine Zunahme der Muskelmasse im MRT, jedoch keine statistisch signifikante Verbesserung der Muskelfunktion (44, 45). Oxandrolone (ein anabolisches Steroid) zeigte eine minimale Kraftverbesserung v.a. an den oberen Extremitäten (46). Ein weiterer Ansatz ist die Inhibition des Myostatin-Signalwegs, welcher Muskelwachstum reguliert und durch eine Gentherapie mit Follistatin unterdrückt werden kann. Eine Studie mit Kombination von Follistatin, Prednison und Krafttraining zeigt eine Besserung im klinischen Outcome in Form einer Steigerung der Gehstrecke im 6 Minuten Gehstest nach einem Jahr und zusätzlich eine Verringerung von Inflammation, eine Normalisierung der Fasergröße und -verteilung sowie eine Reduktion von endomysialem Bindegewebe in der Muskelbiopsie (47). Als nicht-medikamentöse Ergänzung ist Physiotherapie ein wichtiger Bestandteil der Behandlung (23). Insgesamt hat die Therapie im Verlauf meist keinen Effekt auf die Schwere und das Fortschreiten der Muskelschwäche, sodass die Patient*innen nach 5-10 Jahren Gehhilfen und nach 10-15 Jahren mehrheitlich einen Rollstuhl benötigen (22, 26).

1.1.6.4.1 Intravenöse Immunglobuline

IVIG wird als Ersatztherapie für Patient*innen mit einem Mangel an Immunglobulinen verabreicht. Zur Herstellung werden die Präparate aus gepooltem Plasma von Spender*innen extrahiert, welche sich aus Antikörpern gegen ein breites Spektrum von Erregern und zahlreichen Fremd- und Eigenantigenen zusammensetzen (48). In hohen Dosen können diese anti-inflammatorisch und immunmodulatorisch als Therapie von Autoimmunerkrankungen wirken (48). Das IgG-Molekül besteht aus zwei funktionellen Domänen: dem antigen-bindenden Fragment (Fab) und einer konstanten Region (Fc), welche eine wichtige Rolle bei der Initiierung der Immunantwort durch z.B. Komplementaktivierung oder Verbindung von Fc-Rezeptoren auf Effektorzellen des angeborenen Immunsystems spielt (48). Der Wirkmechanismus ist dabei noch nicht vollständig verstanden, er könnte krankheitsspezifisch sein, da verschiedene Erkrankungen mit unterschiedlicher Pathogenese von IVIG profitieren (48).

Bei der Anwendung von IVIG bei idiopathischen inflammatorischen Myopathien zeigte sich ein unterschiedliches Ansprechen in den verschiedenen Subformen (49). Bei der DM konnte eine signifikante Besserung der Kraft und der CK-Spiegel durch IVIG gezeigt werden (50, 51). Als histologisches Korrelat zeigten Verlaufsbiopsien nach drei Monaten IVIG-Therapie eine signifikante Verbesserung der Muskelzellarchitektur mit erhöhtem Durchmesser der Muskelfasern, Revaskularisierung, Reduktion der Inflammation und dem Verschwinden von Komplementablagerungen auf Kapillaren (52). Zusätzlich konnte eine Verringerung des Genexpressionsniveaus von Entzündungsmediatoren, Komplement-vermittelnden Genen, Adhäsionsmolekülen und Strukturproteinen bei DM-Patient*innen, welche klinisch auf IVIG-Therapie angesprochen hatten, nachgewiesen werden. Ebenfalls wurden sIBM-Patient*innen untersucht, welche nach 3-monatiger IVIG-Therapie klinisch keine Verbesserung zeigten. Dort blieb auch das Genexpressionsniveau unverändert (53).

Eine weitere Studie zur Untersuchung von IVIG in Kombination mit Prednison zeigte eine Reduktion einiger inflammatorischer Moleküle wie Chemokine und Zytokine sowie degenerations-assoziiertes Moleküle wie Ubiquitin und Heat-Schock-Protein alpha-B-Crystallin im Muskel von Patient*innen mit sIBM, was eine Erklärung für den temporären klinischen Effekt bei einigen Patient*innen sein könnte. Auf der anderen Seite hatte die Therapie mit IVIG und Prednison bei sIBM-Patient*innen keinen Einfluss auf Moleküle, die mit Antigenerkennung und T-Zell vermittelter Zytotoxizität assoziiert sind wie TNF-alpha, IL-6 und Perforin sowie myotoxische und Zellstress-Mediatoren wie NO. Zusätzlich wurde keine Reduktion im Genexpressionsniveau bei degenerativen Molekülen wie Amyloid-Precursor-Protein oder Desmin festgestellt. Insgesamt hat sich die Muskelhistologie bis auf eine Reduktion der endomysialen T-Zellen nach 3-monatiger IVIG-Therapie jedoch nicht verändert (54, 55).

1.1.6.5 Histologie

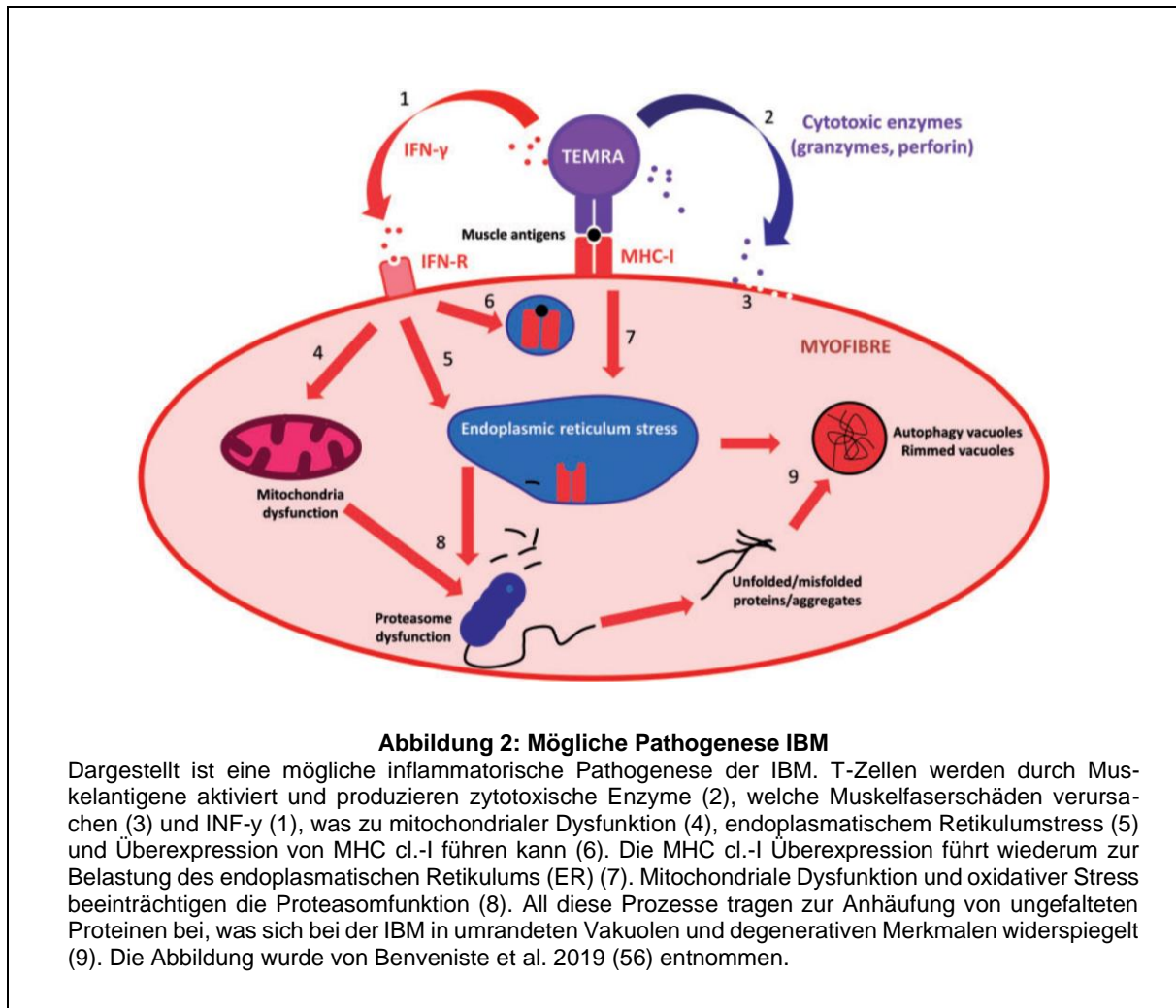
Die Diagnosesicherung der IBM erfolgt mittels Muskelbiopsie und ihrer spezifischen Analyse. Nach ENMC Kriterien sind die Hauptmerkmale dabei inflammatorische Infiltrate im Endomysium, geränderte Vakuolen und Proteinakkumulationen (24). Die Infiltrate bestehen überwiegend aus CD8⁺-Zellen im Endomysium, welche nicht nekrotische Fasern umgeben und invadieren. Die Proteinablagerungen können in Form von Amyloid als kongophile Einschlüsse nachgewiesen werden oder anderen Proteinen wie u.a. dem Autophagiemarker p62 mit peri-/intravakuolärer Anfärbung.

Es zeigt sich ebenfalls eine Färbereaktion mit MHC cl.-I/II in diffuser Verteilung auf dem Sarkolemm. Weitere charakteristische Befunde sind endomysiale Fibrose und starke Kalibervarianz, mitochondriale Schädigung in Form von COX-negativen Fasern oder sog. „ragged-red“-Fasern (15, 56). Zusätzlich zu den konventionellen Amyloid Liganden wie Kongorot-Derivaten gibt es neue Färbemethoden wie „luminescent conjugated oligothiophenes“ (LCOs), welche mit einer höheren Sensitivität Proteineinschlüsse im Muskel bei Patient*innen mit sIBM nachweisen können. Diese Liganden können sich der molekularen Struktur der abgelagerten Proteine anpassen und dadurch heterogene Populationen von Proteinaggregaten durch spektrale Zuordnung unterscheiden (57).

1.1.6.6 Pathophysiologie

Die Befunde der Muskelbiopsie lassen sich einteilen in eine inflammatorische Komponente mit überwiegend T-Zell-Invasion und eine degenerative Komponente mit myonukleärer Degeneration, mitochondrialer Pathologie und myofibrillären zytoplasmatischen Proteinaggregaten. Daraus lassen sich zwei wesentliche Hypothesen über die Pathogenese der Einschlusskörperchenmyositis ableiten: primär degenerativ oder autoimmun (58). Zudem wird Rolle der Mitochondrien in der Pathogenese der IBM diskutiert (59).

Antigen-gesteuerte, infiltrierende zytotoxische T-Zellen, eine starke genetische Assoziation mit HLA-Genen und eine Assoziation mit Anti-cN1A-Autoantikörpern und anderen Autoimmunerkrankungen wie systemischen Lupus erythematosus (SLE) und dem Sjögren-Syndrom deuten auf eine inflammatorische Genese der IBM hin (60). Zusätzlich gibt es Hinweise dafür, dass die Entzündung sekundär degenerative Merkmale verursachen kann (58). Diese Theorie wird in **Abbildung 2** dargestellt. T-Zellen werden durch Muskelantigene aktiviert und produzieren zytotoxische Enzyme, welche Muskelfaserschäden verursachen. Außerdem sezernieren sie $\text{INF-}\gamma$ was zu mitochondrialer Dysfunktion, endoplasmatischem Retikulumstress und Überexpression von MHC cl.-I und cl.-II führen kann. Die MHC Überexpression kann wiederum eine Belastung des endoplasmatischen Retikulums (ER) zur Folge haben. Mitochondriale Dysfunktion und oxidativer Stress können die Proteasom Funktion beeinträchtigen. All diese Prozesse tragen zur Anhäufung von ungefalteten Proteinen bei, was sich bei der IBM in geränderten Vakuolen und anderen Proteinaggregaten widerspiegelt (58).



1.1.6.7 T-Zellen

Unter chronischer Antigenstimulation entwickeln sich CD8⁺-T-Zellen in unterschiedliche Differenzierungsstadien. Dieser Prozess wird schematisch in **Abbildung 3** dargestellt. Ein Teil der Zellen verliert ihre Effektorfunktion und Proliferationsfähigkeit und zeigt in der Folge eine Hochregulation von programmed cell death protein 1 (PD1). Ein anderer Teil erreicht terminale Differenzierungsstadien und ist assoziiert mit einer geringen Proliferationsfähigkeit, kurzen Telomeren und einer erhöhten Effektorfunktion. Diese Zellen sind durch eine Hochregulation von CD57 und gleichzeitigen Verlust von CD28 und CD27 charakterisiert (61).

Mit den Arbeiten von Greenberg et al. (62) und Knauss et al. (63) aus 2019 gibt es neue Erkenntnisse, welche hochdifferenzierte zytotoxische CD8⁺-T-Zellen im Muskel bei IBM-Patient*innen zeigen, die sich als spezifisch für diese Erkrankung erwiesen und nicht bei anderen entzündlichen Myopathien wie DM, PM oder IMNM nachgewiesen werden konnten.

Diese Zellen sind gekennzeichnet durch eine zytotoxische Signatur (Granzym A, B, H, K, Perforin) und eine hoch differenzierte T-Zell-Signatur (KLRG1⁺, CD244⁺, T-bet⁺, CD57⁺/CD28⁻, CD62L⁻). KLRG1 gilt dabei als spezifischer Marker dieser Zellen. Es handelt sich um einen inhibitorischen Rezeptor der c-type lectin-like family, welcher auf terminal differenzierten T-Zellen und NK-Zellen exprimiert wird. KLRG1 ist bei IBM verstärkt auf CD8⁺-T-Zellen im Blut und im Muskel nachweisbar (62). Zusätzlich wurde kürzlich in einer Studie von Goyal et al. (64) gezeigt, dass der Anteil KLRG1-positive Zellen im Blut mit fortgeschrittener Krankheitsdauer der IBM zunimmt. KLRG1-positive T-Zellen werden in zwei Populationen unterschieden: 1) Terminal differenzierte Effektor-Gedächtniszellen (TEMRA) mit der Signatur KLRG1⁺, CD57⁺ (CD27⁻, CD28⁻, CCR7⁻, CD127 gering positiv), welche nicht mehr proliferieren können und 2) Zentrale Gedächtniszellen mit der Signatur KLRG1⁺, CD57⁻ (CD27⁺, CD28⁺, CCR7⁺, CD127⁺), welche sich in einem weniger fortgeschrittenem Seneszenz-Stadium befinden (65). Eingewanderte T-Zellen sind im betroffenen Muskel minimal bzw. nicht proliferativ bei der IBM im Vergleich zu anderen entzündlichen Myopathien (62). Sie sind also resistent gegenüber Apoptose, Corticosteroiden und anderen Immunsuppressiva. Dies kann eine mögliche Erklärung für das fehlende Ansprechen der IBM-Patient*innen auf klassische Immunsuppressiva sein. KLRG1 könnte ein gezielter Ansatz in der Therapie für IBM werden mit dem Ziel KLRG1⁺-TEMRA-Zellen abzubauen z.B. mit monoklonalen Antikörpern (58).

T-Zellen, welche ständig Antigenen und inflammatorischen Molekülen ausgesetzt sind, verschlechtern sich funktionell, was als „T-Zell-Erschöpfung“ bezeichnet wird. PD1 ist der am meisten exprimierte inhibitorische Rezeptor auf CD8⁺-T-Zellen während einer chronischen Inflammation und spielt eine wichtige Rolle bei der T-Zell-Erschöpfung. Die Rolle von PD1 bei gesunden Erwachsenen liegt in der Unterscheidung zwischen T-Effektor-Zellen und erschöpften T-Zellen. Bei IBM-Patient*innen konnten zahlreiche PD1⁺-Zellen im Muskel nachgewiesen werden. Zusätzlich wurden die Liganden PD-L1 und PD-L2 in geringem Ausmaß von in den Muskel eingewanderten CD68⁺-Makrophagen exprimiert und PD-L2 ebenfalls auf dem Sarkolemm der Muskelfasern. Dabei zeigte sich jedoch keine Interaktion zwischen PD-L1-Makrophagen und PD1⁺-T-Zellen und lediglich eine gelegentliche Interaktion der PD1⁺-T-Zellen mit PD-L2 auf dem Sarkolemm der Myofasern (63).

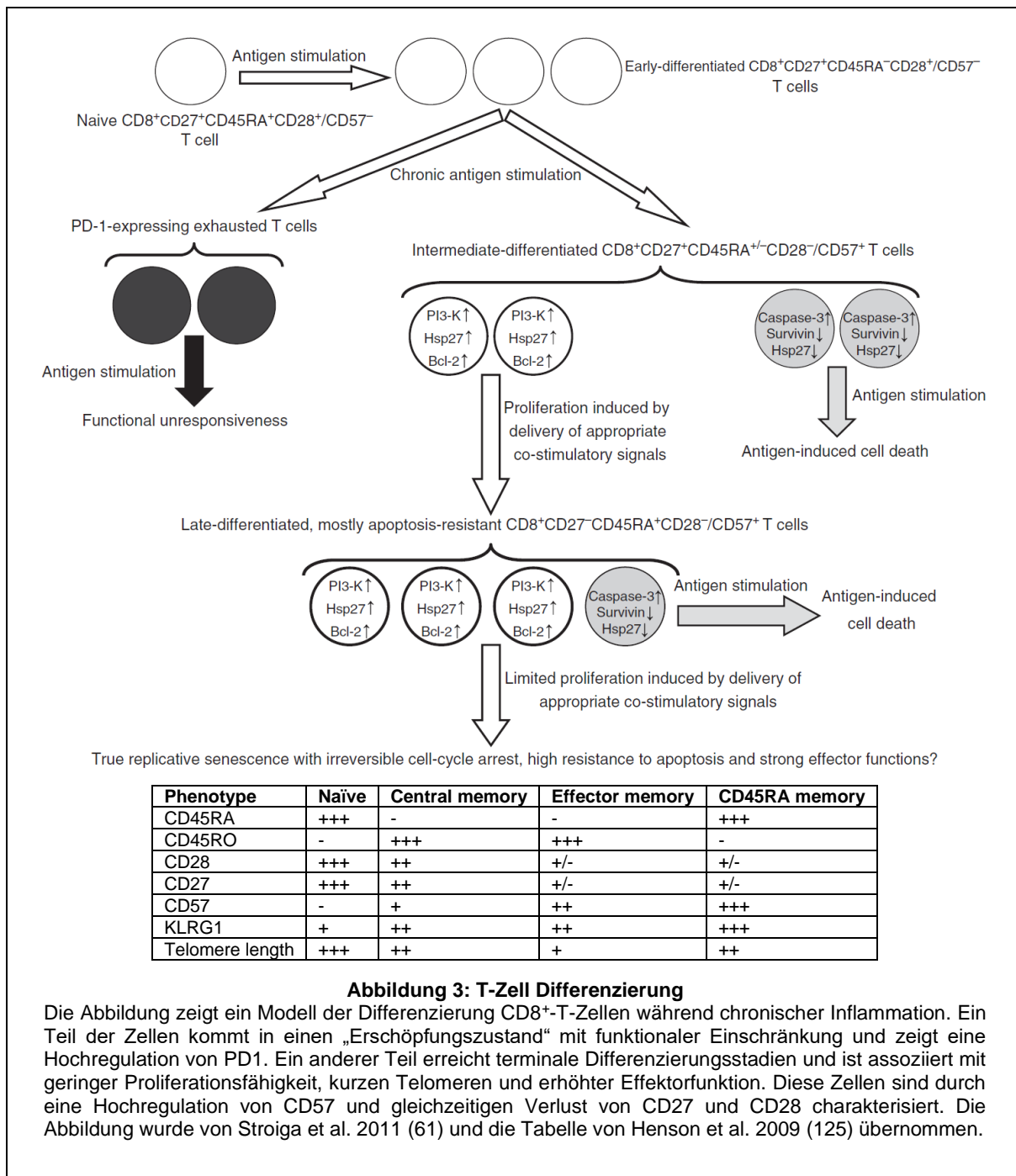


Abbildung 3: T-Zell Differenzierung

Die Abbildung zeigt ein Modell der Differenzierung CD8⁺-T-Zellen während chronischer Inflammation. Ein Teil der Zellen kommt in einen „Erschöpfungszustand“ mit funktionaler Einschränkung und zeigt eine Hochregulation von PD1. Ein anderer Teil erreicht terminale Differenzierungsstadien und ist assoziiert mit geringer Proliferationsfähigkeit, kurzen Telomeren und erhöhter Effektorfunktion. Diese Zellen sind durch eine Hochregulation von CD57 und gleichzeitigen Verlust von CD27 und CD28 charakterisiert. Die Abbildung wurde von Stroiga et al. 2011 (61) und die Tabelle von Henson et al. 2009 (125) übernommen.

1.2 HIV

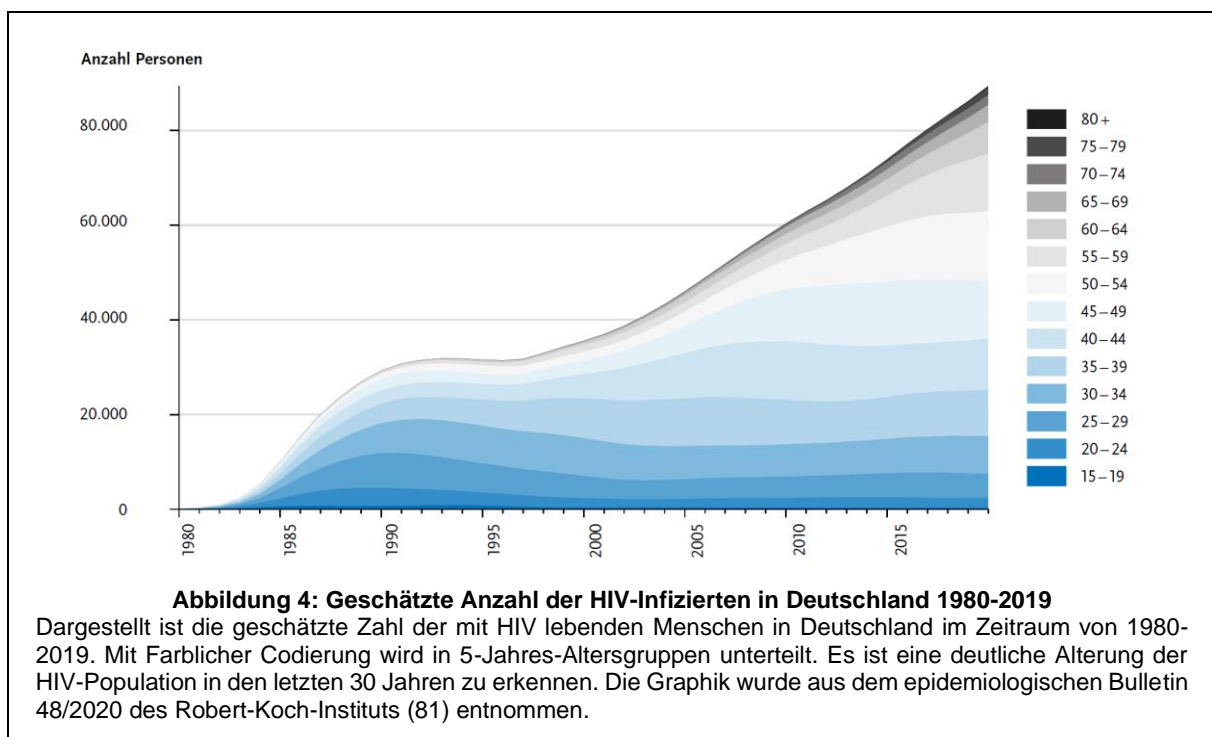
Klinische Beschreibungen des erworbenen Immunschwächesyndroms AIDS wurden erstmals 1981 in Form der Pneumocystis-carinii-Pneumonie (PCP) und chronisch ulzerierender perianaler Herpesinfektion bei zuvor gesunden jungen Männern veröffentlicht (66-68). Zwei Jahre später wurde das Humane Immundefizienz-Virus (HIV) als auslösender Erreger von AIDS entdeckt (69). 1987 wurde Zidovudin (Azidothymidin) als erstes Medikament eingeführt (70).

Mit der Zeit wurden immer mehr Medikamente und auch neue Wirkstoffklassen wie Protease Inhibitoren entwickelt. Durch Kombination dieser als sog. HAART (hochaktive antiretrovirale Therapie) konnte die beste Wirksamkeit erreicht werden (71, 72). Durch die Medikation traten jedoch gehäuft Nebenwirkungen wie Lipodystrophie auf (73). Mit Weiterentwicklung der Substanzen sind solche Nebenwirkungen seltener geworden. Es entwickelte sich der Konsens, dass jedes infizierte Individuum früh eine antiretrovirale Therapie (ART) ohne Unterbrechung erhalten sollte (74, 75). Heutzutage hat sich die Lebenserwartung von Patient*innen mit HIV-Infektion unter ART deutlich erhöht (76). Trotz Therapie bleibt HIV eine chronische Erkrankung mit einem höheren Risiko für non-AIDS Komorbiditäten, welche mit Immunseneszenz assoziiert sind (siehe 1.2.3 chronische non-AIDS Komorbiditäten) (77).

1.2.1 Epidemiologie

Die Prävalenz und damit Auswirkungen der Erkrankung unterscheiden sich deutlich in verschiedenen Ländern. Insgesamt waren weltweit im Jahr 2020 ca. 37,7 Millionen Menschen mit HIV infiziert (78). Am weitesten ist die Erkrankung in Afrika mit ca. 25 Millionen HIV-Infizierten verbreitet. In Europa leben ca. 2,6 Millionen Menschen mit HIV und in Amerika und Südost-Asien jeweils ca. 3,7 Millionen Menschen. Dabei hat sich die Anzahl der jährlichen Neuinfektionen weltweit in den letzten 20 Jahren halbiert von 3 Millionen Neuinfektionen 1999 zu 1,5 Millionen Neuinfektionen 2020 (78). In Deutschland lebten Ende 2019 ca. 90 700 Menschen mit HIV-Infektion. Bis zum Jahr 2020 wurde von den Vereinten Nationen das gemeinsame „90-90-90“ Ziel gesetzt, dass 90% aller HIV-Infizierten diagnostiziert sein sollten und davon mindestens 90% eine antiretrovirale Therapie erhalten sollten, welche bei wiederum 90% der Therapierten erfolgreich mit einer Viruslast von <200 Kopien/ml sein sollte (79). Weltweit konnte dieses Ziel mit 84%-87%-90% bisher nicht erreicht werden (80). Deutschland ist dem Ziel mit 88%-96%-96% sehr nahe (81). Die Hauptbetroffenengruppen in Deutschland sind aktuell mit 61,5% der HIV-Neuinfektionen Männer, die Sex mit Männern haben (MSM), mit 25% Menschen, die sich auf heterosexuellem Weg infiziert haben und mit 13,8% Menschen mit Infektion durch intravenös verabreichte Drogen (81).

Bezüglich der Altersverteilung bleibt die Anzahl der HIV-Infizierten unter 40 Jahren in Deutschland seit Mitte der 1990er Jahre nahezu unverändert, während die Anzahl der Menschen mit HIV in den höheren Altersgruppen kontinuierlich ansteigt. In den letzten 30 Jahren hat sich die Anzahl der über 40-jährigen HIV-Infizierten in Deutschland verfünffacht (**Abbildung 4**). Ursachen dafür sind einmal eine deutlich geringere Sterblichkeit durch die antiretrovirale Therapie, aber auch eine Zunahme der Neuinfektionen in höheren Altersgruppen (81).



1.2.2 Klinische Manifestation, Diagnostik, Klassifikation

1.2.2.1 Die natürliche Infektion

Die Symptome in der akuten Phase der Infektion sind unspezifisch und variabel. In den ersten zwei Wochen nach Infektion treten in vielen Fällen vorübergehend Symptome wie Fieber, Exanthem und Myalgien auf, welche nach Stunden bis wenigen Tagen wieder verschwinden (82, 83). Zu diesem Zeitpunkt (im Median 14 Tage nach Infektion) wird das initiale Viruslast-Maximum erreicht (84). Nach einer mehrjährigen chronischen Phase, in welcher die meisten Patient*innen klinisch keine Symptome zeigen, treten AIDS-definierende Erkrankungen auf und führen ohne Therapie letztendlich zum Tod (85).

1.2.2.2 CDC-Klassifikation

Die häufig verwendete CDC-Klassifikation von 1993 (86) wird in **Tabelle 1** dargestellt. Anhand der CD4-Zellzahl und der Klinik können die Patient*innen in jeweils drei Stadien eingeteilt werden. Die CD4-Zellzahl wird bei über 500 Zellen/ μ l Stadium 1 zugeordnet, bei 200-499 Zellen/ μ l Stadium 2 und bei weniger als 200 Zellen/ μ l dem Stadium 3. Anhand der Buchstaben wird die Klinik dargestellt. Stadium A schließt die asymptomatische und die akute HIV-Erkrankung ein. Zusätzlich werden dieser Kategorie auch Patient*innen mit persistierender generalisierter Lymphadenopathie zugeordnet. Im Stadium B sind Patient*innen mit HIV-assoziierten nicht-AIDS definierenden Erkrankungen, welche der HIV-Infektion ursächlich zuzuordnen sind oder auf eine Störung der zellulären Immunabwehr hindeuten. Dazu zählen unter anderem Listeriosen, Candidosen (oropharyngeal oder chronisch vulvovaginal), orale Haarleukoplakie, Herpes zoster (bei Rezidiven oder Befall mehrerer Dermatome), sowie periphere Neuropathien. AIDS-definierende Erkrankungen werden dem Stadium C zugeordnet. Zu diesen zählen unter anderem Candidosen (von Bronchien, Trachea, Lunge oder Ösophagus), CMV-Infektionen (abgesehen von Leber, Milz, Lymphknoten), Herpes simplex-Infektionen (chronisch oder Bronchitis, Pneumonie, Ösophagitis), Kaposi-Sarkome, Lymphome, Pneumocystis-cranii-Pneumonie, Progressive multifokale Leukenzephalopathie, Tuberkulose, zerebrale Toxoplasmose und das Wasting-Syndrom (86).

Tabelle 1: CDC Klassifikation der HIV-Stadien

CD4-Zellzahl pro μ l	<u>Stadium A</u>	<u>Stadium B</u>	<u>Stadium C</u>
		<ul style="list-style-type: none"> • Akute HIV-Erkrankung • Asymptomatische HIV-Erkrankung • Persistierende generalisierte Lymphadenopathie 	<ul style="list-style-type: none"> • HIV-assoziierte nicht-AIDS-definierende Erkrankungen
>500	A1	B1	C1
200-499	A2	B2	C2
<200	A3	B3	C3

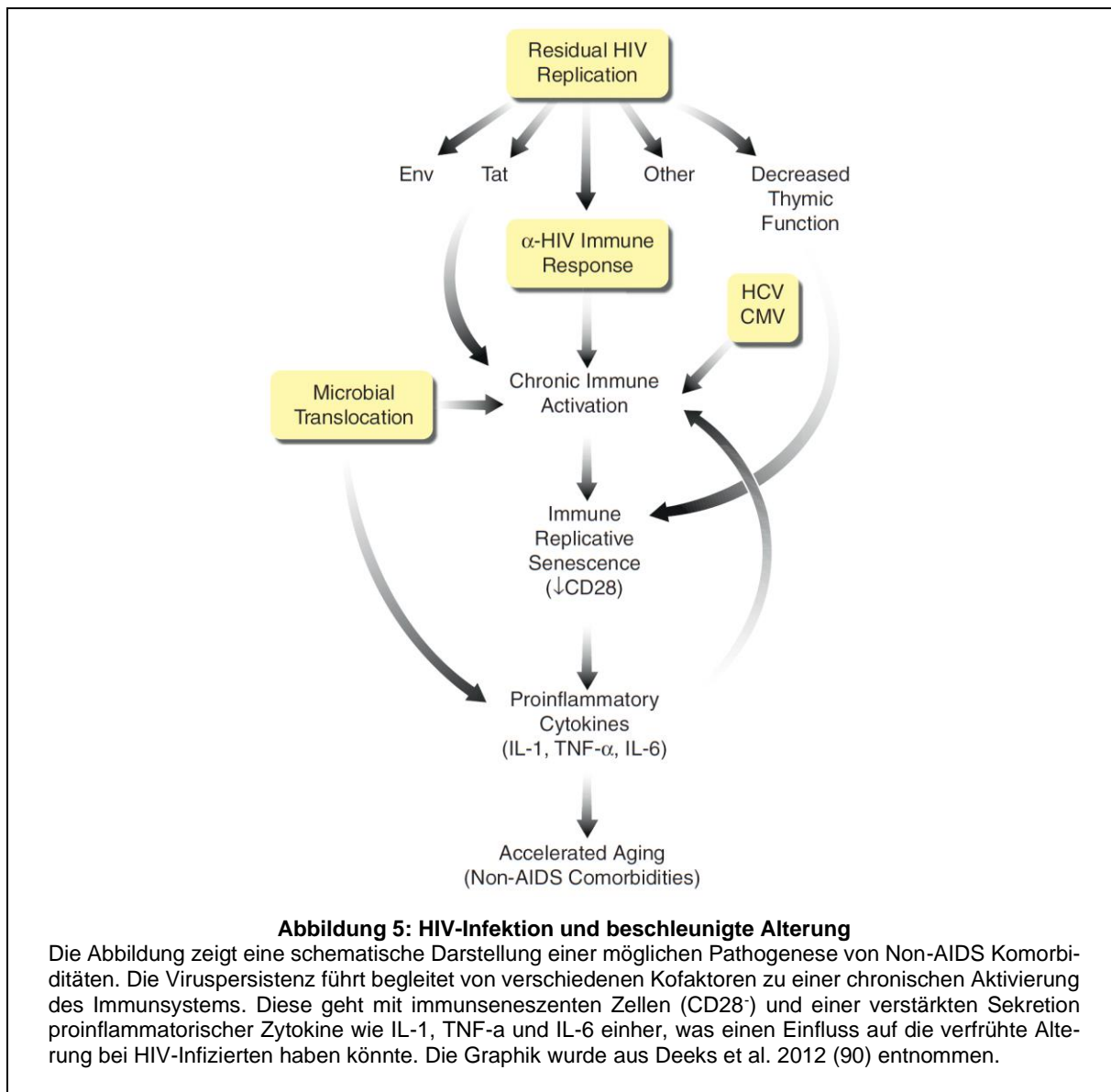
1.2.3 Chronische Non-AIDS Komorbiditäten

Die lebenslange Persistenz des HI-Virus führt zu einem Status chronischer Inflammation, welcher mit einer erhöhten Produktion von proinflammatorischen Zytokinen einhergeht (77, 87).

Zusätzlich führt eine persistierende Entzündung ebenfalls zu Gewebeschäden insbesondere im GI-Trakt, was zu mikrobieller Translokation und damit wiederum zu einem erhöhten Inflammationsniveau beitragen kann (88). Weitere Faktoren sind die Produktion dysfunktionaler T-Zellen im Thymus, ART-Toxizität und HIV-assoziierte Koinfektionen (77). All das trägt zu einem erhöhten Risiko HIV-Infizierter Menschen für eine Entwicklung von nicht-AIDS-abhängigen Komorbiditäten bei, welche häufig eine inflammationsbedingte Pathogenese aufweisen (77). Dieser Zusammenhang wird schematisch in **Abbildung 5** dargestellt.

Auch durch langjährige ART mit erfolgreicher viraler Suppression konnte eine Normalisierung der Marker für systemische Immunaktivierung nicht erreicht werden. Erhöhte inflammatorische Biomarker sind, unabhängig von der CD4-Zellzahl und der Viruslast, ein Risikofaktor für die Entwicklung von non-AIDS Erkrankungen. Die Immunaktivierung zeigte sich durch eine Erhöhung proinflammatorischer Mediatoren, dysfunktionale regulatorische T-Zellen (Tregs) und seneszente T-Zellen (89).

Der normale Alterungsprozesses geht ebenfalls mit funktionellen Veränderungen des Immunsystems einher. Dabei korrelieren verschiedene negative Outcomes wie eine erniedrigte Impfantwort bei Älteren, Autoimmunität, eine Reduktion der gesamten T-Zellpopulation, kardiovaskuläre Erkrankungen und eine schlechte Antigen-Antwort mit einem Nachweis seneszenter Zellen (90). Diese akkumulieren in verschiedenen Organen und Geweben im Laufe des Lebens und beeinflussen den Alterungsprozess durch die Sekretion proinflammatorischer Zytokine (90). Für ältere Menschen typische Veränderungen im Immunsystem finden sich bei jüngeren Menschen mit HIV-Infektion. Diese Veränderungen zeigen sich durch einen erhöhten Anteil seneszenter Zellen (CD28⁻/CD57⁺) mit einer geringeren Proliferationsfähigkeit, kurzen Telomeren und einer vermehrten Sekretion proinflammatorischer Zytokine wie IL-1, TNF- α und IL-6. Trotz deutlichen Verbesserungen durch effektive ART zeigten viele HIV-Patient*innen (v.a. solche mit geringen CD4-Zellzahlen) bleibende Veränderungen der T-Zell-Homöostase mit geringerem Anteil an naiven CD4-Zellen und CD8-Zellen und einem höheren Anteil an Effektor-Gedächtniszellen mit Expression von CD57 (90).



1.2.4 HIV-assoziierte neurologische Erkrankungen

HIV-Infizierte sind häufig von neurologischen Erkrankungen betroffen. Im Verlauf entwickeln ca. 60% der Patient*innen mit fortgeschrittener HIV-Erkrankung eine neurologische Funktionsstörung (91). Diese können in allen Stadien der Erkrankung und auf allen Ebenen der neuronalen Achse auftreten. Die Ursachen sind vielfältig und reichen von dem HI-Virus selbst über die Dysregulation des Immunsystems und anderen Komorbiditäten bis zu Nebenwirkungen der Antiretroviralen Therapie (92). Die häufigste neurologische Komplikation bei HIV-Infizierten ist die distal symmetrische Polyneuropathie (DSP). Es wird geschätzt, dass über 50% der Patient*innen mit fortgeschrittener HIV-Erkrankung betroffen sind (93). DSP tritt in der Regel als Konsequenz des HI-Virus selbst auf.

Zusätzlich kann diese jedoch auch als toxische Neuropathie durch Antiretrovirale Medikamente wie Stavudin (d4T), Didanosin (ddI) und Zalcitabin (ddC) hervorgerufen werden. Diese sog. D-drugs werden jedoch mit Ausnahme einiger Entwicklungsländer aufgrund der Nebenwirkungen kaum noch verwendet (92). Unabhängig der Pathogenese ist das klinische Bild identisch mit Taubheit, Schmerzen oder Parästhesien (92).

Während heutzutage durch hohe Effizienz von antiretroviraler Therapie fortgeschrittene Stadien einer HIV-assoziierten Demenz eine Rarität geworden sind, kommen milde Formen des HIV-assoziierten neurokognitiven Defizits (HAND) weiterhin vor. Circa 30-50% der Patient*innen entwickeln im Laufe der HIV-Infektion neurokognitive Funktionsstörungen (94-96). Diese äußern sich überwiegend in Form von kognitiver Verlangsamung, Konzentrationsstörungen, mnestischen Störungen oder Verhaltensauffälligkeiten (97). Risikofaktoren sind ein niedriger CD4-Nadir und eine hohe Viruslast, die Dauer der HIV-Infektion, AIDS-definierende Erkrankungen und ein Alter über 50 Jahre (98, 99). Das HIV-assoziierte neurokognitive Defizit (HAND) wird anhand der Frascati-Kriterien (100) in drei Stadien unterteilt. Für die Diagnose müssen mögliche andere Ursachen wie schwere depressive Episoden, Psychosen oder Drogen- und Alkoholgebrauch ausgeschlossen werden. Als asymptomatisches HIV-assoziiertes neuropsychologisches Defizit (ANPD) wird das erste Stadium bezeichnet. In diesem Stadium werden kognitive Defizite in standardisierten Tests nachgewiesen, wobei das Alltagsleben der Patient*innen noch nicht beeinträchtigt ist. Dem zweiten Stadium werden Patient*innen mit mildem HIV-assoziiertem neurokognitivem Defizit (MNCD) zugeordnet. Bei diesen bestehen die kognitiven Einschränkungen bereits über einen längeren Zeitraum, werden im Alltag z.B. durch Schwierigkeiten im Beruf, im eigenen Haushalt oder in der sozialen Interaktion bemerkt und müssen durch Angehörige bestätigt werden. Im Dritten Stadium, der HIV-assoziierten Demenz (HAD), weisen die Patient*innen schwere Beeinträchtigungen im Alltag auf, welche ohne fremde Hilfe nicht mehr zu bewältigen sind.

Weitere HIV-assoziierte neurologische Funktionsstörungen können sich beispielsweise in Form von Myelopathien oder neuromuskulären Erkrankungen äußern (92).

1.2.4.1 HIV-assoziierte Myopathien

Eine Muskelbeteiligung kann in allen Stadien der HIV-Infektion auftreten. In frühen Phasen der Infektion zum Zeitpunkt der Serokonversion treten häufig kurzzeitig unspezifische Myalgien auf. Im Verlauf der Erkrankung wurden bei HIV-Infizierten sowohl antiretroviral toxische Myopathien als auch inflammatorische Myopathien beobachtet. Im AIDS Stadium können sich auch opportunistische Infektionen im Muskel manifestieren (97). Die antiretroviral toxischen Myopathien sind meist Zidovudin-induziert und auf eine mitochondriale Schädigung durch das Medikament zurückzuführen (101). Diese Form wird in Abschnitt 1.2.5.1 näher beschrieben. Bei den inflammatorischen Myopathien können Patient*innen mit HIV-Infektion verschiedene Formen entwickeln. Bisher wurden Fälle von HIV-PM, HIV-IBM, HIV-DM und HIV-IMNM beschrieben (102, 103). Dabei konnte keine Expression von virusspezifischen Antigenen auf Muskelfasern nachgewiesen werden und lediglich ein geringer Teil der zytotoxischen T-Zellen und Makrophagen im Endomysium wurde als virusspezifisch detektiert (104, 105).

In einer Übersichtsarbeit von Landon-Cardinal et al. (102) wurden pathologische Muskelbiopsien von 46 HIV-infizierten untersucht und anhand histologischer Kriterien in fünf Subgruppen unterteilt: Polymyositis (n=18), nicht-spezifische Myositis (n=12), Einschlusskörperchenmyositis (n=3) und Immun-vermittelte nekrotisierende Myopathie (n=1). Die Einteilung erfolgte anhand der ENMC-Kriterien (5, 24). Zusätzlich wurden 12 Patient*innen einer Subgruppe mit isolierter mitochondrialer Pathologie zugeordnet, welche durch COX-negative Fasern ohne inflammatorische Zellinfiltrate oder geränderte Vakuolen definiert war (102).

In einigen Studien wurde ein klinisch-pathologischer Übergang zwischen HIV-PM und HIV-IBM beschrieben. Manche HIV-Patient*innen wurden dabei initial als PM charakterisiert und entwickelten im Verlauf eine IBM (106, 107). Diese Beobachtung wurde auch bei der sporadischen Form gemacht (19). Insgesamt fiel im Vergleich der HIV-IBM zur sIBM ein signifikant jüngeres Erkrankungsalter auf (106). Das durchschnittliche Alter bei der Muskelbiopsie betrug bei Patient*innen mit HIV-IBM 51 Jahre und bei Patient*innen mit sporadischer IBM 69 Jahre (106). Darüber hinaus stellten sich die HIV-assoziierte und die sporadische Form jedoch klinische und histopathologisch ähnlich dar (106, 107).

1.2.5 Therapie

Aktuell gibt es über 30 zugelassene Medikamente zur Behandlung einer HIV-Infektion, welche sich aus fünf Wirkstoffklassen zusammensetzen.

1. Nukleosidische bzw. Nukleotidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTIs)
2. Nicht-nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NNRTIs)
3. Protease-Inhibitoren (PIs)
4. Entry-Inhibitoren (Korezeptorantagonisten, Fusionsinhibitoren)
5. Integrase-Strangtransfer-Inhibitoren (INSTIs)

Die Medikamente setzen an vier verschiedenen Stellen im Replikationszyklus von HIV an: Der Eintritt des Virus in die Zielzelle (Entry-Inhibitoren), das Umschreiben der viralen RNA in DNA durch die Reverse-Transkriptase (NRTI und NNRTI), die Integration der viralen Erbinformation in die DNA der Zielzelle im Zellkern durch die HIV-Integrase (INSTI) und die proteolytische Aufspaltung viraler Makromoleküle zur Fertigstellung der Viruspartikel durch die HIV-Protease (108).

Klinischer Standard sind Kombinationspräparate, welche sich aus verschiedenen Wirkstoffklassen zusammensetzen. Häufig werden zwei NRTIs mit jeweils einem NNRTI, PI oder INSTI kombiniert (108).

1.2.5.1 UAW bei cART

Eine der häufigsten Nebenwirkungen von ART ist die mitochondriale Toxizität, welche der Therapie mit NRTI zugeordnet wird (109). NRTI sind Nukleosidanaloga, die als modifizierte Substrate von der viralen Reversen Transkriptase zur Umschreibung in DNA genutzt werden. Durch chemische Veränderung verhindern sie die Verknüpfung mit dem nächsten Nukleotid, was zum Abbruch des viralen DNA-Strangs führt (109). Mit diesem Mechanismus können sie jedoch auch als Substrat von der zellulären DNA-Polymerase genutzt werden. Die höchste Affinität zeigte sich dabei für die DNA-Polymerase γ , die für die Replikation von mitochondrialer DNA (mtDNA) zuständig ist. Eine Inhibition dieser führt daher zur Schädigung der mtDNA Synthese (109, 110). Zusätzlich sind noch weitere Mechanismen wie mitochondrialer oxidativer Stress und mtDNA-Mutationen in die Pathophysiologie der NRTI-induzierten mitochondrialen Dysfunktion involviert (110).

Innerhalb der Gruppe der NRTI gibt es im Ausmaß der mitochondrialen Schädigung jedoch Unterschiede. Zalcitabine (DDC), Didanosine (DDI), Stavudine (D4T) oder Zidovudin (ZDV/AZT) zeigten häufiger Nebenwirkungen durch mitochondriale Toxizität, während bei Lamivudin (3TC), Abacavir (ABC), Emtricitabin (FTC) und Tenofovir (TDF) ein geringeres Potential für mitochondriale Schädigung vorlag (109). Die Hauptnebenwirkungen waren Laktatazidose, Steatosis hepatis, Neuropathie, (Kardio-) Myopathie, Pankreatitis und Lipodystrophie. Dabei wurde eine periphere Neuropathie hauptsächlich bei Zalcitabin (ddC), Stavududin (d4T) und Didanosin (ddI) beobachtet und eine Myopathie oder Kardiomyopathie häufig nach Behandlung mit Zidovudin (ZDV) (109, 111). Patient*innen mit Zidovudin-induzierter Myopathie zeigten klinisch Myalgien, Fatigue, eine proximale Muskelschwäche und eine erhöhte CK (111). Muskelbiopsisch wurden „ragged-red“-Fasern und COX-negative Fasern nachgewiesen (112).

1.2.6 Pathophysiologie

HI-Viren sind Retroviren und werden in zwei Typen unterschieden: HIV-1 und HIV-2. Beide sind jedoch mit einem unterschiedlichen Krankheitsverlauf assoziiert. HIV-2 ist mit einer 30-100-fach niedrigeren Virämie, einem höheren Anteil an „Non-Progressoren“ und einer geringeren Geschwindigkeit der Krankheitsprogression assoziiert und macht nur einen kleinen Anteil der Infektionen weltweit aus (108, 113, 114).

1.2.6.1 Replikationszyklus

Das Glykoprotein CD4 dient als primärer Eintrittsrezeptor von HIV-1 (115). CD4 wird vor allem von T-Helfer-Zellen exprimiert, kommt jedoch auch auf der Oberfläche von Monozyten, Makrophagen, dendritischen Zellen und Mikrogliazellen des ZNS vor. Zusätzlich ist zum Eintritt in die Zielzelle eine Bindung an einen Chemokin-Korezeptor wie CCR5 oder CXCR4 erforderlich (116). Nach dem Viruseintritt in die Zelle erfolgt die Umwandlung der viralen RNA in Doppelstrang-DNA mithilfe des Enzyms Reverse Transkriptase. Dabei entstehen durch Fehler häufig Sequenzmutationen, welche die breite Sequenzvariabilität von HIV-1 erklären und bei der Resistenzentwicklung gegen Medikamente oder die Immunantwort eine Rolle spielen. Die neu generierte virale DNA wird in den Zellkern gebracht und durch das Enzym Integrase in das menschliche Genom integriert. Nun kann durch Nutzung der zellulären Replikationsmechanismen die Transkription viraler Gene erfolgen.

Die strukturellen Proteine und das Hüllprotein werden mit dem HIV-1-Genom in Einzelstrang-RNA Form zu einem neuen Virus-Partikel generiert. Bis zur Fertigstellung unterlaufen die Vorläuferproteine dabei noch Reifungsprozesse durch Protease vermittelte Spaltung (108).

1.2.6.2 HIV-1 Latenz

Die Infektion mit HIV-1 kann zu einer Integration der viralen Erbinformation in das menschliche Genom führen, weswegen auch nach langjähriger suffizienter antiretroviraler Therapie ein Absetzen dieser eine erneute Virusreplikation herbeiführt. In der Regel führt die Nutzung der zellulären Replikationsmechanismen zur Produktion viraler Partikel anschließend zum Zelltod infizierter Zellen. In einigen Fällen kann sich auch eine latente Infektion manifestieren, wobei die infizierte Zelle nicht unmittelbar durch die virale DNA beeinträchtigt ist und keine Produktion viraler Partikel erfolgt. Da die Zellen keine viralen Antigene präsentieren, können diese nur schwer vom Immunsystem erkannt werden. Die virale DNA kann über viele Jahre in infizierten Zellen persistieren, da HIV-1 auch langlebige Zellen wie Gedächtnis-T-Zellen infiziert. Bei einer inflammatorischen Reaktion können latent infizierte Zellen wieder aktiviert werden und erneut virale Partikel produzieren. Dieses Reservoir an latent infizierten Zellen macht eine Heilung der HIV-1-Infektion bisher nicht möglich (108).

1.2.6.3 T-Zellen

CD4⁺-T-Zellen regulieren durch die Sekretion von Zytokinen auf unterschiedliche Weise die Immunantwort. Sie können in verschiedene Subtypen unterteilt werden: Th1-Zellen aktivieren über INF- γ vor allem Makrophagen und CD8⁺-T-Zellen. Th2-Zellen stimulieren durch Interleukin-4 B-Zellen. Th17-Zellen aktivieren neutrophile Granulozyten und tragen zur Aufrechterhaltung der intestinalen Barriere bei. Follikuläre T-Helfer-Zellen helfen bei der B-Zell-Aktivierung in den Keimzentren der Lymphfollikel. Eine weitere Subgruppe CD4⁺-Zellen sind regulatorische T-Zellen (Tregs), welche die Immunantwort supprimieren können. Nach bisherigen Erkenntnissen scheint HIV-1 häufiger follikuläre T-Helfer-Zellen und Th17-Zellen zu infizieren (117). Die Rolle der Depletion von regulatorischen T-Zellen für die HIV-Pathogenese wird derzeit noch erforscht. Als wichtigste Zielpopulation von HIV-1 ist die Bestimmung von CD4⁺-T-Zellen zum Routineparameter in der Diagnostik für das Ausmaß der Immunschädigung geworden (108).

CD8⁺-T-Zellen erkennen spezifische HIV-1-Peptide, welche Ihnen über HLA cl.-I Moleküle präsentiert werden, und können über die Ausschüttung von Perforinen und Granzymen zur Apoptose von infizierten Zellen führen. Bei einer HIV-Infektion kommt es zu einer starken Immunantwort mit CD8⁺-T-Zellen gegen verschiedene Epitope (118), welche in der akuten Phase der Infektion zunächst zu einer Kontrolle der viralen Replikation mit einer relativ stabilen Viruslast führt (119). Es können sich jedoch mit der Zeit Resistenzmutationen ausbilden (120, 121). Dadurch kann trotz einer hohen CD8-T-Zell-Aktivität in späteren Krankheitsstadien ein wesentlicher antiviraler Effekt ausbleiben (122). Eine Möglichkeit für die geringere Aktivität von CD8-T-Zellen bei Patient*innen mit progressivem Verlauf könnte eine PD1-vermittelte T-Zell-Erschöpfung sein (123). Es konnte eine deutliche PD1-Hochregulation auf HIV-spezifischen CD8⁺- und CD4⁺-T-Zellen bei Patient*innen mit chronischer HIV-Infektion ohne ART nachgewiesen werden, welche positiv mit der Viruslast und negativ mit der CD4-Zellzahl korrelierten. Bei chronischer Antigenpersistenz wird die T-Zell-Funktion durch immunmodulatorische Signale wie PD1 und seine Liganden beeinträchtigt, was zu einer ineffektiven Kontrolle der Virämie führt. Mit Senkung der Viruslast durch antiretrovirale Therapie konnte auch ein Abfall der PD1-Expression auf HIV-spezifischen CD8-T-Zellen beobachtet werden. Außerdem konnte die Proliferationsfähigkeit von CD8-T-Zellen und ihre Funktion durch Blockade des PD1-Signalwegs mit Antikörpern gegen PD-L1 wieder hergestellt werden (123).

Das HI-Virus interagiert mit verschiedenen Teilen des Immunsystems. Im Verlauf der HIV-1-Infektion lassen sich sowohl Funktionseinschränkungen für zelluläre Bestandteile des Immunsystems nachweisen als auch strukturelle Schädigungen lymphatischer Gewebe wie Lymphfollikel (124). Die HIV-Infektion führt zu einem zunächst hohen Aktivierungszustand des Immunsystems. Durch anhaltende Stimulation von Immunzellen kann es zu einer Art Erschöpfungszustand mit Einschränkungen in Proliferationsfähigkeit und Effektorfunktion kommen. Zusätzlich wird eine erhöhte Expression inflammatorischer Proteine und Zytokine beobachtet. Dieser Zustand kann zu einem bei HIV-Patient*innen beobachteten höheren Risiko für kardiovaskuläre oder hepatische Krankheitsbilder führen (108).

1.3 Ziel des Forschungsprojekts

Trotz effektiver antiretroviraler Therapie werden bei Patient*innen mit HIV-Infektion bleibende Veränderungen der T-Zell-Homöostase beobachtet. Zusätzlich fällt eine erhöhte Prävalenz für inflammationsbedingte Erkrankungen im Vergleich zu seronegativen gleichaltrigen Menschen auf. Bei diesen Erkrankungen findet sich eine erhöhte Anzahl immunseneszenter T-Zellen mit vermehrter Sekretion proinflammatorischer Zytokine, welche auch vermehrt im Alter beobachtet werden. Dies könnte ein Hinweis für die „verfrühte Alterung“ bei HIV-Infizierten sein (90). Immunseneszente T-Zellen werden auch bei anderen Erkrankungen mit chronischer Inflammation beobachtet. Bei der Einschlusskörperchenmyositis wurden kürzlich hochdifferenzierte zytotoxische T-Zellen im Muskel nachgewiesen, welche durch die Expression von Seneszenzmarkern wie CD57 und KLRG1, einer erhöhten Effektorfunktion und Zytotoxizität bei verringerter Proliferationsfähigkeit gekennzeichnet sind (62). Diese Arbeit beschäftigt sich mit HIV-assoziierten Myositiden als neurologische non-AIDS Komorbidität. Da es bisher wenige Fallbeschreibungen zu HIV-assoziierten Myositiden gibt, soll diese Arbeit den Einblick erweitern und folgende Frage beantworten:

- Welches histomorphologische Spektrum findet sich innerhalb der HIV-assoziierten Myositiden?

HIV-assoziierte IBM

Zusätzlich wird der Fokus auf den Vergleich der Einschlusskörperchenmyositis zwischen der HIV-assoziierten und der sporadischen Form gelegt. Bisher konnte wie bei anderen non-AIDS Komorbiditäten vor allem ein früheres Erkrankungsalter bei HIV-assoziiierter IBM im Vergleich zu seronegativen Patient*innen mit sIBM beobachtet werden.

Der Nachweis hochdifferenzierter zytotoxischer T-Zellen im Muskel von Patient*innen mit sIBM bringt neue Erkenntnisse für die Pathogenese der Erkrankung. In dieser Arbeit werden Oberflächenmarker und Transkriptionsfaktoren, die mit hochdifferenzierten zytotoxischen Zellen assoziiert sind, immunhistochemisch auf Proteinebene und mit einer quantitativen PCR auf Genexpressionsebene untersucht.

Folgende Fragen sollen beantwortet werden:

- Wie unterscheiden sich Patient*innen mit HIV-IBM von solchen mit sporadischer IBM bezüglich klinischer als auch myopathologischer Parameter?
- Lassen sich hochdifferenzierte zytotoxische T-Zellen auch bei Patient*innen mit HIV-IBM nachweisen?

Ein Patient mit HIV-IBM wurde über 12 Jahre klinisch und histomorphologisch beobachtet. Anhand dieses Beispiels sollen folgende Fragen beantwortet werden:

- Wie entwickelt sich die HIV-assoziierte Einschlusskörperchenmyositis klinisch und histomorphologisch im Verlauf?
- Welche Unterschiede zeigen sich zwischen der initialen Biopsie und der Verlaufsbiopsie in Bezug auf die hochdifferenzierten zytotoxischen T-Zellen auf Proteinebene und Genexpressionsebene?

2 Material

2.1 Reagenzien

Tabelle 2: Reagenzien

Produkt	Hersteller/Händler
Aceton	Merck, Darmstadt, Deutschland
Chloroform	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Ethanol	JT Baker, Center Valley, USA
Glykogen UltraOure RNase-frei 20 µg/µl	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
Isopropanol	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Normales Ziegenserum	Vector Laboratories, Burlingame, USA
PBS	Biochrom AG, Berlin, Deutschland
ROTI-HISTOKITT II Einschlussmittel	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Xylol	JT Baker, Center Valley, USA
Vectashield Mounting Medium with DAPI	Vector Laboratories, Inc., Burlingame, USA

2.2 Antikörper

Tabelle 3: Primäre Antikörper

Produkte	Klone	Spezifität	Verdünnung	Hersteller/Händler
CD4	SP35	Kaninchen anti Mensch	1:100	Zymed, Österreich
CD8	C8/114B	Maus anti Mensch	1:100	DAKO, Deutschland
CD3	polyklonal	Kaninchen anti Mensch	1:100	DAKO, Deutschland
CD20	L26	Maus anti Mensch	1:400	DAKO, Deutschland
CD45	UCHL1	Maus anti Mensch	1:400	DAKO, Deutschland
CD56	ERIC-1	Maus anti Mensch	1:200	Serotec, Deutschland
CD68	EBM11	Maus anti Mensch	1:100	DAKO, Deutschland
C5b-9	aE11	Maus anti Mensch	1:100	DAKO, Deutschland
HLA-ABC	W6/32	Maus anti Mensch	1:1000	DAKO, Deutschland
HLA-DR	CR3/43	Maus anti Mensch	1:200	DAKO, Deutschland
MHCneo	NB-MHCn	Maus anti Mensch	1:20	Novocastra, Großbritannien
P62	polyklonal	Kaninchen anti Mensch	1:100	Abcam, Großbritannien
KLRG1	polyklonal	Kaninchen anti Mensch	1:50	Proteintech, Großbritannien
CD57	SPM 129	Maus anti Mensch	1:50	Zymed, Österreich
CD27	EPR8569	Kaninchen anti Mensch	1:500	Abcam, Großbritannien
PD1	NAT105	Maus anti Mensch	1:100	Abcam, Großbritannien
PD-L1	E1L3N	Kaninchen anti Mensch	1:100	Cell Signaling, Deutschland
PD-L2	TY25	Ratte anti Mensch	1:100	Abcam, Großbritannien

Tabelle 4: Fluorochrome und weitere Fluoreszenz Färbelösungen

Produkte	Spezifität	Verdünnung	Hersteller/Händler
AF488	Ziege anti Kaninchen	1:100	Invitrogen, Carlsbad, USA
AF488	Ziege anti Maus	1:100	Invitrogen, Carlsbad, USA
Cy3	Ziege anti Maus	1:100	Dianova, Hamburg, Deutschland
Cy3	Ziege anti Kaninchen	1:100	Dianova, Hamburg, Deutschland
LCO (pFTAA)	-	1:500	Peter Nilsson, Institut für Chemie Linköping Universität, Schweden

2.3 PCR-Sonden

Tabelle 5: TaqMan-Sonden

TaqMan Gene Expression Assay	Referenznummer
<i>B3GAT1 (CD57)</i>	Hs01024500_m1
<i>CD244</i>	Hs00175569_m1
<i>CD27</i>	Hs00609654_g1
<i>KLRG1</i>	Hs00195153_m1
<i>PD1</i>	Hs01550088_m1
<i>PDL1</i>	Hs00204257_m1
<i>PDL2</i>	Hs00228839_m1
<i>PGK1</i>	Hs99999906_m1
<i>TBX21</i>	Hs00894392_m1

2.4 Kommerzielle Kits und Enzyme

Tabelle 6: Kommerzielle Kits und Enzyme

Produkt	Hersteller/Händler
DNase free Kit	Applied Biosystems, Foster City, USA
High-Capacity cDNA Archive Kit	Applied Biosystems, Foster City, USA
peqGOLD TriFast	PEQLAB Biotechnologie, Erlangen
TaqMan Fast Universal PCR Master Mix	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland

2.5 Geräte

Tabelle 7: Geräte und Laborausrüstung

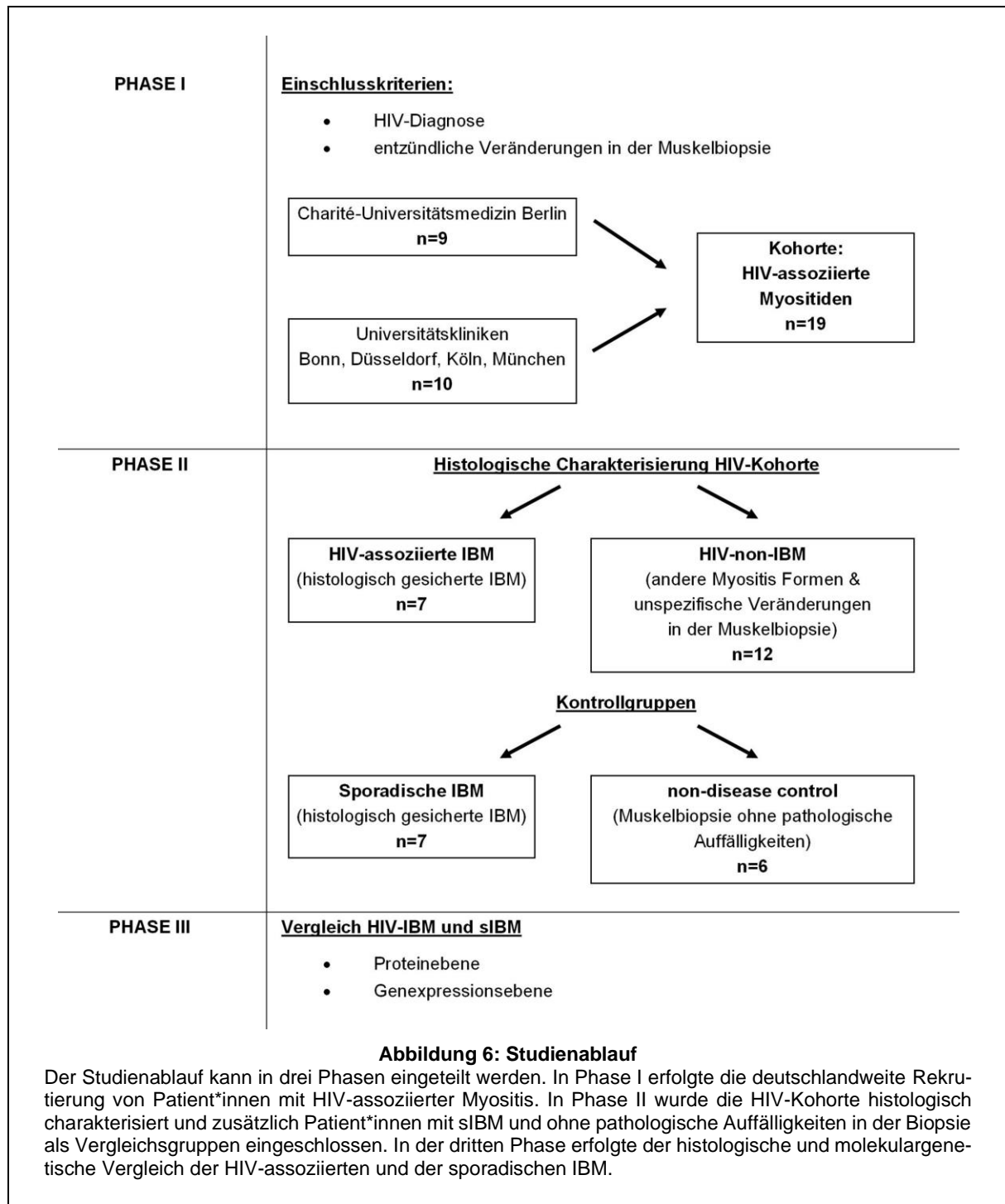
Produkt	Hersteller/Händler
BZ-X800 Fluoreszenzmikroskop	Keyence, Neu-Isenburg, Deutschland
Färbeautomat Benchmark XT	Ventana Medical Systems, Illkirch, Frankreich
Kryostat Cryo-Star Microm HM560	Microm, Walldorf, Deutschland
Microplate Reader TECAN Infinite 200	Tecan, Grödig, Österreich
Olympus BX50 Mikroskop	Olympus, Tokio, Japan
PCR-Thermocycler Uno-Cycler	VWR, Darmstadt, Deutschland
Real-Time PCR System 7900 HT	Applied Biosystems, Foster City, USA
Zeiss Observer Z1 Fluoreszenzmikroskop	Zeiss, Göttingen, Deutschland

3 Methodik

3.1 Patient*innenkollektiv

Der Studienablauf wird in **Abbildung 6** schematisch dargestellt. Die Auswahl der Patient*innen erfolgte anhand des Befundes ihrer Muskelbiopsie. In Phase I wurden 19 Patient*innen mit HIV-assoziiertes Myositis eingeschlossen. Kriterien dafür waren eine HIV-Erkrankung und entzündliche Veränderungen in der Muskelbiopsie. Neun Patient*innen kamen aus dem Diagnostikpool des Instituts für Neuropathologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin, wovon vier im gleichen Haus behandelt wurden und die Übrigen aus anderen Kliniken innerhalb Berlins (Vivantes Auguste-Viktoria-Klinikum, Schlosspark-Klinik) an das Institut für Neuropathologie der Universitätsklinik überwiesen wurden. Zur Erweiterung des Patient*innenkollektivs wurde deutschlandweit in weiteren Muskelzentren angefragt. Aus dem Institut für Neuropathologie der Universitätsklinik Düsseldorf wurden uns fünf Patient*innen übermittelt. Weitere drei kamen aus der Universitätsklinik München und jeweils ein*e Patient*in wurde aus Köln und Bonn zugesandt. In Phase II erfolgte anhand der Histomorphologie eine weitere Einteilung in Untergruppen (siehe 4.2.1 Spektrum HIV-assoziiertes Myositiden). Für die Auswertung der klinischen Daten wurden die Patient*innen zunächst in zwei Gruppen zusammengefasst: Patient*innen mit HIV-assoziiertes Einschlusskörperchenmyositis (HIV-IBM) und solche mit unspezifischen entzündlichen Veränderungen in der Biopsie, welche nicht den ENMC-Kriterien (24) der IBM entsprachen (HIV-non-IBM). Von einem Patienten lag uns zusätzlich zur initialen Biopsie eine Verlaufsbiopsie vor. Dieser Patient wird in Abschnitt 4.4 detailliert dargestellt. Für alle anderen Auswertungen wurden die Daten der initialen Biopsie verwendet. Für die Gegenüberstellung der HIV-IBM mit der sporadischen Form der Einschlusskörperchenmyositis (sIBM) in Phase III wurde eine Vergleichsgruppe hinzugezogen. Diese setzt sich aus sieben Patient*innen mit histologisch gesicherter sIBM anhand der ENMC-Kriterien (24) zusammen und entstammt dem Diagnostikpool des Instituts für Neuropathologie der Charité– Universitätsmedizin Berlin. Für die Genexpressionsanalyse wurde zusätzlich eine Gruppe von nicht betroffenen Patient*innen als non-disease control (NDC) untersucht. Eingeschlossen wurden hierbei sechs Patient*innen ohne pathologische Auffälligkeiten in der Muskelbiopsie.

Zusätzliche klinische Kriterien waren eine normwertige Creatinkinase (CK), keine Auffälligkeiten im Elektromyogramm (EMG), sowie keine Paresen in der klinischen Untersuchung. Die Patient*innen entstammen ebenfalls dem Diagnostikpool des Instituts für Neuropathologie der Charité– Universitätsmedizin Berlin.



3.2 Datenschutz und ethische Richtlinien

Die Studie wurde unter Einhaltung der Deklaration von Helsinki zu ethischen Richtlinien der medizinischen Forschung am Menschen durchgeführt und von der Ethikkommission der Charité bewilligt (EA2/163/17 und EA1/259/19). Alle Daten wurden retrospektiv aus der Routinebehandlung erhoben. Nach Einschluss in die Studie wurden die Patient*innendaten pseudonymisiert und anschließend ausgewertet. Die Übermittlung der Patient*innendaten von den Partnerkliniken erfolgte ebenfalls pseudonymisiert. Nur autorisierte Personen haben Zugriff auf die Originaldaten.

3.3 Klinische Daten

Die klinischen Daten wurden aus den Krankenakten erhoben bzw. pseudonymisiert von den Partnerkliniken zugesandt. Es wurden folgende Daten zur HIV-Erkrankung erfasst: Angaben zur zeitlichen Einordnung der Erkrankung (Alter bei HIV-Erstdiagnose (ED) und zeitlicher Abstand zwischen HIV-ED und Biopsie), der Immunstatus mit CD4-Nadir und CD4-Helferzellzahl, Viruslast und antiretroviraler Therapie zum Zeitpunkt der Biopsie, das CDC-Stadium, HIV-assoziierte Koinfektionen und HIV-Manifestationen.

Zur Auswertung der muskelbezogenen klinischen Daten wurde das Alter bei Biopsie und die zeitliche Einordnung des Symptombeginns in Bezug zur Biopsie ausgewertet. Des Weiteren wurden Angaben zur Art der Symptomatik (Erstsymptom, Myalgien, Paresen, Dysphagie) erhoben. Die Ausprägung der Paresen wurde dabei in die Schweregrade mild, moderat und schwer eingeteilt. Milde Paresen entsprechen einem Kraftgrad 4+ der Medical-Research-Council-Skala (MRC) mit möglicher Bewegung gegen kräftigen Widerstand, welche jedoch schwächer als auf der Gegenseite ist. Moderaten Paresen werden die Kraftgrade 4 und 4- der MCR-Skala zugeordnet mit möglicher Bewegung gegen mäßigen bis leichten Widerstand. Als schwere Paresen werden Kraftgrade unter 4- der MRC-Skala bezeichnet mit möglicher Bewegung gegen die Schwerkraft, jedoch nicht gegen Widerstand. Für alle betroffenen Patient*innen wurde ein Schweregrad vergeben, welcher sich auf die jeweils schwächste Muskelgruppe bezieht. Weitere Parameter sind zusätzliche Erkrankungen wie Malignome und andere Organmanifestationen, welche unterteilt wurden in Neuropathie, Hautmanifestationen und kardiale oder pulmonale Beteiligung.

Laborchemisch wurden die Creatinkinase (CK) und Myositis-spezifische Antikörper erhoben. Bei der CK handelt es sich um den Wert zum Zeitpunkt der Muskelbiopsie. Bei den Myositis-assoziierten Antikörpern wurde der Status von Anti-cN1A erhoben, welcher mit der Einschlusskörperchenmyositis assoziiert wird. Beim Nachweis weiterer Autoantikörper, werden diese zusätzlich angegeben (siehe 4.1 Klinische Daten). Weiterhin wurden die Ergebnisse im EMG ausgewertet. Eingeteilt wurde dabei in ein myogenes oder neurogenes Muster oder eines gemischten Bildes. Bei Vorliegen einer Muskel-MRT wurden die Parameter Atrophie, Ödem als Zeichen u.a. für Inflammation und fettige Degeneration beurteilt und in vorhanden bzw. nicht vorhanden eingeteilt. In Bezug auf therapeutische Interventionen wurden Angaben zur medikamentösen Therapie und deren Wirksamkeit erhoben. Als positives Therapieansprechen wurden auch Patient*innen mit temporärem Effekt, welcher mit der Zeit nachließ, bewertet.

3.4 Histologie

3.4.1 Anfertigung von Gefrierschnitten und Einzelfärbungen

Die Muskelproben wurden im Institut für Neuropathologie der Berliner Charité und den Partnerinstituten der Universitätskliniken Bonn, Düsseldorf, Köln und München entnommen und anschließend bei -80°C cryo-asserviert. Ausgenommen war eine Probe (HIV-Pat. 19), welche uns in Paraffineinbettung zugesandt wurde. Am Kryostaten (Cryo-Star Microm HM560) wurden für die weiteren Färbungen 8-10 µm dünne Schnitte angefertigt und auf Objektträgern bei -20°C aufbewahrt. Vor der Weiterverarbeitung erfolgte eine Adaptierung des Gewebes bei Raumtemperatur für 20 Minuten mit anschließender Fixierung in Aceton für weitere 10 Minuten für die immunhistochemischen Färbungen. Die konventionellen und enzymatischen Färbungen wurden in der Diagnostik des Instituts für Neuropathologie nach Standardprotokollen durchgeführt. Für die immunhistochemischen Färbungen wurde ein Färbeautomat „Benchmark XT“ der Firma Ventana (Ventana Medical Systems, Ilkirch, Frankreich) eingesetzt. Im Anschluss an die Einzelfärbungen wurden die Schnitte mit einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert (20 Sekunden in 70%, je 1 Minute in 80%, 96% und 100% Alkohol) und anschließend zweimal für je 1-2 Minuten mit Xylol geklärt. Zum Schluss wurden die Schnitte mit einem Einschlussmedium (ROTI-HISTOKIT II) eingebettet.

Folgende Färbungen wurden durchgeführt:

Konventionell histologische und enzymhistochemische Färbungen:

- Gömöri-Trichrom-Färbung, H&E, PAS
- Elastika-van-Gieson-Färbung (EVG)
- Unspezifische-Esterase-Färbung , saure Phosphatase
- Kongorot-Färbung
- SDH-Färbung, COX/SDH-Färbung, NADH-TR Färbung
- ATP-asen 4.3, 4.6, 9.4

Immunhistochemische Färbungen:

- CD4, CD8, CD3, CD20, CD45, CD56, CD68, C5b-9, MHC cl.-I (HLA-ABC), MHC cl.-II (HLA-DR), MHCneonatal, p62, LC3, KLRG1, CD57, CD27, PD1, PD-L1, PD-L2

3.4.2 Immunfluoreszenz mit LCO

LCOs (Luminescent conjugated oligothiophenes) sind konformations-sensitive optische Amyloid-Marker, welche sich an die Struktur der Proteinaggregate anpassen und abhängig davon Fluoreszenzlicht unterschiedlicher Wellenlänge emittieren. Dies ermöglicht die Unterscheidung verschiedener Populationen von Proteinaggregaten anhand der spektralen Zuordnung (57). In dieser Arbeit wurde mit pFTAA (pentameric formyl thiophene acetic acid) gefärbt, hergestellt von Prof. Peter Nilsson am Institut für Chemie der Universität Linköping in Schweden.

Nach der in 3.3.1 beschriebenen Vorbehandlung erfolgten die weiteren Schritte für die Fluoreszenzfärbungen in einer feuchten Färbekammer. Die Gewebeschnitte wurden für 30 Minuten mit pFTAA bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) und destilliertem Wasser gespült. Zum Schluss erfolgte eine wässrige Einbettung mit VECTASHIELD Mounting Medium mit DAPI, was zusätzlich zu einer Färbung der Zellkerne führt.

3.4.3 Immunfluoreszenzdoppelfärbungen

Mit Inkubation von zwei Primärantikörpern und anschließender Detektion dieser mit unterschiedlich fluoreszierenden Sekundärantikörpern sind Doppelfärbungen auf einem Schnitt möglich.

Zunächst wurde dafür mit dem passenden Serum der Spezies des sekundären Antikörpers für 30 Minuten blockiert, um unspezifische Bindungen zu vermeiden. Nach jeder Inkubation erfolgte ein Waschschrift mit PBS für 10 Minuten. Die Inkubation mit dem ersten primären Antikörper erfolgte bei 4°C über Nacht. Anschließend folgte der erste fluoreszierende sekundäre Antikörper mit einer Inkubationszeit von einer Stunde bei Raumtemperatur. Alle weiteren Schritte im Protokoll wurden unter Lichtausschluss durchgeführt. Das Protokoll wird mit einem zweiten primären Antikörper und einem zweiten Fluorchrom-gekoppelten sekundären Antikörper auf denselben Gewebsschnitten mit jeweils einer Stunde Inkubationszeit wiederholt. Zum Schluss erfolgte ebenfalls eine wässrige Einbettung mit VECTASHIELD Mounting Medium mit DAPI. Die Schnitte wurden bei 4°C bis zum Mikroskopieren aufbewahrt.

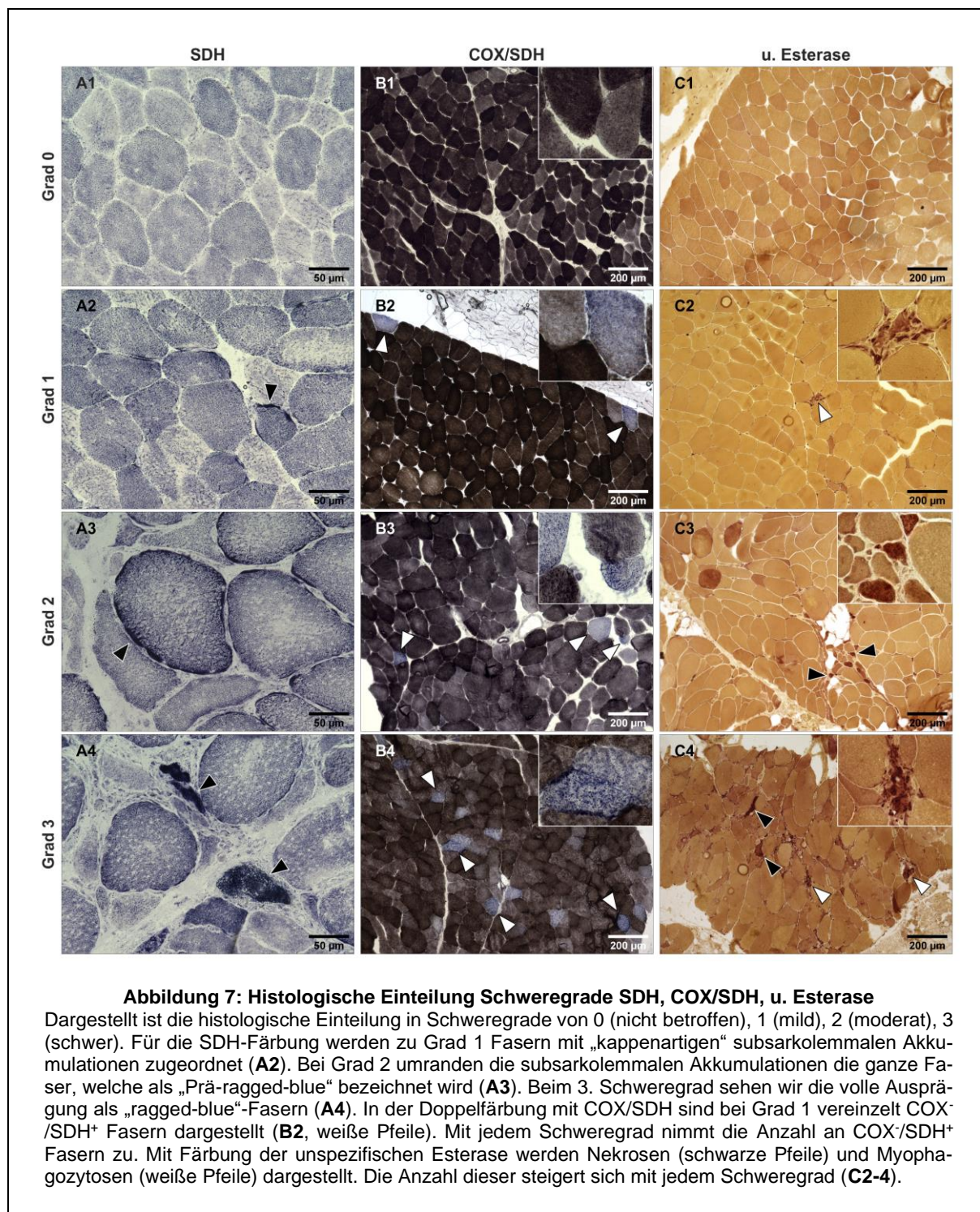
3.4.4 Histologische Auswertung

Die lichtmikroskopischen Untersuchungen wurden am Olympus BX50 Mikroskop durchgeführt. Die Fotografien charakteristischer Befunde wurden mit dem BZ-X800 Fluoreszenzmikroskop und der zugehörigen Software (Keyence, Osaka, Japan) angefertigt. Es erfolgte eine Einteilung in Schweregrade 0-3 für folgende Merkmale: Kalibervarianz und Atrophie, Binde-/Fettgewebsvermehrung, Nekrosen, Regeneration, MHC cl.-I/MHC cl.-II Expression, geränderte Vakuolen, mitochondriale Veränderungen, Autophagie und zelluläre Inflammation. Die Einteilung erfolgte anhand der in **Tabelle 8** beschriebenen Kriterien und wird in den **Abbildungen 1-3** anhand von Bildern jedes Schweregrades veranschaulicht. Die Ausprägung der zellulären Inflammation wurde anhand der durchschnittlichen Zellzahl aus zehn Gesichtsfeldern (kurz HPF in 400-facher Vergrößerung) bestimmt.

Zur Beurteilung der Autophagie wurden sowohl immunhistochemische Färbungen mit p62 als auch mit LC3 durchgeführt. Bei der Auswertung erwies sich p62 als sensitiverer Marker, weswegen dieser für den „overall severity score“ und die histologischen Bilder verwendet wurde.

Tabelle 8: Semiquantitativer Score und Punktwerte der histologischen Merkmale

Merkmal	0 Punkte	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte
<ul style="list-style-type: none"> • Kalibervarianz, Atrophie • Binde-/Fettgewebsvermehrung • Nekrosen • Regeneration • MHC cl.-I/II Expression 	keine	gering	mittel	stark
<ul style="list-style-type: none"> • Fasern mit geränderten Vakuolen • COX/SDH+ Fasern 	keine	vereinzelt	wenig	zahlreich
<ul style="list-style-type: none"> • Mitochondriale Akkumulationen 	keine	„kappenartige“ subsarkolemmale Akkumulationen	Subsarkolemmale Akkumulationen umranden die ganze Faser („Prä-ragged-blue/red“)	„ragged-blue/red“-Fasern
<ul style="list-style-type: none"> • Autophagie 	keine	vereinzelt feingranulär angefärbte Fasern	konzentriert innerhalb der Vakuolen in wenigen Fasern	konzentriert innerhalb der Vakuolen in zahlreichen Fasern
<ul style="list-style-type: none"> • Zelluläre Inflammation durch B-, T-Zellen und Makrophagen pro Gesichtsfeld 	keine	1-4 Zellen	4-20 Zellen	Cluster von mehr als 20 Zellen
<ul style="list-style-type: none"> • Kapilläre Erweiterung • Kapillarverlust • Komplementaktivierung Fasern und Kapillaren • Amyloidablagerungen (LCO, kongophile Einschlüsse) 	Nein	Ja		



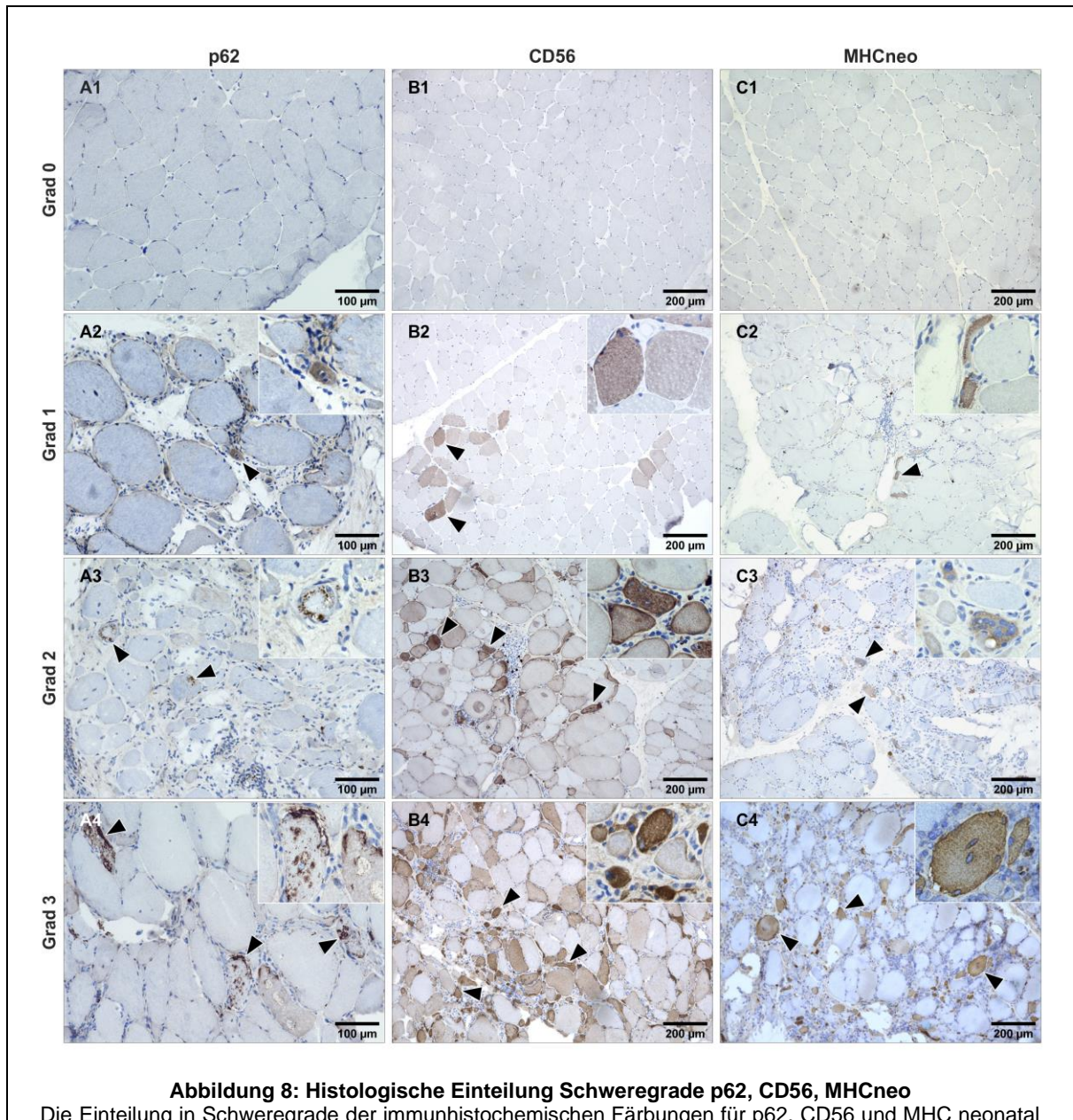
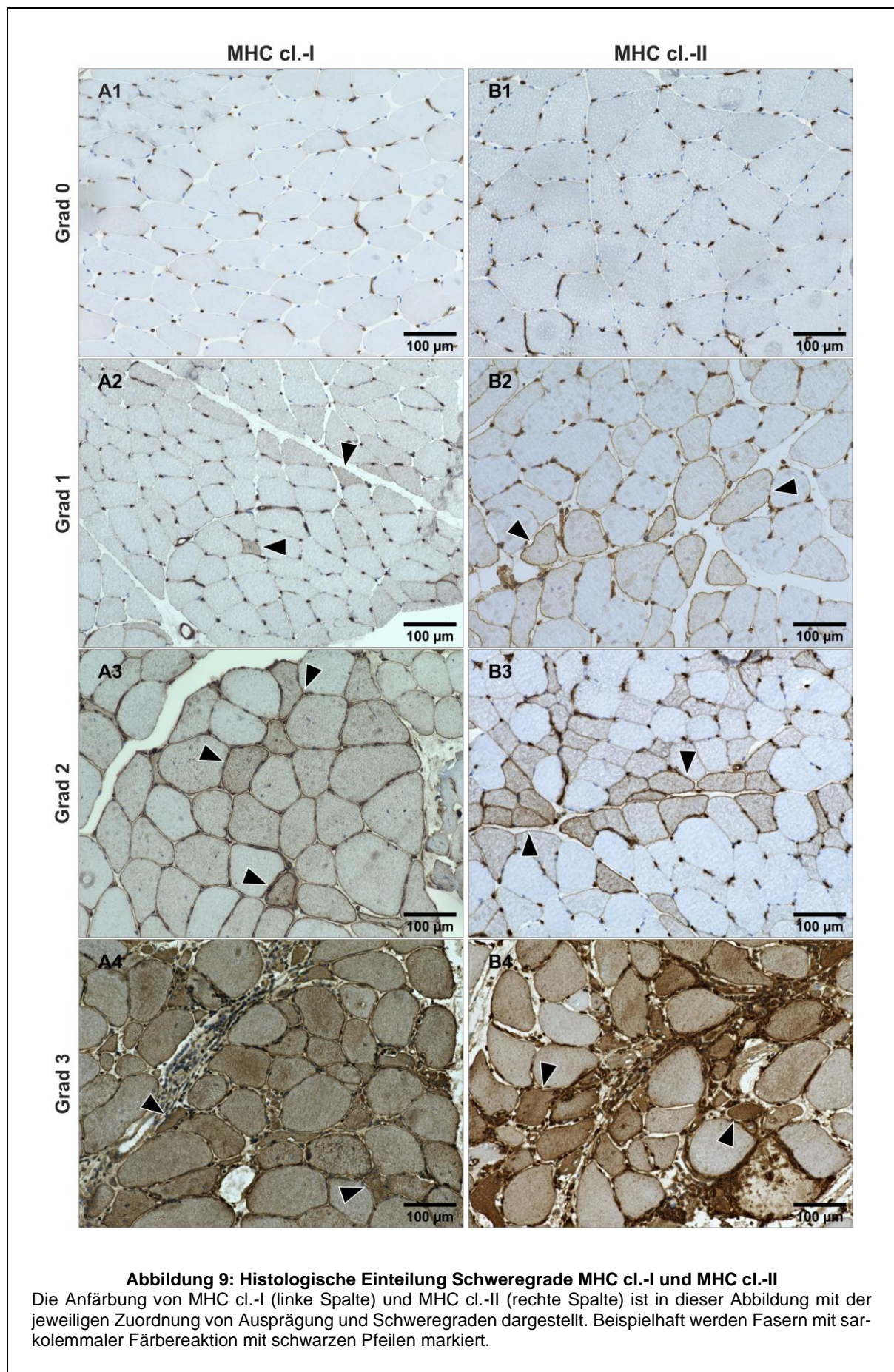
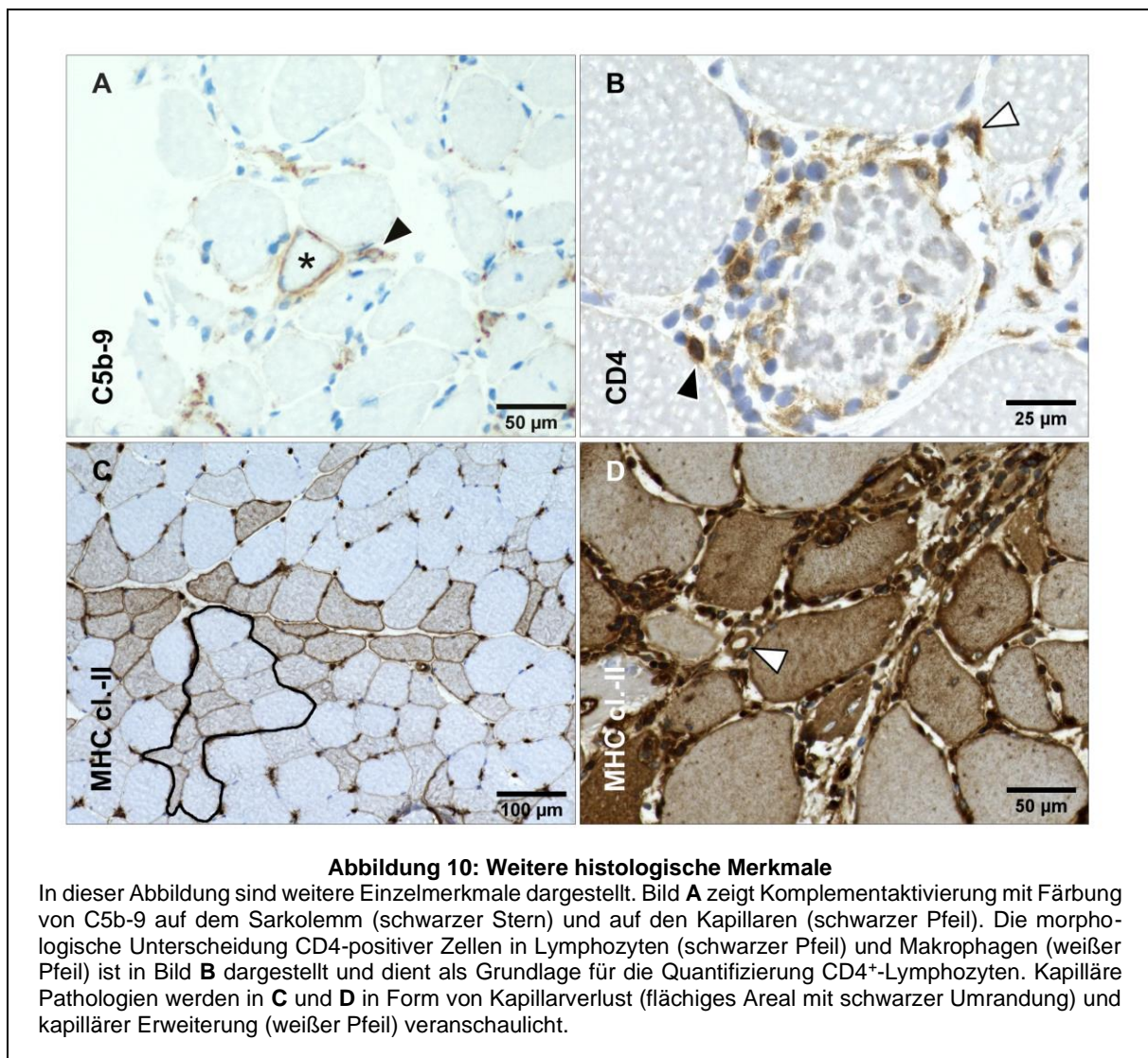


Abbildung 8: Histologische Einteilung Schweregrade p62, CD56, MHCneo

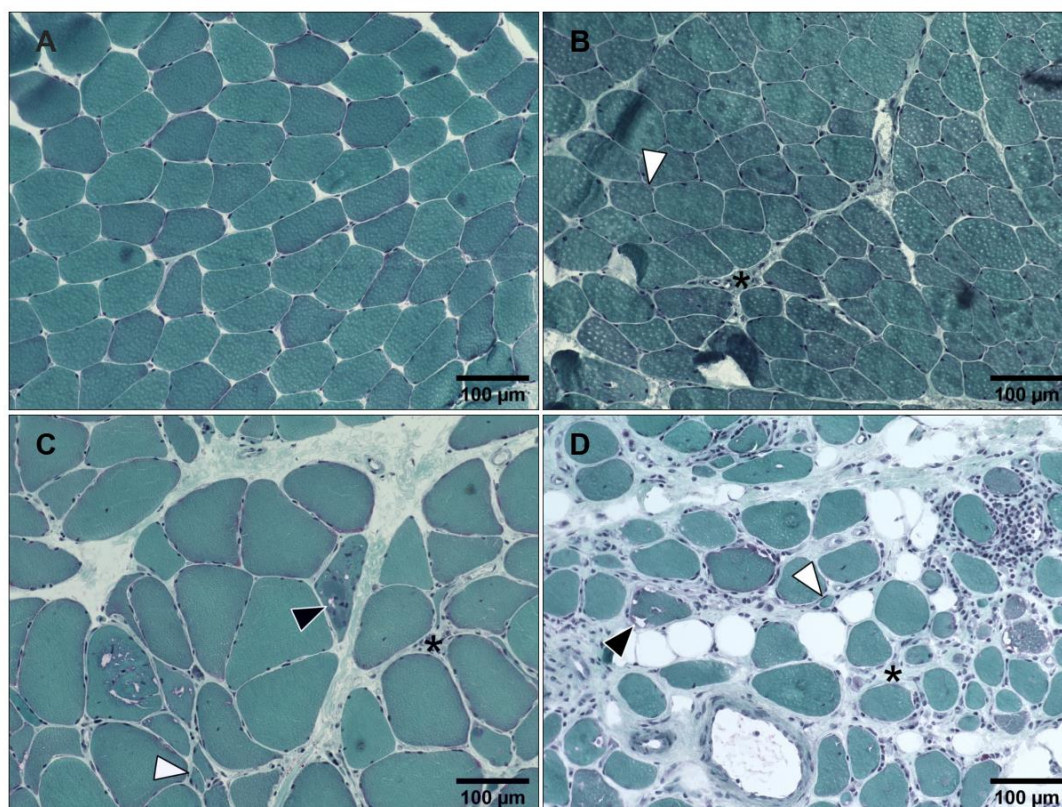
Die Einteilung in Schweregrade der immunhistochemischen Färbungen für p62, CD56 und MHC neonatal (MHCneo) sind in dieser Abbildung anhand von Bildern dargestellt. Mit der p62-Färbung werden autophagische Strukturen markiert, welche hier mit schwarzen Pfeilen gekennzeichnet sind. Bei Grad 1 findet sich eine fein-granuläre Anfärbung einzelner Fasern (**A2**). Ab dem 2. Grad sind die autophagischen Strukturen konzentriert innerhalb der Vakuolen einzelner Fasern zu sehen (**A3**). Bei Grad 3 zeigt sich ein ähnliches Bild in stärkerer Ausprägung (**A4**). Regenerierende Fasern können mit Färbung von CD56 dargestellt werden und sind in den jeweiligen Schweregraden mit schwarzen Pfeilen markiert (**B2-4**). MHC neonatal ist ebenfalls ein Marker für regenerative Reaktionen auf Muskeldegeneration und wird in **C2-4** veranschaulicht.



Weitere Merkmale zu kapillären Pathologien (Verlust oder Erweiterung), Komplementaktivierung (auf Fasern oder Kapillaren) und Amyloid-Ablagerungen (dargestellt mit Kongorot-/LCO-Färbung) wurden in vorhanden oder nicht vorhanden eingeteilt und werden in **Abbildung 10** anhand von Bildern veranschaulicht. Zusätzlich ist die morphologische Unterscheidung CD4⁺-Zellen in Lymphozyten und Makrophagen dargestellt, welche als Grundlage für die Quantifizierung CD4⁺-Lymphozyten diente.



Zusammengefasst werden die einzelnen Merkmale in einem overall severity score (OSS). Dieser unterteilt zehn Kategorien: von 0 für Biopsien ohne pathologische Auffälligkeiten bis 10 für Biopsien mit maximaler Ausprägung aller Merkmale. Er setzt sich zusammen aus 18 Merkmalen mit 0-3 Punkten und sechs Merkmalen mit 0-1 Punkten und wird für alle Patient*innen anhand der Summe aller Punkte errechnet. In **Abbildung 11** sind beispielhaft Bilder von der Gömöri-Trichrom-Färbung mit Zuordnung zu dem jeweiligen OSS dargestellt.



OSS	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Pkt.	0	1-6	7-12	13-18	19-24	25-30	31-36	37-42	43-48	49-54	55-60

Abbildung 11: overall severity score

Die Einteilung in Schweregrade wurde als Grundlage zur Erstellung eines overall severity scores (OSS) genutzt. Dafür wurde die maximale Punktzahl aller Merkmale addiert und die Summe in 10 Schweregrade eingeteilt. Für alle Patient*innen wurde anschließend die individuelle Punktzahl berechnet und dem entsprechenden overall severity score zugeordnet. Beispielhaft sind in den Bildern A-D verschiedene Schweregrade in der Gömöri-Trichrom-Färbung zu sehen. Bild **A** zeigt einen nicht betroffenen Muskel aus der Kontrollgruppe mit einem OSS von 0. Im zweiten Bild (**B**) ist ein mild betroffener Muskel zu sehen, welcher mit 12 Punkten einem OSS von 2 entspricht. Der Muskel in Bild **C** ist mit einer Punktzahl von 34 einem OSS von 6 zuzuordnen. Bild **D** zeigt die maximale Ausprägung mit einem OSS von 10, welcher durch eine Punktzahl von 55 zustande kommt. Die Markierungen zeigen Merkmale wie atrophe Fasern (weiße Pfeile), endomyxisale Bindegewebsvermehrung (schwarzer Stern) und geränderte Vakuolen (schwarzer Pfeil).

3.5 Analyse der Genexpression

Für die Analyse der Genexpression wurden 30x10 µm dicke Schnitte des Muskelgewebes mit dem Kyrostat angefertigt und bis zur Weiterverarbeitung bei -80°C gelagert.

3.5.1 RNA-Isolation

Die RNA-Isolation wurde mit der Trizol/Chloroform-Methode nach Piotr Chomczynski und Nicoletta Sacchi durchgeführt. Zunächst wurde das Muskelgewebe mit 1000 µl peqGOLD TriFast (PEQLAB Biotechnologie, Erlangen) homogenisiert. Während der Inkubationszeit (5 Minuten) kommt es zur Zelllyse, die RNasen werden durch Guanidinisothiocyanat inaktiviert und Phenol führt zur Lösung von DNA und Proteinen. Die Zugabe von 200 µl Chloroform und anschließende Zentrifugation (12 000 g bei 4°C für 10 Minuten) führt zur Auftrennung in drei Phasen. Die RNA ist in der wässrigen Phase enthalten. Diese wurde zur Präzipitation in ein neues Reaktionsgefäß pipettiert, wozu 0,5 µl RNase freies Glykogen als Fällungsmittel und 500 µl Isopropanol hinzugegeben wurden. Nach 10 Minuten Inkubationszeit und anschließender Zentrifugation (12 000 g bei 4°C für 10 Minuten) bildet die RNA ein gelartiges Pellet. Nach Verwerfen des Überstandes wurde das RNA-Pellet mit 1000 µl 75%igem Ethanol gewaschen und erneut zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das RNA-Pellet für 15-20 Minuten getrocknet. Anschließend wurde die RNA in 32 µl H₂O resuspendiert und 10 Minuten bei 56°C inkubiert. Mithilfe des Infinite M200 Microplate Reader und der zugehörigen Software (i-control Tecan, Männedorf, Schweiz) wurde die Konzentration der RNA gemessen, sowie der Reinheitsgrad bestimmt (A₂₆₀/A₂₈₀-Quotienten von 1.6-2.1). Bis zur weiteren Verarbeitung wurde die RNA bei -80°C weggefroren.

3.5.2 cDNA Synthese

Für die quantitative Real Time PCR musste aus der RNA zunächst mittels reverser Transkription die dazu komplementäre DNA (cDNA) hergestellt werden.

Dafür wurde zunächst das DNase free Kit (Applied Biosystems, Forster City, USA) verwendet, um DNA-Verunreinigungen und die DNasen aus den RNA Proben zu entfernen. Das Reaktionsgemisch aus 2,2 µg RNA, 5 µl DNase-Buffer, 1 µl rDNase und x µl H₂O (Gesamtvolumen von 50 µl) wurde für 30 Minuten bei 37°C inkubiert.

Zur Unterbrechung der DNase-Reaktion wurden anschließend 5 µl DNase Inactivation Reagent (ebenfalls in dem oben genannten Kit enthalten) hinzugefügt.

Nach kurzer Inkubationszeit von 2 Minuten bei Raumtemperatur und anschließender Zentrifugation (10 000 g für 2 Minuten) wurde der Überstand (ohne Inaktivierungsreagenz) direkt in die PCR-Tubes überführt. Für die cDNA-Synthese wurde das High-Capacity cDNA Archive Kit (Applied Biosystems, Forster City, USA) verwendet. In die PCR-Tubes wurden um jeweils 50 µl PCR Mastermix mit folgender Zusammensetzung ergänzt:

10 µl 10x RT Puffer, 10 µl 10x RT Random Primer, 4 µl 25x dNTP Mix, 5 µl Reverse Transkriptase und 21 µl RNase-freiem Wasser.

Anschließend erfolgt die Umschreibung im PCR-Cycler unter folgenden Inkubationsbedingungen:

1. 25°C 10 Minuten
2. 37°C 2 Stunden
3. 85°C 5 Sekunden
4. 4°C Hold

Die cDNA wurde bei -20°C aufbewahrt.

3.5.3 Quantitative Real Time Polymerase Kettenreaktion

Die quantitative Real Time PCR (qPCR) beruht auf dem Prinzip der herkömmlichen Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Die Quantifizierung der gewonnenen DNA wird dabei mit Hilfe von Fluoreszenz-Messungen in Echtzeit während der exponentiellen Amplifikationsphase jedes PCR-Zyklus erfasst. Die Messung des Expressionsniveaus verschiedener Gen-Transkripte und eines endogenen Kontrollgens (Phosphoglyceratkinase 1, PGK1, **Tabelle 5**) wurde mit dem 5'-Nuklease Verfahren auf einem ABI PRISM® 7900HT Fast Real-Time PCR System unter Verwendung von einem TaqMan® Gene Expression Assay für menschliche DNA (beides Applied Biosystems, USA) durchgeführt. Die TaqMan-Sonden sind dabei an einem Ende mit einem Quencher und an dem anderen Ende mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff markiert, welche sich beim Abbau durch die Taq-Polymerase während der Synthese des Gegenstrangs voneinander entfernen und das Fluoreszenzsignal abgeben.

Für die qPCR wurden jeweils 1 µl (10 ng) cDNA, 5 µl TaqMan FastStart Universal PCR Master Mix, 0,5 µl TaqMan Gene Expression Assay und 3,5 µl Nuklease-freies Wasser hinzugefügt.

Die Durchführung entsprach den folgenden Reaktionsbedingungen:

Temperaturen	Dauer	Anzahl der Zyklen	Reaktionen
95°C	20 s	1	Initiale Denaturierung
95°C	1 s	45	Denaturierung
60°C	20 s	45	Primerhybridisierung und Elongation

3.5.4 Analyse und Auswertung

Die Bestimmung des Genexpressionslevels erfolgt mit Hilfe des Ct-Wertes (cycle threshold), welcher die Anzahl der Zyklen angibt bei der die Fluoreszenz den zuvor gemessenen Schwellenwert (Hintergrundfluoreszenz) überschreitet. Je mehr DNA vor der PCR in der jeweiligen Probe vorlag, desto geringer ist der entsprechende Ct-Wert. Es erfolgte für jeden Parameter aller Patient*innen eine dreifache Bestimmung, wovon der Mittelwert für die weiteren Berechnungen verwendet wurde. Werte mit einer zu großen Abweichung wurden ausgeschlossen. Zusätzlich ergaben einzelne Messungen Werte unterhalb der Nachweisgrenze, was insbesondere bei dem Marker *PD1* in der Gruppe nicht betroffener Patient*innen (NDC) zu einer geringen Anzahl an auswertbaren Messungen geführt hat. Diese geringe Anzahl an Werten in der NDC Gruppe ist bei den Markern *CD57* und *PD1* bei den späteren Berechnungen zu beachten. Für die Auswertung wurden die Ct-Werte der Zielgene in Bezug zum endogenen Kontrollgen gesetzt und daraus ΔCt (= Ct – Ct der endogenen Kontrolle) berechnet.

3.5.5 Statistische Auswertung

Die ΔCt -Werte der Patient*innengruppen wurden statistisch ausgewertet. Für die graphische Darstellung in einem Boxplot mit Einzelwertdarstellung und Whiskern der Länge 1,5 x Interquartilsabstand (IQR) wurde mit seaborn und matplotlib in Python 3 gearbeitet. Die ΔCt -Werte werden auf inverser Achse veranschaulicht. Für die statistischen Berechnungen wurde, mittels scipy.stats und scikit_posthocs in Python 3, der Kruskal-Wallis Test mit anschließendem Dunn-Test und Bonferroni-Holm-Korrektur durchgeführt. Dargestellt werden die *p*-Werte, die unterhalb des Signifikanzniveaus lagen, welches auf 5% (*), 1% (**) und 0,1% (***) festgesetzt wurde.

4 Ergebnisse

4.1 Klinische Daten

4.1.1 Demographische Daten

Die insgesamt 32 Patient*innen wurden in vier Untergruppen eingeteilt. Bei 19 Personen lag eine HIV-Erkrankung vor. Diese wurden anhand des histologischen Befundes weiter in HIV-IBM (sieben Pat.) und HIV-non-IBM mit unspezifischen entzündlichen Veränderungen in der Biopsie (12 Pat.) unterteilt. Unter den HIV-Erkrankten sind ausschließlich männliche Patienten vertreten. Sieben Patient*innen mit sporadischer IBM und sechs non-disease control Patient*innen wurden als Vergleichsgruppen untersucht. Hier findet sich auch ein überwiegend männlicher Anteil mit jeweils einer weiblichen Vertreterin in beiden Gruppen (**Tabelle 10**).

4.1.2 HIV-Vorgeschichte

Tabelle 9 zeigt einen Überblick der klinischen Daten der HIV-Patient*innen. Die HIV-Erstdiagnose (ED) wurde in der HIV-non-IBM-Gruppe durchschnittlich im Alter von 34 Jahren ($SD=4,8$) gestellt, während die HIV-IBM-Patient*innen bei der Erstdiagnose durchschnittlich 40 Jahre ($SD=10,5$) alt waren.

Die meisten Patient*innen beider Gruppen hatten zum Zeitpunkt der Biopsie einen stabilen Immunstatus unter antiretroviraler Therapie (ART). Drei Patient*innen (1, 17, 18) erhielten zum Zeitpunkt der Muskelbiopsie keine ART. Die CD4-Zellzahl bei Pat. 1 und 17 war zu diesem Zeitpunkt jedoch in einem guten bis leicht erniedrigten Bereich mit 500 und 478 Zellen/ μ l. Bei Pat. 18 lagen uns keine Daten zur CD4-Zellzahl vor. Hervorzuheben ist ebenfalls, dass Pat. 19 im Rahmen des klinischen Aufenthaltes bereits 2 Monate nach HIV-ED biopsiert wurde. Insgesamt lag der Zeitraum zwischen HIV-ED und Biopsie innerhalb der HIV-IBM-Gruppe bei durchschnittlich 12 Jahren ($SD=7,5$) und bei den übrigen HIV-Patient*innen im Mittel bei 7 Jahren ($SD=5,4$).

Die häufigste HIV-ass. Koinfektion war in beiden Gruppen Hepatitis B und/oder C mit einem Anteil von 29% (HIV-IBM) bzw. 25% (HIV-non-IBM). In der HIV-non-IBM-Gruppe gab es zusätzlich auch Patient*innen mit Lues- (17%) oder Chlamydien- (8%) Infektion. HIV-Manifestationen zeigten sich ebenfalls in beiden Gruppen in Form von opportunistischen Infektionen (14% HIV-IBM, 33% HIV-non-IBM), Neuropathien (14% HIV-IBM, 42% HIV-non-IBM) und Malignomen (14% HIV-IBM, 17% HIV-non-IBM).

Zur zeitlichen Einordnung der Malignome ist zu erwähnen, dass sich dieses bei Pat. 1 25 Jahre nach HIV-ED in einer Phase ohne ART als Non-Hodgkin-Lymphom (NHL) manifestierte. Bei Pat. 12 wurde ein Hodgkin-Lymphom vier Jahre nach HIV-ED diagnostiziert. Bei Pat. 14 ist die maligne Erkrankung in Form eines NHL zeitlich drei Jahre nach der HIV-ED einzuordnen. Bei der Einordnung in die CDC-Klassifikation sehen wir insgesamt in beiden Gruppen eine gemischte Verteilung über alle Stadien (A1-C3), wobei aufgrund fehlender Daten die Klassifizierung nur bei der Hälfte der Patient*innen möglich war.

Tabelle 9: Klinische Daten HIV-Vorgeschichte

		HIV-IBM	HIV-Myositis/non-IBM
Alter bei HIV ED in Jahren	20-29	14% (n=1)	8% (n=1)
	30-39	29% (n=2)	59% (n=7)
	≥ 40	57% (n=4)	8% (n=1)
	Keine Angaben	-	25% (n=3)
	Mittel (±SD)	40 (±10,5)	34 (±4,8)
CD4-Nadir (CD4 ⁺ -T-Zellen/μl)	<200	29% (n=2)	-
	200-500	14% (n=1)	42% (n=5)
	>500	-	-
	Keine Angaben	57% (n=4)	58% (n=7)
Jahre zwischen HIV-ED und Biopsie	0-5	43% (n=3)	34% (n=4)
	5-10	14% (n=1)	25% (n=3)
	10-15	-	8% (n=1)
	>15	43% (n=3)	8% (n=1)
	Keine Angaben	-	25% (n=3)
CD4 bei Muskelbiopsie (CD4 ⁺ -T-Zellen/μl)	<200	-	-
	200-500	14% (n=1)	8% (n=1)
	>500	-	34% (n=4)
	Keine Angaben	86% (n=6)	58% (n=7)
Viruslast bei Muskelbiopsie (Viruskopien/ml)	< 20	-	25% (n=3)
	20-1000	-	8% (n=1)
	1000-10 000	-	-
	>10 000	-	8% (n=1)
	Keine Angaben	100% (n=7)	59% (n=7)
ART bei Muskelbiopsie	Ja	72%(n=5)	75% (n=9)
	Nein	14%(n=1)	17% (n=2)
	Keine Angaben	14%(n=1)	8% (n=1)
ART Verlauf Einnahme von AZT/ZDV in der Vorgeschichte	Ja	-	-
	Nein	57% (n=4)	33% (n=4)
	Keine Angaben	43% (n=3)	67% (n=8)
CDC Stadium	A1	14%(n=1)	-
	A2	-	-
	A3	-	8% (n=1)
	B1	-	-
	B2	-	-
	B3	-	8% (n=1)
	C1	-	-
	C2	14% (n=1)	17% (n=2)
	C3	14% (n=1)	17% (n=2)
	Keine Angaben	58% (n=4)	50% (n=6)
HIV-assoziierte Koinfektionen	Hepatitis (B und/oder C)	29% (n=2)	25% (n=3)
	Lues	-	17% (n=2)
	Chlamydien	-	8% (n=1)
	Keine	-	-
	Keine Angaben	71% (n=5)	50% (n=6)

HIV-Manifestationen (mehrfach Antworten möglich)	Malignom	14% (n=1)	17% (n=2)
	Opportunist. Infektionen	14% (n=1)	33% (n=4)
	Neuropathie	29% (n=2)	42% (n=5)
	Keine	14% (n=1)	8% (n=1)
	Keine Angaben	57% (n=4)	42% (n=5)

4.1.3 Muskelspezifische Daten

4.1.3.1 Krankheitsgeschichte und klinische Untersuchung

Tabelle 10 gibt einen Überblick der muskelbezogenen klinischen Daten im Gruppenvergleich zwischen HIV-IBM, sIBM, HIV-non-IBM und NDC.

Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt der Biopsie betrug 53 Jahre ($SD=4,7$) in der HIV-IBM-Gruppe, 70 Jahre ($SD=4,3$) bei Patient*innen mit sporadischer IBM, 43 Jahre ($SD=6$) innerhalb der HIV-non-IBM-Gruppe und 58 Jahre ($SD=9,5$) bei den nicht betroffenen Kontrollen. Dazu ist zu ergänzen, dass die HIV-IBM-Patient*innen im Vergleich zu der sIBM-Gruppe im Schnitt früher biopsiert wurden. Die Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Biopsie lag hier im Mittel bei 1,8 Jahren ($SD=0,7$) und in der sIBM-Gruppe bei 6,2 Jahren ($SD=3,2$). In der HIV-non-IBM-Gruppe wurden die Patient*innen durchschnittlich 2,9 Jahre ($SD=4,1$) nach Symptombeginn biopsiert.

Als Erstsymptom zeigte sich in beiden IBM-Gruppen (HIV-IBM und sIBM) überwiegend eine Schwäche der Oberschenkelmuskulatur (jeweils 57% der Patient*innen). In der HIV-non-IBM-Gruppe wurde vor allem über Myalgien als erstes Symptom bei 50% der Patient*innen berichtet. Eine Muskelschwäche wurde lediglich von 25% der HIV-non-IBM-Patient*innen als Erstsymptom angegeben. Insgesamt war die Muskelschwäche stärker bei den IBM-Patient*innen im Vergleich zur non-IBM-Gruppe fortgeschritten. Die maximale Ausprägung der Paresen war bei 14% der HIV-IBM-Gruppe und 29% sIBM-Patient*innen als moderat (MRC Kraftgrad 4 und 4-) einzuordnen und bei 43% (HIV-IBM) bzw. 29% (sIBM) als schwer (MRC Kraftgrad < 4-). Dabei waren in beiden Gruppen sowohl Patient*innen mit symmetrischem als auch mit asymmetrischem Verteilungsmuster in ähnlichem Verhältnis vertreten. An den unteren Extremitäten zeigte sich die Schwäche überwiegend proximal betont (57% HIV-IBM, 72% sIBM) und an den oberen Extremitäten gemischt mit distaler Betonung (14% HIV-IBM, 29% sIBM), proximaler Betonung (29% HIV-IBM) oder gleicher Betroffenheit der proximalen und distalen Muskulatur (57% sIBM). Die HIV-non-IBM-Gruppe zeigte überwiegend milde (33%) oder keinen Paresen (42%). Eine Ausnahme bildete Pat. 8 mit Kraftgraden bis 4- nach MRC-Skala.

Eine Dysphagie wurde bei jeweils einem*r Vertreter*in in den HIV-Gruppen und zwei sIBM-Patient*innen beobachtet. Hierbei ist zu ergänzen, dass die Ausprägung stark variierte. In den meisten Fällen wurde von einer milden Form der Schluckstörung berichtet. Bei einem Patienten (sIBM 3) war die Dysphagie das Erstsymptom, welche sich dann progredient mit Komplikation einer Aspirationspneumonie entwickelte. Im Verlauf stabilisierte sich die Dysphagie unter Immunglobulin-Gabe und Bougierung einer vorliegenden Ösophagus-Stenose. Einen Nachweis von Malignomen gab es auch in der sIBM-Gruppe in Form eines lokalen Prostatakarzinoms mit ED 6 Jahre vor Biopsie und eines follikulären Lymphoms ersten Grades, wobei hier die ED 20 Jahre mit einem Rezidiv 12 Jahre vor Biopsie gestellt wurde. In diesen beiden Fällen sind die Malignome somit nicht im Zusammenhang mit der IBM einzuordnen. Als weitere Organmanifestation trat bei 29% (IBM) bzw. 42% (non-IBM) der HIV-Patient*innen und bei 14% in der sIBM-Patient*innen eine Neuropathie auf, wobei diese in der HIV-Gruppe auch viral bedingt eigeordnet werden kann. Eine zusätzliche kardiale, pulmonale oder dermatologische Beteiligung als Hinweis auf eine Dermatomyositis wurde bei keinem der Patient*innen beobachtet.

4.1.3.2 Paraklinische Untersuchungen

Laborchemisch zeigte sich in den IBM-Gruppen (HIV-IBM und sIBM) bei allen Patient*innen eine CK-Erhöhung mit 2 bis 6-fachem Anstieg und Werten von 435-1193 U/l. In der HIV-non-IBM-Gruppe zeigten 25% der Patienten eine normwertige CK und 50% eine 2 bis 5-fache Erhöhung mit Werten von 373-900 U/l. Myositis spezifische Antikörper konnten mit zwei Anti-cN1A⁺-Patient*innen in der sIBM-Gruppe und in der HIV-non-IBM-Gruppe mit einem Anti-cN1A⁺/Anti-Ro52⁺ sowie einem Anti-Ro52⁺/Anti-PM-Scl⁺ Patienten nachgewiesen werden. Anti-cN1A wird dabei mit der Einschlusskörperchenmyositis und Anti-Ro52 bzw. Anti-PM-Scl werden mit der Overlap Myositis assoziiert (7). Elektromyografisch zeigten 43% der HIV-IBM-Patient*innen, 57% der Patient*innen mit sIBM und 34% aus der HIV-non-IBM-Gruppe ein myopathisches Muster. Ein gemischtes Bild mit zusätzlich neurogenen Zeichen wurde bei begleitender Neuropathie bei 43% in der HIV-IBM Gruppe, 14% der sIBM-Patient*innen und 8% der HIV-non-IBM-Gruppe beobachtet. Unter den HIV-Patient*innen wurde bei jeweils einem Vertreter ein rein neuropathisches Muster gesehen, wobei auch hier eine PNP bekannt war.

In der Muskel-MRT wurden die Parameter Atrophie, Ödem als Zeichen u.a. für Inflammation und fettige Degeneration beurteilt. Atrophie und ödematöse Veränderungen wurden in allen drei Gruppen festgestellt. Zusätzliche Zeichen einer fettigen Degeneration traten vereinzelt bei den IBM-Patient*innen auf (29% HIV-IBM, 14% sIBM), wobei uns insgesamt wenige MRT-Befunde vorlagen.

4.1.3.3 Therapie

Die Therapie erfolgte bei 42% der Patient*innen mit HIV-IBM und 86% der sIBM-Patient*innen mit intravenösen Immunglobulinen (IVIG). Darunter zeigte sich überwiegend eine Besserung bzw. Stabilisierung der Symptomatik, wobei sich dieser Effekt oft als zeitlich limitiert erwies. In der HIV-non-IBM-Gruppe wurden 33% mit Steroiden und 17% mit intravenösen Immunglobulinen behandelt. Überwiegend zeigte sich auch hier ein zeitweise positiver Effekt der Therapie. Bei Pat. 8 waren die Paresen unter Immunglobulin-Therapie weitestgehend rückläufig mit stabilem Verlauf unter fortlaufender Therapie. Eine Ausnahme bildete Pat. 16, welcher weder auf Steroide noch auf IVIG ansprach.

Tabelle 10: Klinische Daten Myositis

		HIV-IBM	sIBM	HIV-Myositis/ non-IBM	NDC
Geschlecht	♀	-	14% (n=1)	-	17% (n=1)
	♂	100% (n=7)	86% (n=6)	100% (n=12)	83% (n=5)
Alter bei Biopsie	Mittelwert (\pm SD)	53 (\pm 4,7)	70 (\pm 4,3)	43 (\pm 6)	58 (\pm 9,5)
Symptombeginn vor Biopsie	<1 Jahr	43% (n=3)	-	17% (n=2)	33% (n=2)
	>1 Jahr	43% (n=3)	43% (n=3)	25% (n=3)	-
	>5 Jahre	-	43% (n=3)	8% (n=1)	-
	Unbekannt	14% (n=1)	14% (n=1)	50% (n=6)	67% (n=4)
Erstsymptom	Myalgien	14% (n=1)	-	50% (n=6)	50% (n=3)
	Schwäche oE	-	14% (n=1)	17% (n=2)	-
	Schwäche uE	57% (n=4)	57% (n=4)	8% (n=1)	-
	Dysphagie	-	14% (n=1)	-	-
	Keine Angaben	29% (n=2)	14% (n=1)	25% (n=3)	50% (n=3)
Myalgien	Ja	29% (n=2)	29% (n=2)	58% (n=7)	83% (n=5)
	Nein	29% (n=2)	42% (n=3)	17% (n=2)	-
	Keine Angaben	42% (n=3)	29% (n=2)	25% (n=3)	17% (n=1)
Paresen Symmetrie	Symmetrisch	29% (n=2)	42% (n=3)	8% (n=1)	-
	Asymmetrisch	29% (n=2)	29% (n=2)	8% (n=1)	-
	Keine Angaben	42% (n=3)	29% (n=2)	25% (n=3)	-
Muster (OE UE)	d > p p > d	14% (n=1)	29% (n=2)	-	-
	Keine p > d	14% (n=1)	-	8% (n=1)	-
	p > d p > d	29% (n=2)	-	17% (n=2)	-
	p = d p > d	-	43% (n=3)	-	-
	p = d p = d	-	14% (n=1)	-	-
p=proximal d=distal	p > d d > p	-	-	17% (n=2)	-

Ausprägung (MRC Skala)	Mild (KG 4+)	-	13% (n=1)	33% (n=4)	-
	Moderat (KG 4-u.4)	14% (n=1)	29% (n=2)	8 % (n=1)	-
	Schwer (KG < 4-)	43% (n=3)	29% (n=2)	-	-
	Keine Angaben	43% (n=3)	29% (n=2)	17% (n=2)	50% (n=3)
	Keine	-	-	42% (n=5)	50% (n=3)
Dysphagie	Ja	14% (n=1)	29% (n=2)	8% (n=1)	-
	Nein	14% (n=1)	57% (n=4)	25% (n=3)	17% (n=1)
	Keine Angaben	72% (n=5)	14% (n=1)	67% (n=8)	83% (n=5)
Malignome (*HIV-ass.)	Ja	14% (n=1*)	29% (n=2)	17% (n=2*)	-
	Nein	43% (n=3)	57% (n=4)	42% (n=5)	33% (n=2)
	Keine Angaben	43% (n=3)	14% (n=1)	42% (n=5)	67% (n=4)
Andere Organmanifestationen	Neuropathie	29% (n=2)	14% (n=1)	42% (n=5)	-
	Haut	-	-	-	-
	Kardial	-	-	-	-
	Pulmonal	-	-	-	-
	Keine	43% (n=3)	72% (n=5)	17% (n=2)	33% (n=2)
	Keine Angaben	28% (n=2)	14% (n=1)	42% (n=5)	67% (n=4)
CK in U/l	Normal	-	-	25% (n=3)	33,33% (n=2)
	<500	14% (n=1)	14,29% (n=1)	8% (n=1)	-
	<1000	43% (n=3)	42,86% (n=3)	42% (n=5)	-
	>1000	43% (n=3)	28,57% (n=2)	-	-
	Unbekannt	-	14,29% (n=1)	25% (n=3)	66,67% (n=4)
Nachweis Auto-AK Anti-cN1A	Ja	-	29% (n=2)	8% (n=1)	-
	Nein	57,14% (n=4)	42% (n=3)	8% (n=1)	-
	Keine Angaben	42,86%(n=3)	29% (n=2)	75% (n=9)	100% (n=6)
	Andere MSA/MAA	-	-	8% (n=1)	-
EMG	Myopathisch	43% (n=3)	57% (n=4)	34% (n=4)	-
	Neuropathisch	14% (n=1)	-	8% (n=1)	-
	Gemischt	43% (n=3)	14% (n=1)	8% (n=1)	-
	Keine Angaben	-	29% (n=2)	50% (n=6)	67% (n=4)
	Unauffällig	-	-	-	33% (n=2)
MRT: zutreffende Pathologien	Keine	-	-	8% (n=1)	-
	Eine	-	43% (n=3)	-	-
	-Atrophie	29% (n=2)	14% (n=1)	8% (n=1)	-
	-Ödem	-	14% (n=1)	-	-
	-fettige Degeneration	Keine Angaben	71% (n=5)	29% (n=2)	84% (n=10)
Therapie	Steroide	-	-	33% (n=4)	-
	IVIG	42% (n=3)	86% (n=6)	17% (n=2)	-
	Keine	29% (n=2)	-	-	33% (n=2)
	Keine Angaben	29% (n=2)	14% (n=1)	50% (n=6)	67% (n=4)
Therapie ansprechen *(inkl. zeitweise)	Ja*	67% (n=2)	100% (n=6)	66% (n=4)	-
	Nein	-	-	17% (n=1)	-
	Keine Angaben	33% (n=1)	-	17% (n=1)	-

4.2 Histomorphologische Charakterisierung

4.2.1 Spektrum HIV-assoziiierter Myositiden

Von allen Patient*innen wurden konventionell histologische und immunhistochemische Färbungen angefertigt. In diesem Abschnitt wird die Gruppe der HIV-assoziierten Myositiden beschrieben. In **Abbildung 12** wird das histomorphologische Spektrum dargestellt. Im oberen Teil der Grafik sind die verschiedenen Kategorien thematisch geordnet. Beurteilt wurden dabei folgende Bereiche: Allgemeine Parameter (Kalibervarianz, Atrophie und Binde-/Fettgewebsumbau), mitochondriale Veränderungen (anhand der SDH, COX/SDH Färbung und dem Vorliegen von „ragged-red“-Fasern in der Gömori Trichrom Färbung),

Proteinaggregation (anhand des Nachweises geränderter Vakuolen, kongophiler Einschlüsse und Anfärbung mit LCO), Autophagie (mit Färbung von p62), Gewebsuntergang (Beurteilung von Nekrosen und Myophagozytosen mit Färbung der unspezifischen Esterase), Regeneration (Färbung von CD56 und MHC neonatal), Gefäßpathologien (Kapilläre Erweiterung und Kapillarverlust anhand der MHC cl.-II Färbung), Humorale Immunantwort (Komplement auf den Fasern und Kapillaren mit Färbung von C5b-9), MHC cl.-I und MHC cl.-II Färbereaktion auf dem Sarkolemm und die zelluläre Immunantwort (Makrophagen mit Färbung von CD68 und Lymphozyten mit Färbung von CD20, CD45, CD8, CD4). Im oberen Teil der Grafik ist die Einteilung anhand eines semiquantitativen Scores mit drei Schweregraden dargestellt. Im unteren Teil wird die Summe aller Merkmale mit einem Wert als overall severity score (OSS) zusammengefasst.

Es war eine deutliche Abgrenzung der HIV-IBM-Patient*innen von den Übrigen erkennbar. Dies zeigte sich durch eine insgesamt schwerere Muskelschädigung mit Werten von 6-9 im OSS. Zusätzlich waren bei allen Patient*innen dieser Gruppe die IBM-typischen Merkmale wie Proteinaggregationen, autophagische Vakuolen, mitochondriale Schädigung, ubiquitäre sarkolemmale MHC cl.-I und cl.-II Hochregulation, Infiltrate mit CD8>CD4 T-Zellen und Makrophagen nachweisbar.

Die HIV-non-IBM-Gruppe ließ sich anhand der histomorphologischen Merkmale in weitere Subgruppen unterteilen: IMNM-like (Immun-vermittelte nekrotisierende Myositis), MEM/MMP (milde endomysiale Myositis mit milder mitochondrialer Pathologie), PM-Mito, MEM/VI,KP (milde endomysiale Myositis mit vaskulärer Inflammation bzw. kapillärer Pathologie, ohne mitochondriale Beteiligung).

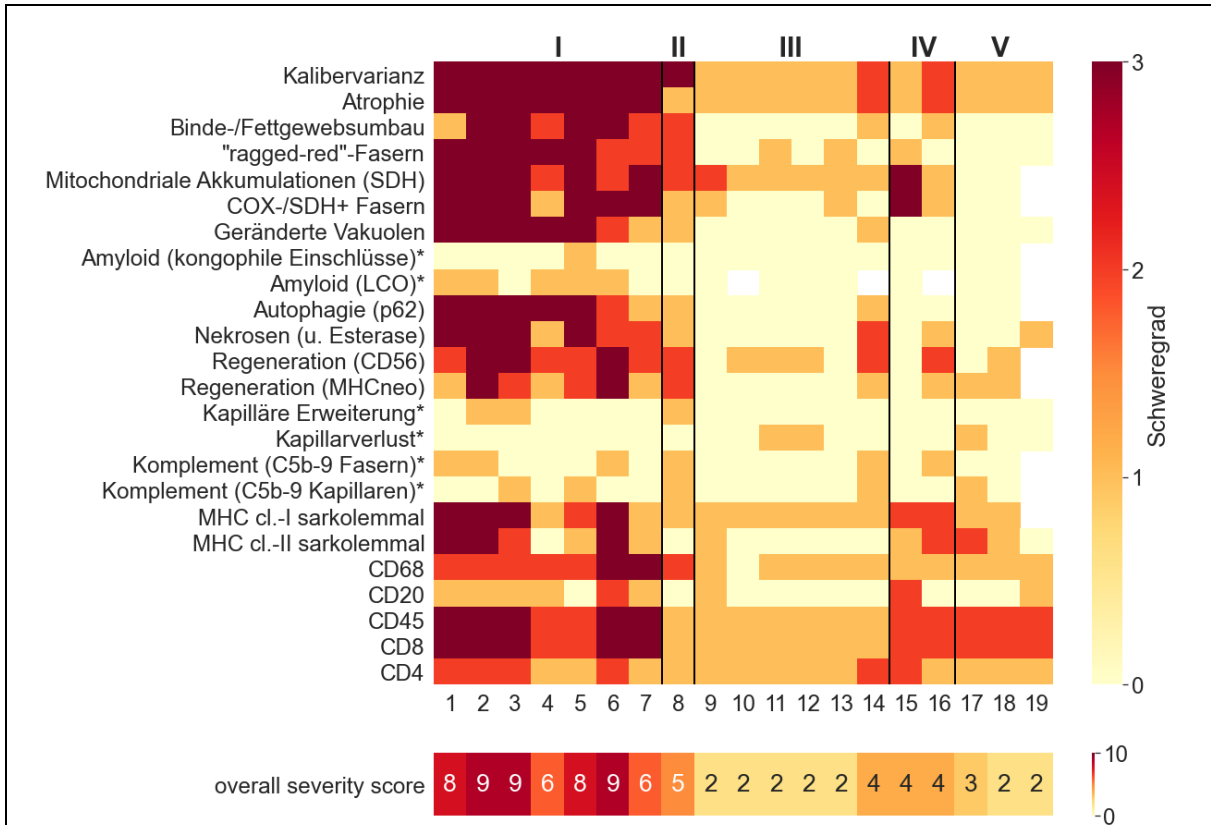
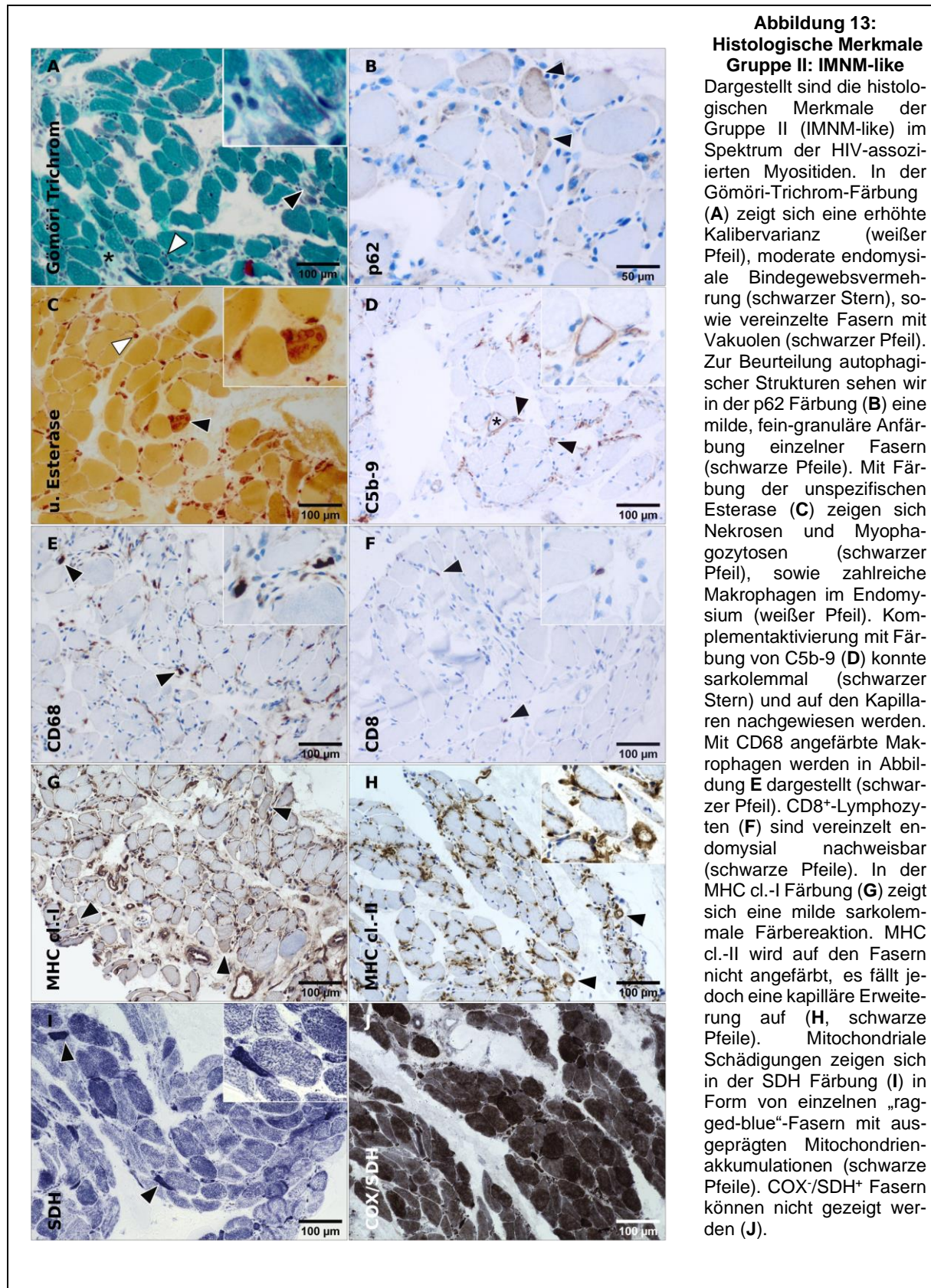


Abbildung 12: Histomorphologisches Spektrum HIV-assoziiertes Myositis

Dargestellt sind die histologischen Merkmale der Muskelbiopsien der HIV-Patient*innen. Anhand dieser Merkmale wird in fünf Gruppen unterteilt. I: HIV-IBM, II: IMNM-like, III: MEM/MP, IV: PM-Mito, V: MEM/VI,KP. Im oberen Teil wurden für die Ausprägung der histologischen Merkmale jeweils 0-3 Punkte vergeben. Beurteilt wurden allgemeine Parameter wie Kalibervarianz, Atrophie und Binde-/Fettgewebsumbau anhand der Gömöri-Trichrom-Färbung und der EVG-Färbung. Weiterhin wurden mitochondriale Veränderungen mithilfe von der Färbung mit SDH bzw. COX/SDH bewertet. Die für die IBM typischen Proteinaggregationen wurden anhand von geränderten Vakuolen, dem Vorhandensein von kongophilen Einschlüssen und mit der LCO-Immunfluoreszenzfärbung dargestellten Amyloidablagerungen klassifiziert. Autophagie-Prozesse wurden mit der Färbung p62 beurteilt, Nekrosen anhand der unspezifischen Esterase und Regeneration mithilfe von CD56 und MHC neonatal. Bezüglich Gefäßpathologien wurden kapilläre Erweiterungen oder Kapillarverlust bewertet. Die humorale Immunantwort wird mit der Färbung von Komplement (C5b-9) auf den Fasern und Kapillaren beurteilt. Weiterhin werden die sarkolemmale MHC cl.-I und MHC cl.-II Färbereaktion, sowie Makrophagen (CD68), Lymphozyten (CD45) mit Unterteilung in B-Lymphozyten (CD20) und T-Lymphozyten (CD8, CD4) mit dem semi-quantitativen Score klassifiziert. Anzumerken ist, dass hier bei der Färbung von CD4 anhand der Morphologie lediglich CD4⁺-T-Lymphozyten eingeschlossen wurden (siehe Abb. 10). Bei den mit Stern gekennzeichneten Merkmalen wurde lediglich in vorhanden (entspricht Grad 1) oder nicht vorhanden (entspricht Grad 0) eingeteilt. Für Pat. 19 lag uns in Paraffin eingebettetes Gewebe vor, womit nicht alle Färbungen durchgeführt werden konnten. Im unteren Teil sind alle Merkmale jeweils in einem overall severity score zusammengefasst, welcher die Summe aller Punkte auf einer Skala von 0-10 einordnet.

4.2.1.1 IMNM-like

Ein Patient wurde als IMNM-like eingeordnet. In der Übersichtsaufnahme der Gömöri-Trichrom-Färbung zeigte sich eine erhöhte Kalibervarianz und eine moderate endomysiale Bindegewebsvermehrung. Außerdem waren vereinzelt Fasern mit kleinen Vakuolen nachweisbar, welche jedoch keine Ränderung aufwiesen. Weiterhin war die Biopsie charakterisiert durch Nekrosen und Regenerate sowie einer moderaten mitochondrialen Schädigung mit einzelnen „ragged-blue“ Fasern. Infiltrate zeigten sich prädominant mit Makrophagen und nur vereinzelt mit Lymphozyten. Des Weiteren war eine milde sarkolemmale Färbereaktion mit MHC cl.-I nachweisbar, welche bei der Färbung mit MHC cl.-II ausfiel. Komplementaktivierung fand sich sowohl auf dem Sarkolemm der Fasern als auch auf den Kapillaren. Ebenfalls fiel eine kapilläre Erweiterung auf. Autophagische Strukturen waren mit Anfärbung von p62 nicht wie bei dem für die IBM typischem Muster in den Vakuolen konzentriert, sondern zeigten sich fein granulär auf einzelnen Fasern. Histomorphologisch waren diese Merkmale am ehesten mit einer IMNM vereinbar. Die histologischen Bilder werden in **Abbildung 13** dargestellt. Klinisch ist zu ergänzen, dass der Patient über den gesamten bisherigen Verlauf eine normwertige CK aufwies und zusätzlich keine Anti-SRP- und Anti-HMGC_oA-Antikörper nachweisbar waren. Insgesamt konnte die Diagnose einer IMNM aufgrund des klinischen Befundes nicht gestellt werden.



4.2.1.2 Milde Myositis mit milder mitochondrialer Pathologie

Die Skelettmuskelbiopsate von sechs Patient*innen (Pat. 9-14) sind zu einer Gruppe mit milder endomysialer Myositis und milder mitochondrialer Pathologie zusammengefasst (MEM/MMP). Histologische Bilder von Vertreter*innen dieser Gruppe werden in **Abbildung 14** dargestellt. Die Biopsate zeigten vereinzelt endomysiale lymphozytäre Infiltrate und Makrophagen mit einem Schweregrad von 1. Zusätzlich fiel eine milde sarkolemmale MHC cl.-I und cl. II Hochregulation auf. Die mitochondriale Schädigung zeigte sich mit subsarkolemmalen mitochondrialen Akkumulationen und vereinzelt COX⁻/SDH⁺ Fasern. Eine Färbereaktion autophagischer Strukturen mit p62 oder LC3 war nicht nachweisbar. Bei Pat. 14 war zusätzlich ein chronisch neurogener Prozess zu beobachten, welcher mit erhöhter Kalibervarianz, Nekrosen und Regeneraten auffiel. Die zusätzliche mitochondriale Schädigung und milde Inflammation war jedoch nicht durch den chronisch neurogenen Prozess zu erklären, weshalb dieser Patient auch in die Gruppe MEM/MMP eingeordnet wurde. Klinisch ist hier als mögliche Ursache für den chronisch neurogenen Prozess eine periphere Polyneuropathie zu ergänzen. Die Biopsie wurde aus dem M. gastrocnemius entnommen.

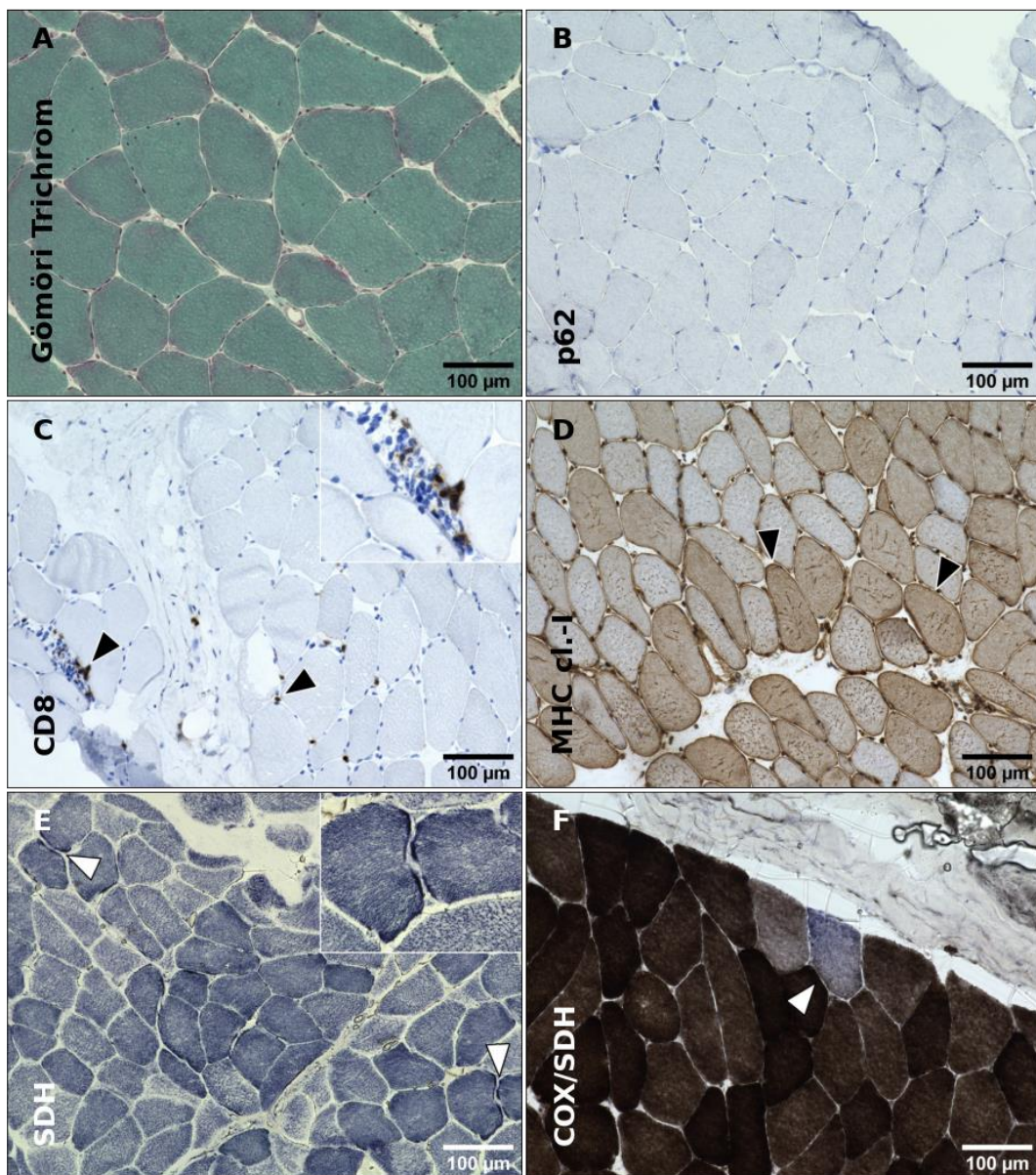


Abbildung 14: Histologische Merkmale Gruppe III: MEM/MMP

Gezeigt werden die histologischen Merkmale von HIV-Patient*innen mit milder endomysialer Myositis und milder mitochondrialer Pathologie. In der Gömöri-Trichrom-Färbung (A) zeigt sich eine milde Kalibervariation. Die p62 Färbung (B) stellt sich unauffällig dar. CD8⁺-Lymphozyten (C) werden vereinzelt im Endomyrium nachgewiesen (schwarze Pfeile). MHC cl.-I (D) zeigt eine milde sarkolemmale Hochregulation (schwarze Pfeile). Milde mitochondriale Veränderungen sehen wir in Abbildung E in Form von subsarkolemmalen Akkumulationen als sog. „Prä-ragged-blue“-Fasern (weiße Pfeile). In der Doppelfärbung (F) können vereinzelt COX/SDH⁺ Fasern nachgewiesen werden (weißer Pfeil).

4.2.1.3 PM-Mito

Zwei Muskelbiopsate (Pat. 15, 16) zeigten das Bild einer PM-Mito mit lymphozytären Infiltraten im Endomysium, einer sarkolemalem MHC cl.-I und cl. II Färbereaktion und mitochondrialer Schädigung in Form einer vermehrten Anzahl COX⁻/SDH⁺ Fasern. Bei Pat. 15 lag der Fokus dabei auf der mitochondrialen Schädigung, welche hier mit Grad 3 stark ausgeprägt war, wobei chronisch myopathische Veränderungen wie endomysiale Bindegewebsvermehrung und Faseratrophie lediglich mild ausgeprägt waren. Bei Pat. 16 stand die inflammatorische Komponente mit zahlreichen CD8⁺-T-Zellen im Vordergrund. Zusätzlich zeigte sich eine stärker ausgeprägte Kalibervarianz und endomysiale Fibrose. Als Abgrenzung zur IBM waren bei beiden Patient*innen keine Proteinaggregate in Form von geränderten Vakuolen oder kongophilen Einschlüssen nachweisbar. Zusätzlich blieb eine Färbereaktion mit den Autophagiemarkern p62 und LC3 aus. Bilder der histopathologischen Merkmale dieser Gruppe werden in **Abbildung 15** dargestellt.

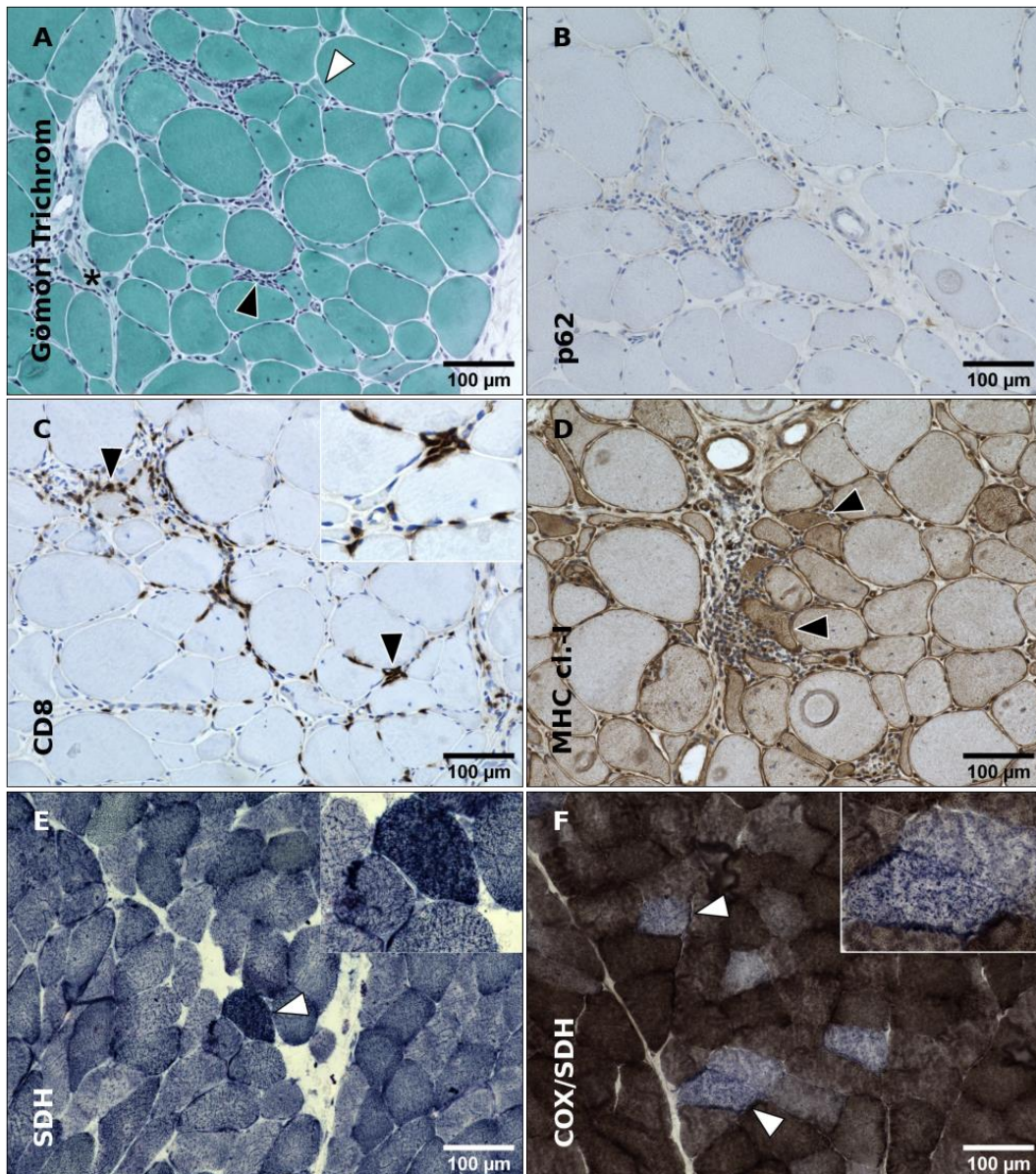


Abbildung 15: Histologische Merkmale Gruppe IV: PM-Mito

HIV-Patient*innen mit dem histologischen Bild einer PM-Mito werden in dieser Abbildung dargestellt. In der Gömöri-Trichrom-Färbung (A) zeigt sich eine erhöhte Kalibervarianz (weißer Pfeil), endomysiale Bindegewebsvermehrung (schwarzer Stern), sowie endomysiale Infiltrate (schwarzer Pfeil). Die Färbung mit p62 (B) zeigt sich unauffällig. In Abbildung C werden endomysiale Infiltrate mit zahlreichen CD8⁺-Lymphozyten dargestellt, welche nicht-nekrotische Muskelfasern umstellen und diese teils auch invadieren (schwarze Pfeile). MHC cl.-I (D) ist in diffuser Verteilung sarkolemmal hochreguliert (schwarze Pfeile). Mitochondriale Schädigungen zeigen sich mit sog. „ragged-blue“-Fasern (E, weiße Pfeile) und zahlreichen COX/SDH⁺ Fasern (F, weiße Pfeile).

4.2.1.4 Milde Myositis mit vaskulärer Inflammation/kapillärer Pathologie

Bei der letzten Gruppe MEM/VI,KP (Pat. 17-19) lag der Fokus auf der Inflammation mit milden endomysialen Infiltraten. Es gab im Vergleich zu den anderen Gruppen jedoch keine Hinweise für eine mitochondriale Schädigung. Zusätzlich fielen verschiedene Gefäßpathologien auf. Pat. 17 zeigte eine kapilläre Pathologie mit Kapillarverlust und Komplementablagerungen auf den Kapillaren. Weiterhin fiel eine sarkolemmale MHC cl.-II Färbereaktion mit teilweise perifaszikulärer Betonung in Gefäßregionen auf. Bei Pat. 18 war eine ausgeprägte multifokale vaskuläre Inflammation zu beobachten. Zusätzlich waren endomysial vereinzelt Lymphozyten nachweisbar. Auch hier fiel eine Färbereaktion mit MHC cl.-II in der Nähe von Gefäßen auf.

Bei Pat. 19 war das Gewebe in Paraffin eingebettet, weswegen nicht alle Färbungen möglich waren. Hier zeigten sich vor allem lymphozytäre Infiltrate, welche endomysial mit teilweise perivaskulärer Betonung lokalisiert waren. Eine COX/SDH Färbung konnte nicht durchgeführt werden. In den anderen Färbungen gab es jedoch keinen Hinweis auf eine mitochondriale Pathologie, weswegen wir diesen Patienten auch in die Gruppe MEM/VI,KP eingeordnet haben. Die histologischen Merkmale der Gruppe werden anhand von Bildern in **Abbildung 16** dargestellt.

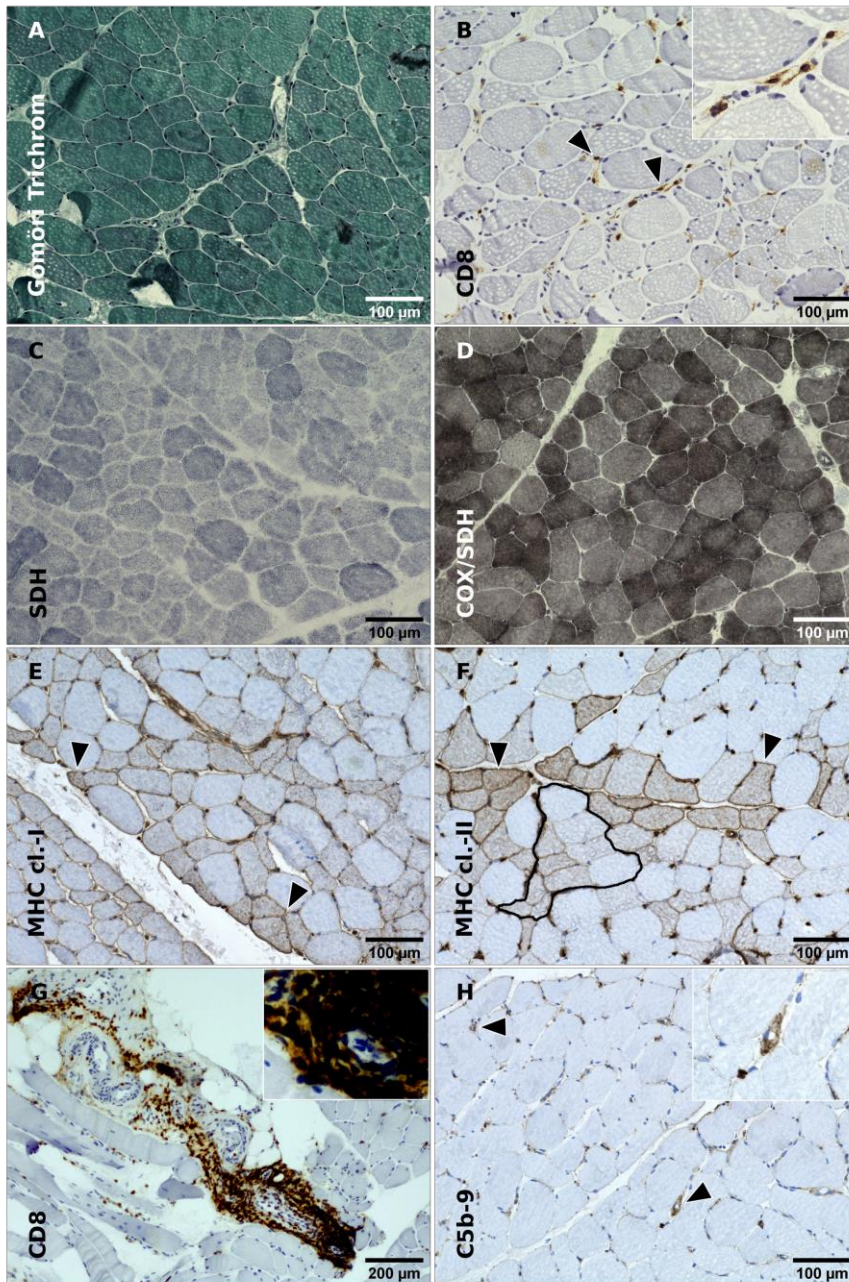


Abbildung 16:
Histologische Merkmale
Gruppe V: MEM/VI, KP

Dargestellt werden die histologischen Merkmale der Gruppe V HIV-assoziierter Myositiden mit milder endomysialer Myositis und vaskulärer Inflammation oder kapillärer Pathologie. Es zeigt sich eine milde Kalibervarianz (A). CD8⁺-Lymphozyten sind vereinzelt endomysial zu finden (B, schwarze Pfeile). Mitochondriale Schädigungen sind bei allen Patient*innen dieser Gruppe nicht nachweisbar (C, D). Es zeigt sich eine milde Anfärbung sowohl von MHC cl.-I als auch von MHC cl.-II auf dem Sarkolemm (E, F, schwarze Pfeile), wobei sich die MHC cl.-II positiven Fasern teilweise perifaszikulär konzentrieren. Zusätzlich wird in Abbildung F ein Kapillarverlust in einem flächigen Areal dargestellt (schwarze Umrandung). Ein Patient zeigt eine ausgeprägte vaskuläre Inflammation mit überwiegend CD8⁺-Lymphozyten (G). Bei einem anderen Patienten ist eine kapilläre Pathologie in Form von Komplementaktivierung auf den Kapillaren zu beobachten (H, schwarze Pfeile).

4.2.2 Histomorphologischer Vergleich HIV-IBM und sIBM

Für den histomorphologischen Vergleich der HIV-IBM-Patient*innen mit denen der sporadischen Form werden zunächst alle Merkmale in einer Heatmap in **Abbildung 17** im Überblick dargestellt. Insgesamt zeigte sich ein sehr ähnliches Bild. Der overall severity score lag in beiden Gruppen im Mittel bei 8 von 10. Die einzelnen Merkmale werden im Folgenden nun genauer erläutert.

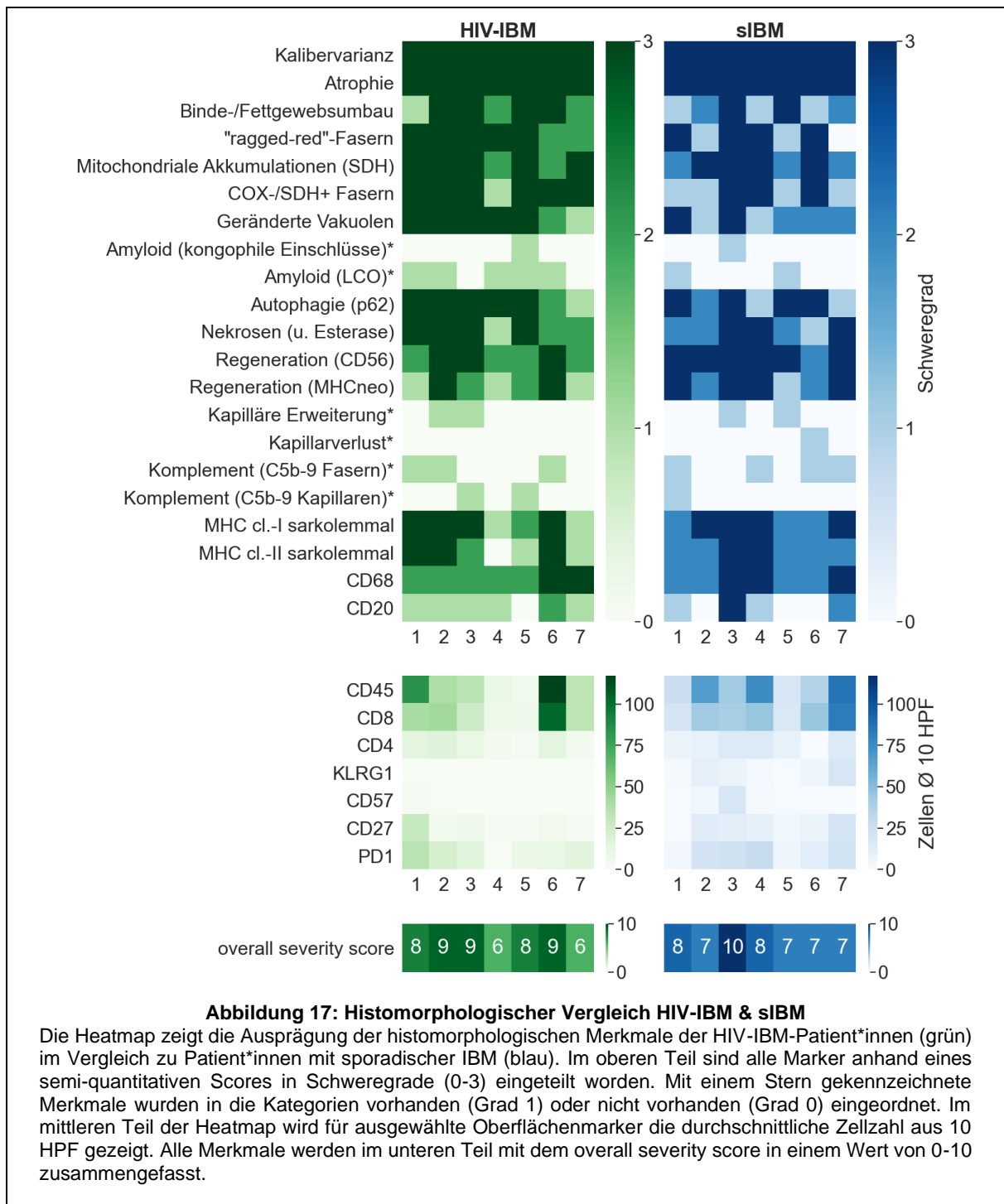
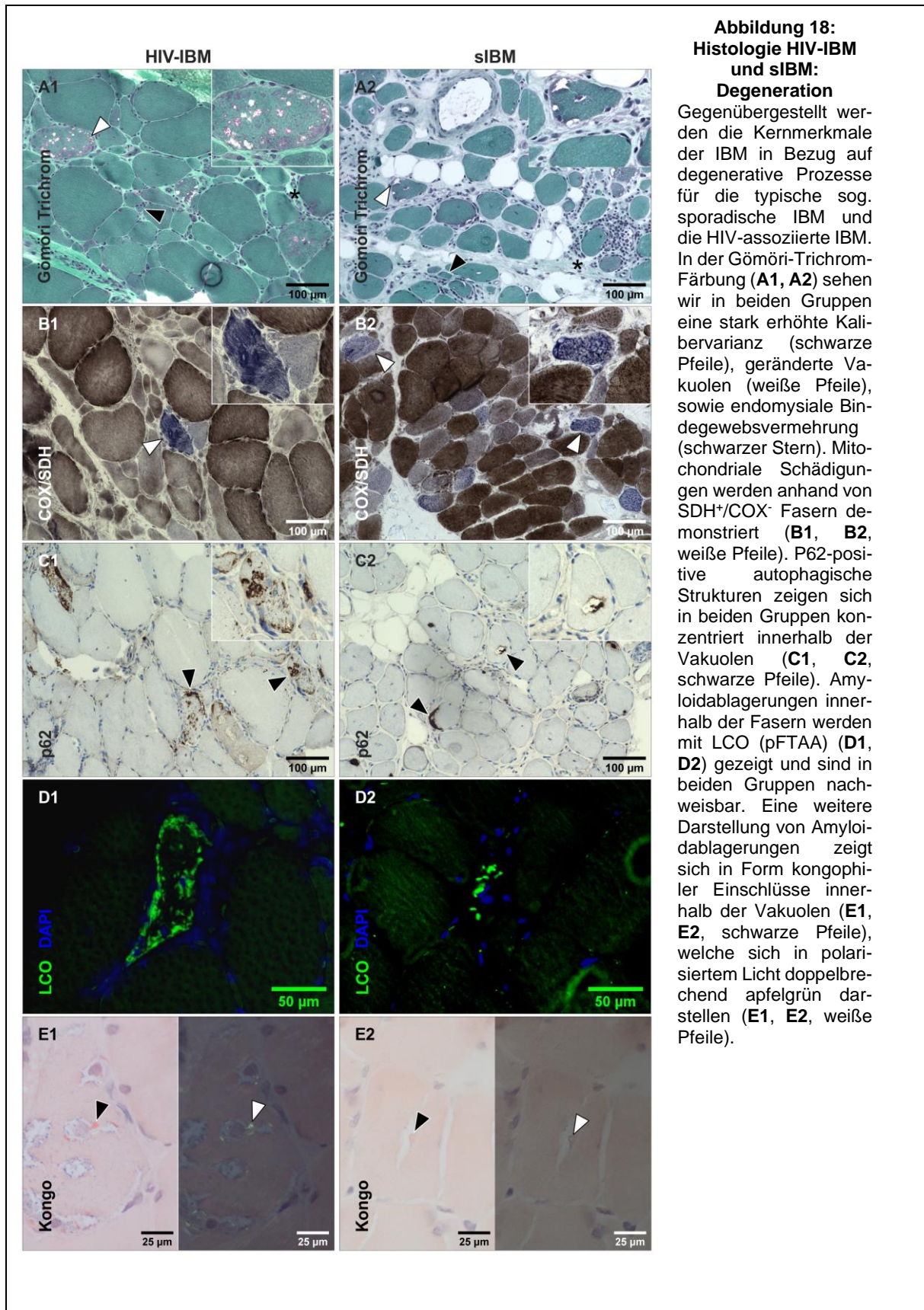


Abbildung 17: Histomorphologischer Vergleich HIV-IBM & sIBM

Die Heatmap zeigt die Ausprägung der histomorphologischen Merkmale der HIV-IBM-Patient*innen (grün) im Vergleich zu Patient*innen mit sporadischer IBM (blau). Im oberen Teil sind alle Marker anhand eines semi-quantitativen Scores in Schweregrade (0-3) eingeteilt worden. Mit einem Stern gekennzeichnete Merkmale wurden in die Kategorien vorhanden (Grad 1) oder nicht vorhanden (Grad 0) eingeordnet. Im mittleren Teil der Heatmap wird für ausgewählte Oberflächenmarker die durchschnittliche Zellzahl aus 10 HPF gezeigt. Alle Merkmale werden im unteren Teil mit dem overall severity score in einem Wert von 0-10 zusammengefasst.

In der Übersichtsaufnahme wiesen alle Patient*innen eine starke Kalibervarianz mit dem Schweregrad 3 auf. Eine endomysiale Bindegewebsvermehrung mit teils fettiger Degeneration zeigte sich mit unterschiedlicher Intensität von Grad 1-3. Mitochondriale Schädigungen wurden anhand von sog. „ragged red/blue“-Fasern oder COX-/SDH⁺ Fasern in beiden Gruppen nachgewiesen, wobei diese in der HIV-IBM-Gruppe schwerer ausfielen. Nekrotische Fasern und Myophagozytosen fanden sich in beiden Gruppen mit überwiegend moderater bis schwerer Ausprägung. Ebenfalls wurden regenerative Fasern mit Anfärbung von CD56 und MHC neonatal nachgewiesen, wobei hier die Ausprägung bei den sIBM-Patient*innen stärker war.

Abbildung 18 zeigt histologische Bilder der degenerativen Veränderungen beider Gruppen. Es wurden verschiedene Färbungen genutzt, um die typischen Proteinablagerungen in Form von sog. Einschlusskörperchen darzustellen. In der Gömöri-Trichrom-Färbung sieht man die rötlich angefärbte Ränderung der Vakuolen, welchen bei allen Patient*innen der beiden Gruppen zu finden waren. Pathologische Amyloidablagerungen wurden mit der Kongorotfärbung als sog. kongophile Einschlüsse bei lediglich jeweils einem*r Vertreter*in beider Gruppen nachgewiesen. Der LCO pFTAA als Amyloid-Marker zeigte bei 5/7 der HIV-IBM Patient*innen und bei 2/7 der sIBM Patient*innen eine positive Färbereaktion. P62-positive autophagische Strukturen waren bei allen Patient*innen beider Gruppen überwiegend konzentriert innerhalb der Vakuolen nachweisbar.



Die inflammatorischen Merkmale werden in **Abbildung 19** gezeigt. Eine Färbereaktion mit MHC cl.-I war mit diffuser Verteilung und überwiegend starker Intensität auf dem Sarkolemm bei allen Patient*innen beider Gruppen nachweisbar. Eine sarkolemmale Färbereaktion mit MHC cl.-II zeigte sich mit Ausnahme eines Patienten der HIV-IBM Gruppe ebenfalls durchgängig mit diffusem Verteilungsmuster. Komplementaktivierung mit sarkolemmaler Anfärbung von C5b-9 wurde bei circa der Hälfte der Patient*innen beider Gruppen nachgewiesen. Auch kapilläre Pathologien in Form von kapillärer Erweiterung oder Kapillarverlust wurden vereinzelt beobachtet. Das Ausmaß der zellulären Infiltrate wies jeweils eine große Streuung mit 6-117 CD45⁺-Zellen pro HPF in der HIV-IBM-Gruppe und 19-86 CD45⁺-Zellen pro HPF in der sIBM-Gruppe auf. Bei der weiteren Unterteilung der T-Lymphozyten in CD8⁺-zytotoxische T-Zellen und CD4⁺-T-Helfer-Zellen konnten wir in beiden Gruppen einen signifikant höheren Anteil an CD8⁺-Zellen nachweisen (**Abbildung 19, D1/D2**). In der HIV-IBM-Gruppe betrug die Anzahl dieser im Median 34 Zellen pro HPF ($R=97$) und die Anzahl der CD4⁺-T-Zellen 12 Zellen pro HPF ($R=15$). In der sIBM-Gruppe wurden im Median 43 CD8⁺-T-Zellen pro HPF ($R=65$) nachgewiesen und 10 CD4⁺-T-Zellen ($R=16$). Da CD4 ein Marker ist, welcher ebenfalls auf Makrophagen exprimiert wird, ist an dieser Stelle ergänzend zu sagen, dass wir bei der Zählung der Zellen zusätzlich morphologische Kriterien z.B. die Zellkerngröße im Vergleich zum Zytoplasma herangezogen haben, um hier nur CD4⁺-Zellen mit morphologischem Erscheinungsbild lymphozytärer Zellen zu berücksichtigen (Siehe **Abb. 10**). Makrophagen wurden mit CD68 gefärbt und sind in beiden Gruppen mit mittlerer bis hoher Dichte nachweisbar.

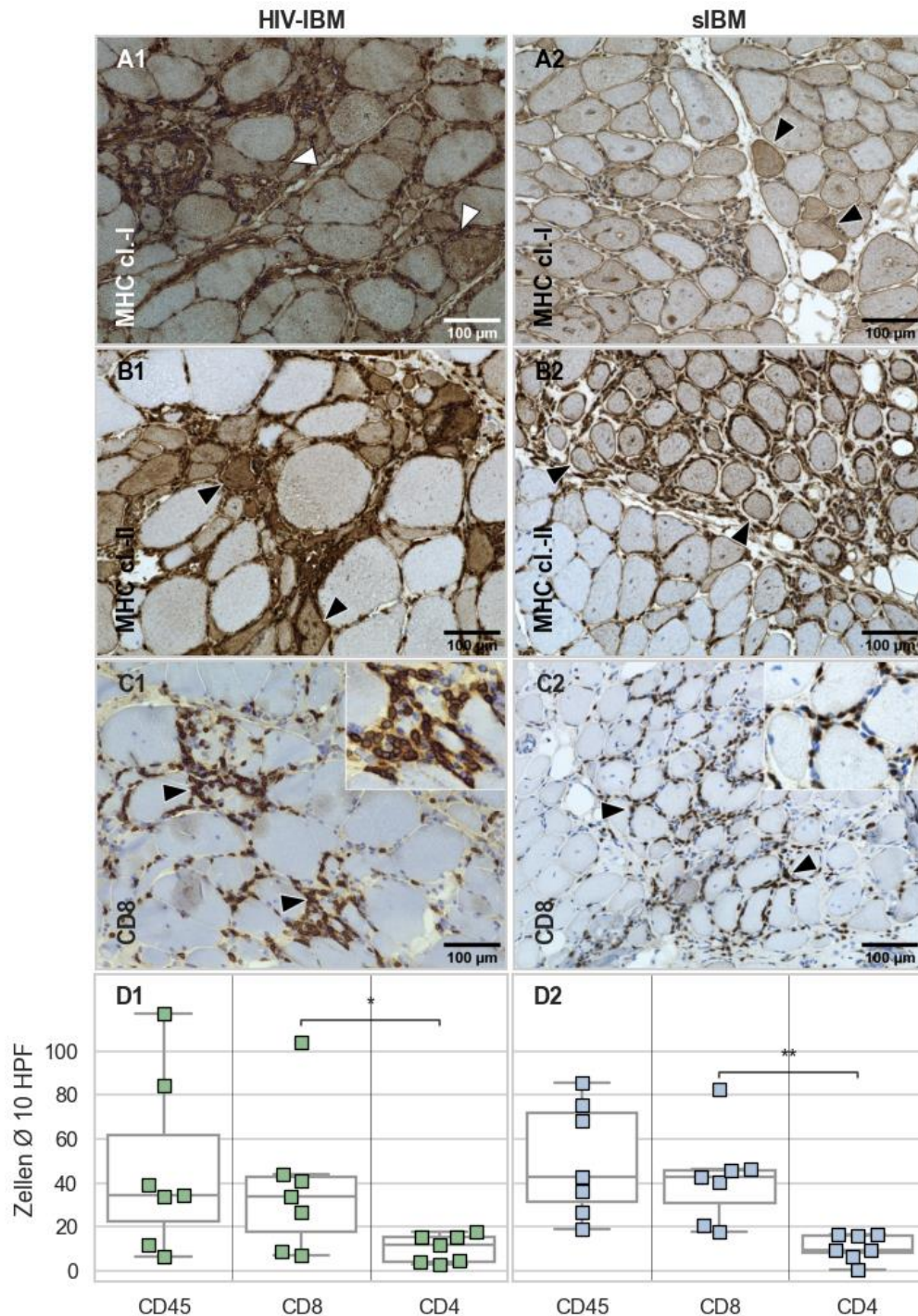


Abbildung 19: Histologie HIV-IBM und sIBM: Inflammation

Mit immunhistochemischen Färbungen werden inflammatorische Merkmale der IBM gegenübergestellt. Wir sehen eine diffus verteilte sarkolemmale Färbereaktion mit MHC cl.-I in der HIV-IBM-Gruppe (A1, weiße Pfeile), ebenso wie in der sIBM-Gruppe (A2, schwarze Pfeile). Auch eine verstärkte Färbereaktion von MHC cl.-II mit diffuser Verteilung zeigt sich auf dem Sarkolemm der Fasern in beiden Gruppen (B1, B2, schwarze Pfeile). Dichte endomysiale Infiltrate sind in beiden Gruppen nachweisbar (C1, C2), welche von CD8⁺-Lymphozyten dominiert sind (schwarze Pfeile). Dies wird im unteren Teil anhand einer quantitativen Auswertung aller in der Muskelbiopsie nachgewiesenen Lymphozyten mit Differenzierung in Subpopulationen von CD8⁺-zytotoxischen T-Zellen und CD4⁺-T-Helferzellen verdeutlicht. Dargestellt ist hier die jeweilige durchschnittliche Zellzahl aus 10 HPF in einem Boxplot mit Einzelwertdarstellung und Whiskern der Länge 1,5xIQR. Für die statistischen Berechnungen wurde, mittels scipy.stats in Python 3, der Mann-Whitney Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf 0.05 (*), 0.01 (**) festgesetzt.

4.3 Zytotoxische T-Zellen bei HIV-IBM und sIBM

Der zweite Teil dieser Arbeit stellt nun die weitere Charakterisierung der für die IBM typischen endomysial gelegenen und charakteristischerweise Muskelfaser umgebenden Infiltrate aus CD8⁺-T-Zellen dar. Diese erfolgte sowohl auf Proteinebene anhand von immunhistochemischen Färbungen verschiedener Oberflächenmarker (funktionelle Analyse der Aktivierungsmarker) als auch auf Genexpressionsebene mit Hilfe einer quantitativen PCR.

4.3.1 Einteilung in Differenzierungsstadien

4.3.1.1 Proteinebene

Zytotoxische T-Zellen können in verschiedene Differenzierungsstadien mit jeweils unterschiedlichen Eigenschaften eingeteilt werden. Naive bis gering-differenzierte T-Zellen sind durch folgendes Expressionsmuster charakterisiert: CD27⁺/KLRG1⁻/CD57⁻. Mit weiterer Differenzierung bis in terminale Stadien kommt es dann zum Verlust des Oberflächenmarkers CD27 und Expression von KLRG1 und CD57 (125).

Die Ergebnisse der immunhistochemischen Färbungen sind mit der Angabe der durchschnittlichen Zellzahl aus zehn HPF in **Abbildung 20** dargestellt. Wir konnten im Median fünf CD27⁺-Zellen pro HPF ($R=28$) in der HIV-IBM-Gruppe und acht CD27⁺-Zellen pro HPF ($R=20$) bei den sIBM-Patient*innen detektieren. Bei KLRG1 waren im Median keine positiven Zellen ($R=1$) in der HIV-IBM-Gruppe und sechs positive Zellen pro HPF ($R=18$) in der sIBM-Gruppe nachweisbar, was im Rangsummenvergleich einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen ergab ($p < 0,01$). Bei CD57 wurden in der HIV-IBM-Gruppe ebenfalls keine Zellen pro HPF im Median ($R=2$) und bei den sIBM-Patient*innen eine Zelle pro HPF ($R=19$) detektiert. Da es sich hierbei bei dem Patienten mit 19 Zellen pro HPF um einen Ausreißer handelt, wird im Rangsummenvergleich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen erreicht. Am Beispiel von Pat. 6 der HIV-IBM-Gruppe ist festzustellen, dass auch bei einer hohen Anzahl an CD8⁺-Zellen, wenig bis keine KLRG1⁺- oder CD57⁺-Zellen nachgewiesen werden konnten. In der sIBM Gruppe zeigte sich bei Pat. 7 mit einer ebenfalls hohen Anzahl an CD8⁺-Zellen zusätzlich jedoch ein hoher Anteil an KLRG1⁺-Zellen mit durchschnittlich 19 Zellen pro HPF. Bei dem Ausreißer mit vielen CD57⁺-Zellen handelt es sich jedoch um einen anderen Patienten (sIBM 3) mit durchschnittlich 19 CD57⁺-Zellen pro HPF.

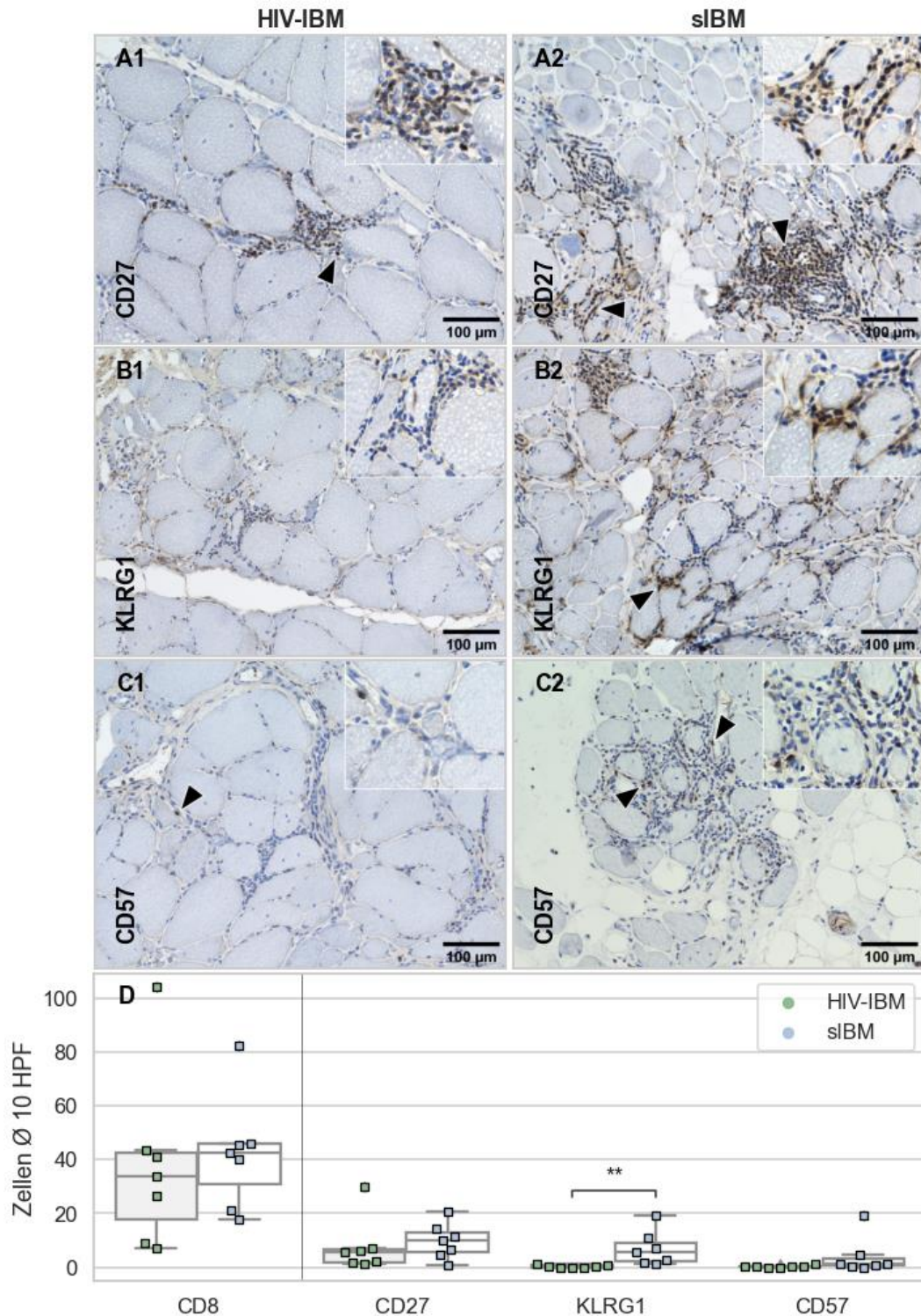


Abbildung 20: Differenzierungsmarker

Dargestellt sind Oberflächenmarker, welche mit verschiedenen T-Zell-Differenzierungsstadien assoziiert sind. Verglichen werden die Marker CD27, KLRG1 und CD57 bei Patient*innen mit HIV-assoziiertes IBM (linke Spalte) und der sporadischen Form (rechte Spalte). Im oberen Teil werden Bilder immunohistochemischer Färbungen von Vertreter*innen der jeweiligen Gruppe (A1-2, B1-2, C1-2) mit entsprechender Markierung angefarbter Zellen (schwarze Pfeile) gezeigt. Im unteren Teil wird eine quantitative Auswertung der angefarbten Zellen (D) veranschaulicht (HIV-IBM: grün; sIBM: blau). Dargestellt ist hier die jeweilige durchschnittliche Zellzahl aus zehn HPF in einem Boxplot mit Einzelwertdarstellung und Whiskern der Länge 1,5xIQR. Für die statistischen Berechnungen wurde, mittels scipy.stats in Python 3, der Mann-Whitney Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf 0.01 (**) festgesetzt.

Für die genauere Zuordnung der Differenzierungsmarker zu einer Zellpopulation wurden Doppelimmunfluoreszenzfärbungen angefertigt (**Abbildung 21**). Dafür wurde die Färbung von CD8 bzw. CD3 jeweils mit CD27, KLRG1 und CD57 auf einem Gewebeschnitt kombiniert. Die Bindungen der primären Antikörper wurden mit einem Fluorochrom-gekoppelten sekundären Antikörper farblich markiert, sodass CD8⁺- bzw. CD3⁺-Zellen in Grün (AF488) erscheinen und CD27⁺-, KLRG1⁺- bzw. CD57⁺-Zellen in Rot (Cy3). Exprimiert eine Zelle beide Oberflächenmarker erscheint sie in Gelb. Bei der Doppelfärbung mit CD8 und CD27 sahen wir in beiden Gruppen sowohl CD8⁺/CD27⁺ Zellen, als auch Zellen welche nur CD8 oder CD27 exprimierten. Die Kombination der Marker CD8 und KLRG1 ergab ein unterschiedliches Bild zwischen beiden Gruppen. Bei den sIBM-Patient*innen wurden einige CD8⁺/KLRG1⁺ Zellen nachgewiesen. In der HIV-IBM-Gruppe konnten jedoch keine doppelt positiven Zellen detektiert werden. CD3 und CD57 wurden bei den sIBM-Patient*innen vereinzelt doppelt exprimiert. Bei der HIV-IBM-Gruppe war dies nicht der Fall. Insgesamt wurden hier die Beobachtungen aus den Einzelfärbungen bekräftigt: Bei den Patient*innen mit sporadischer IBM exprimierte ein Teil der CD8⁺-T-Zellen ebenfalls KLRG1 und vereinzelt auch CD57. Bei der HIV-assoziierten Form konnten diese Zellen nicht nachgewiesen werden.

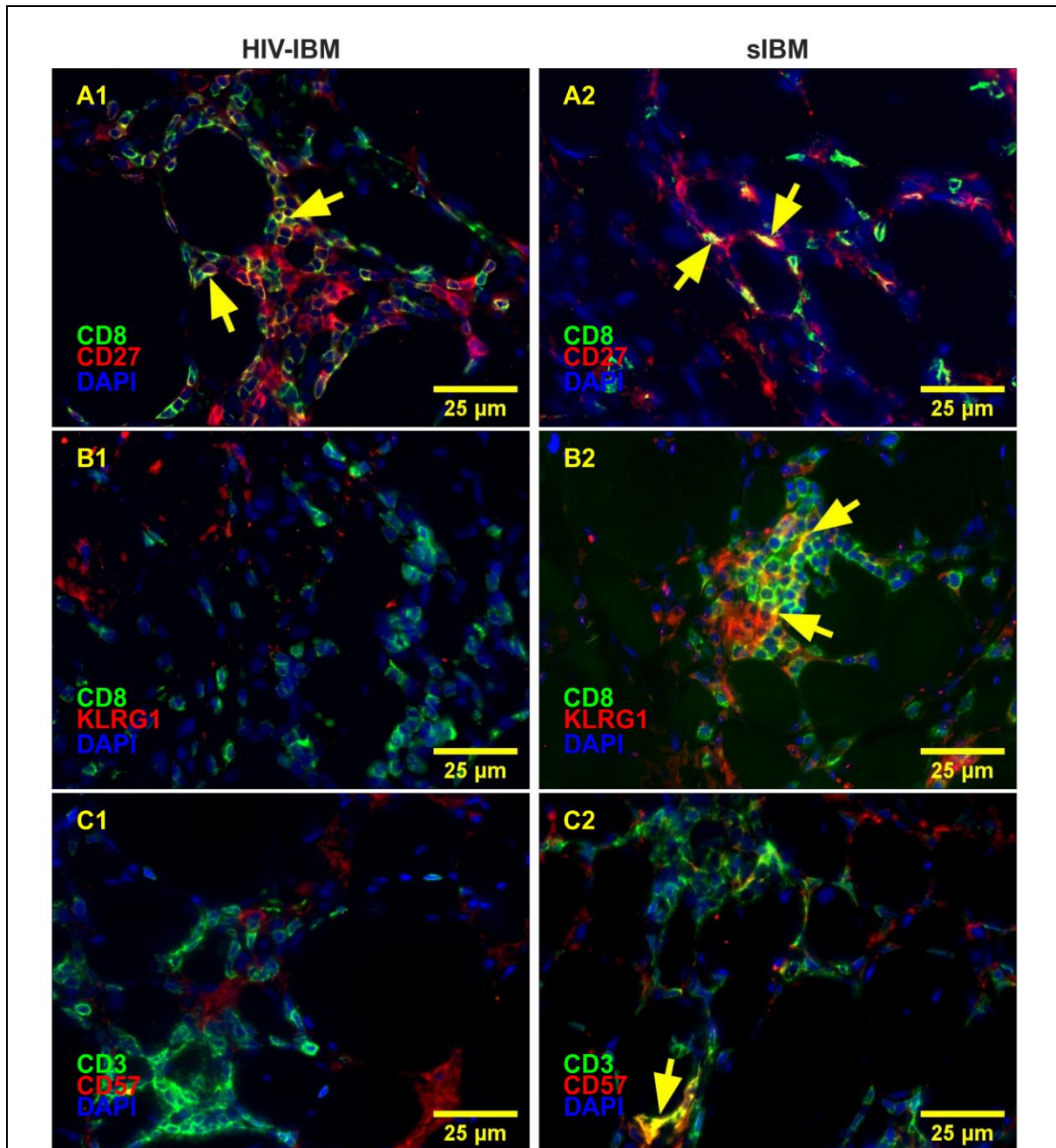
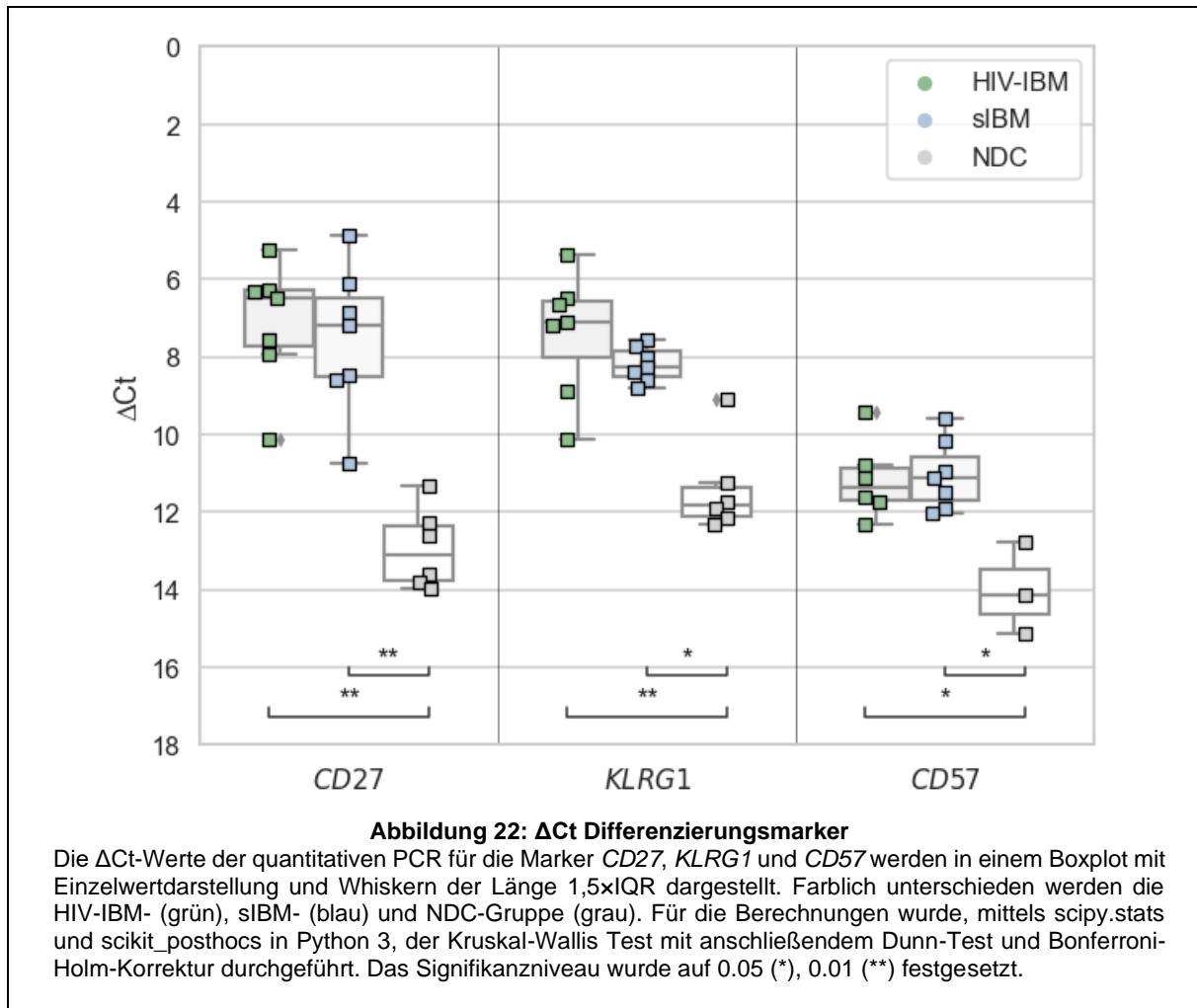


Abbildung 21: Immunfluoreszenzdoppelfärbungen Differenzierungsmarker

Gezeigt werden Bilder von Immunfluoreszenzdoppelfärbungen von T-Lymphozyten (markiert durch die Oberflächenmarker CD8 bzw. CD3 in Grün) und Oberflächenproteinen, welche mit unterschiedlichen Differenzierungsstadien assoziiert sind (CD27, KLRG1, CD57 in Rot). Zellkerne sind durch DAPI in Blau dargestellt. **A1, A2:** In beiden Gruppen zeigen sich Zellen mit Koexpression von CD8 und CD27, welche sich Gelb darstellen (siehe gelbe Pfeile). **B1:** In der HIV-IBM-Gruppe können keine CD8⁺-Zellen mit zusätzlicher Expression von KLRG1 nachgewiesen werden. **B2:** Unter den sIBM-Patient*innen zeigen sich sowohl CD8⁺- und KLRG1⁺-Zellen, welche die den jeweils anderen Oberflächenmarker nicht exprimieren, als auch reichlich doppelt positive Zellen (mit gelben Pfeilen markiert). **C1:** Es können keine CD3⁺-Zellen mit Koexpression von CD57 bei Patient*innen mit HIV-assoziiertes IBM detektiert werden. **C2:** In der sIBM-Gruppe gibt es vereinzelt CD3⁺/CD57⁺ Zellen (gelb markiert).

4.3.1.2 Genexpressionsebene

Um die Marker zusätzlich auf Genexpressionsebene einzuordnen, wurde eine quantitative PCR durchgeführt. In **Abbildung 22** werden die ΔCt -Werte auf inverser Achse dargestellt. *CD27* zeigte sich mit einem ähnlichen Expressionsniveau in beiden Gruppen und war gegenüber der NDC-Gruppe signifikant hochreguliert ($p < 0,01$). *KLRG1* ergab ebenfalls eine Überexpression in beiden Gruppen gegenüber den NDC-Patient*innen (HIV-IBM $p < 0,01$, sIBM $p < 0,05$). Zwischen den HIV-IBM-Patient*innen und den Vertreter*innen der sIBM-Gruppe ließ sich kein signifikanter Unterschied feststellen. Auffällig war jedoch eine größere Streuung der Werte innerhalb der HIV-IBM-Gruppe mit ΔCt -Werten von 5,4-10,1. In der sIBM-Gruppe bewegten sich die Werte in einem Bereich von 7,5-8,5. Da es sich bei *CD57* um ein Kohlenhydrat-Epitop handelt, ist an dieser Stelle zu ergänzen, dass bei der qPCR das *B3GAT1*-Gen untersucht wurde. *B3GAT1* codiert für das Schlüsselenzym Beta-1,3-Glucuronyltransferase 1 in der Biosynthese von dem CD57-Epitop. Im Folgenden wird auch auf Genexpressionsebene die Bezeichnung *CD57* verwendet, welche als Synonym für *B3GAT1* häufig verwendet wird. Auch bei *CD57* konnte in beiden Gruppen eine signifikante Hochregulation im Vergleich zu den NDC-Patient*innen festgestellt werden (jeweils $p < 0,05$). Bei den HIV-Erkrankten und Patient*innen mit sporadischer IBM zeigte sich hier ein nahezu identisches Bild. Bei *CD57* gab es in der NDC-Gruppe lediglich drei Vergleichswerte, da die weiteren Messergebnisse unter der Nachweisgrenze lagen.



4.3.2 Immunregulatorische Moleküle

4.3.2.1 Proteinebene

Das Phänomen der T-Zell-Erschöpfung beschreibt, wie ein Teil der früh-differenzierten T-Zellen ihre Proliferationsfähigkeit und Effektorfunktion verliert und eine Hochregulation des immunregulatorischen Checkpoint-Moleküls PD1 zeigt (61).

In **Abbildung 23** sind histologische Bilder der immunhistochemischen Färbung mit PD1 und seinen Liganden PD-L1 und PD-L2 für exemplarische Vertreter*innen der HIV-assoziierten IBM und der sporadischen Form dargestellt. Im unteren Teil wird die Anzahl der PD1-exprimierenden Zellen quantitativ ausgewertet. Die Menge der PD1⁺-Zellen war in beiden Gruppen ähnlich mit einem Median von 16 Zellen pro HPF ($R=34$) in der HIV-IBM-Gruppe und 21 Zellen pro HPF ($R=25$) in der sIBM-Gruppe. Bei der Färbung mit PD-L1 zeigte sich in beiden Gruppen eine schwache bis sehr schwache zelluläre Färbereaktion. PD-L2 färbte sich mit einem unspezifischen Muster, welches Zellen des endomysialen Bindegewebes und das Sarkolemm der Myozyten betraf. Dies fand sich bei der HIV-IBM-Gruppe gleichermaßen wie bei den sIBM-Patient*innen.

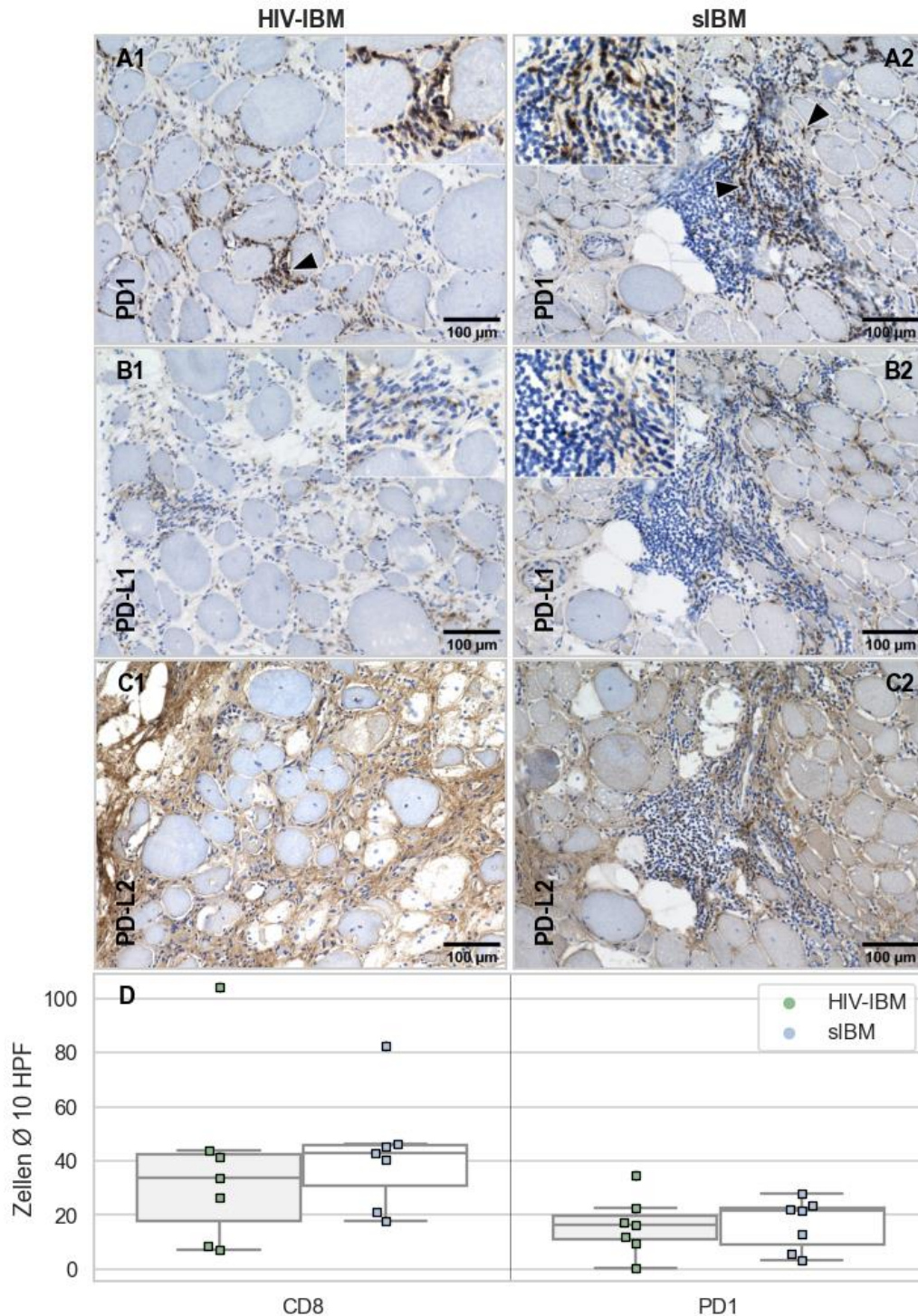
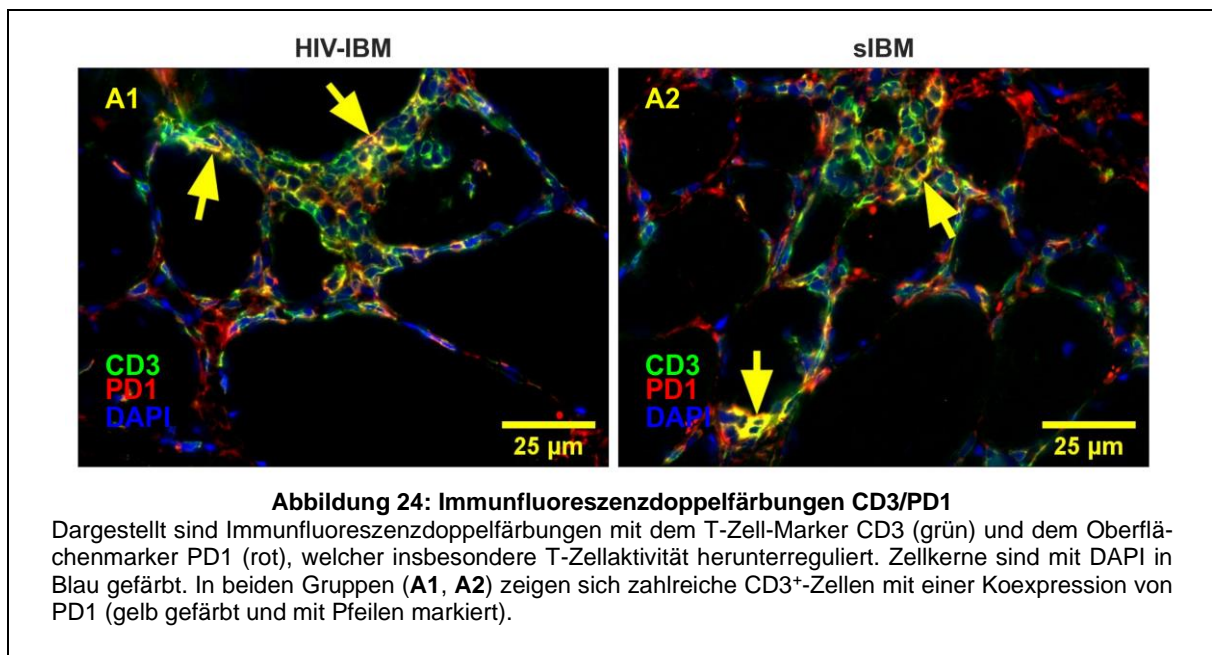


Abbildung 23: Immunregulatorische Moleküle

Dargestellt sind immunhistochemische Färbungen von PD1 und seinen Liganden PD-L1 und PD-L2 bei HIV-assoziierter IBM (linke Spalte) und sog. sporadischer IBM (rechte Spalte). Mit PD1 angefärbte Zellen werden mit schwarzen Pfeilen markiert und sind in **A1** und **A2** zahlreich vorhanden. PD-L1 zeigt in beiden Gruppen eine schwache bis keine Färbereaktion (**B1, 2**). Die Färbung für PD-L2 zeigt ein unspezifisches Muster mit Markierung von Zellen des endomysialen Bindegewebes und des Sarkolemmes der Muskelfasern (**C1, 2**), welches sich in beiden Gruppen ein ähnliches Ausmaß annimmt. Im unteren Teil (**D**) ist eine quantitative Auswertung der angefärbten Zellen für CD8 und PD1 dargestellt (HIV-IBM: grün; sIBM: blau). Gezeigt wird hier die jeweilige durchschnittliche Zellzahl aus zehn HPF in einem Boxplot mit Einzelwertdarstellung und Whiskern der Länge 1,5xIQR.

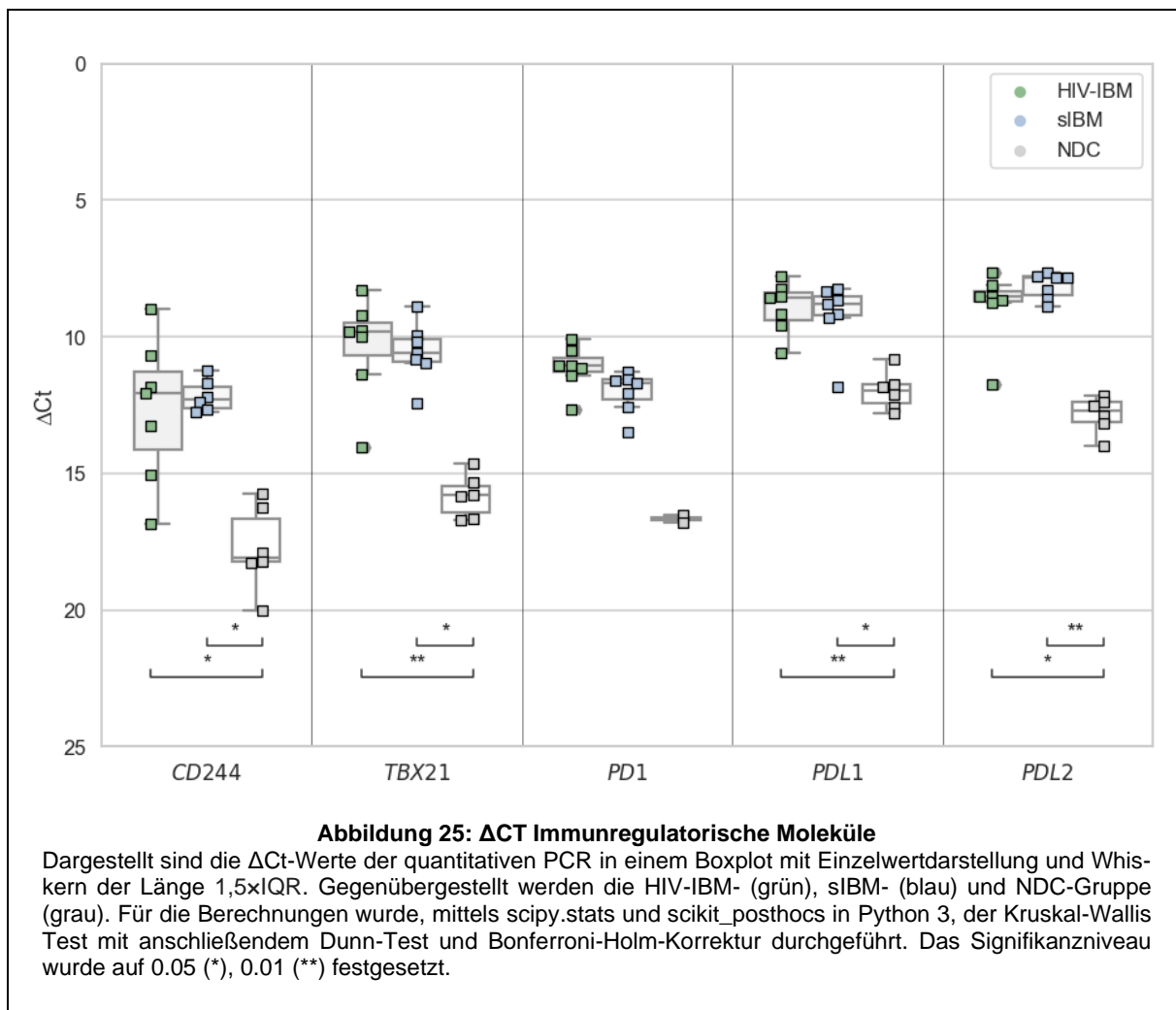
Für die Zuordnung des Immuncheckpoint-Moleküls PD1 zur T-Zellpopulation, welche den Oberflächenmarker CD3 exprimiert, wurden Doppelimmunfluoreszenzfärbungen angefertigt. Dabei wurden CD3⁺-Zellen in Grün und PD1⁺-Zellen in Rot gefärbt. Es waren in beiden Gruppen zahlreiche doppelt-positive Zellen nachweisbar, welche in **Abbildung 24** in Gelb erscheinen.



4.3.2.2 Genexpressionsebene

Mit einer quantitativen PCR erfolgte die Messung der Genexpression immunregulatorischer Moleküle. Detektiert wurde der mRNA-Nachweis codierend für die Membranrezeptoren *CD244* und *PD1* mit seinen Liganden sowie für den Transkriptionsfaktor *TBX21*. **Abbildung 25** zeigt die Δ Ct-Werte im Gruppenvergleich zwischen Vertreter*innen der HIV-IBM-, sIBM- und NDC-Gruppe. *CD244* war in beiden Gruppen (HIV-IBM und sIBM) gegenüber den nicht betroffenen Kontrollen (NDC) signifikant hochreguliert (jeweils $p < 0,05$), wobei die Werte innerhalb der HIV-IBM-Gruppe eine große Streuung mit Δ Ct-Werten von 9-17 aufwiesen. Zwischen den HIV-IBM- und sIBM-Patient*innen lag jedoch kein signifikanter Unterschied vor. *TBX21* hatte sowohl in der HIV-Gruppe ($p < 0,01$) als auch bei den sIBM-Patient*innen ($p < 0,05$) ein signifikant höheres Expressionsniveau im Vergleich zur NDC-Gruppe. Im Gruppenvergleich innerhalb der IBM-Patient*innen (HIV-IBM und sIBM) wurde das Signifikanzniveau jedoch nicht unterschritten.

PD1 lag in der NDC-Gruppe bei vier Teilnehmer*innen unter der Nachweisgrenze, weswegen hier nur zwei Werte dargestellt sind und kein statistischer Gruppenvergleich vorgenommen werden konnte. Beim Vergleich des Expressionsniveaus der beiden IBM-Gruppen (HIV-IBM und sIBM) untereinander konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden. Bei den Markern *PDL1* und *PDL2* zeigte sich in beiden IBM-Gruppen (HIV-IBM und sIBM) ein ähnliches Expressionsniveau mit einzelnen Ausreißern, jedoch ohne einen signifikanten Unterschied zwischen den HIV-IBM- und sIBM-Patient*innen. Gegenüber der NDC-Gruppe war das Expressionsniveau sowohl bei der HIV-IBM-Gruppe (*PDL1*: $p < 0,01$, *PDL2*: $p < 0,05$) als auch bei den sIBM-Patient*innen (*PDL1*: $p < 0,05$, *PDL2*: $p < 0,01$) signifikant hochreguliert.



4.4 Einzelauswertungen: HIV-IBM 1

Im Folgenden wird Pat.1 aus der Gruppe der Patient*innen mit HIV-assoziiierter Einschlusskörperchenmyositis dargestellt. Hervorzuheben ist dieser Fall aufgrund des Vorliegens einer Verlaufsbiopsie 12 Jahre nach der initialen Muskelbiopsie bei Erstdiagnose, sowie einer langjährigen Betreuung mit ausführlicher Dokumentation der klinischen Symptomatik.

4.4.1 Klinik

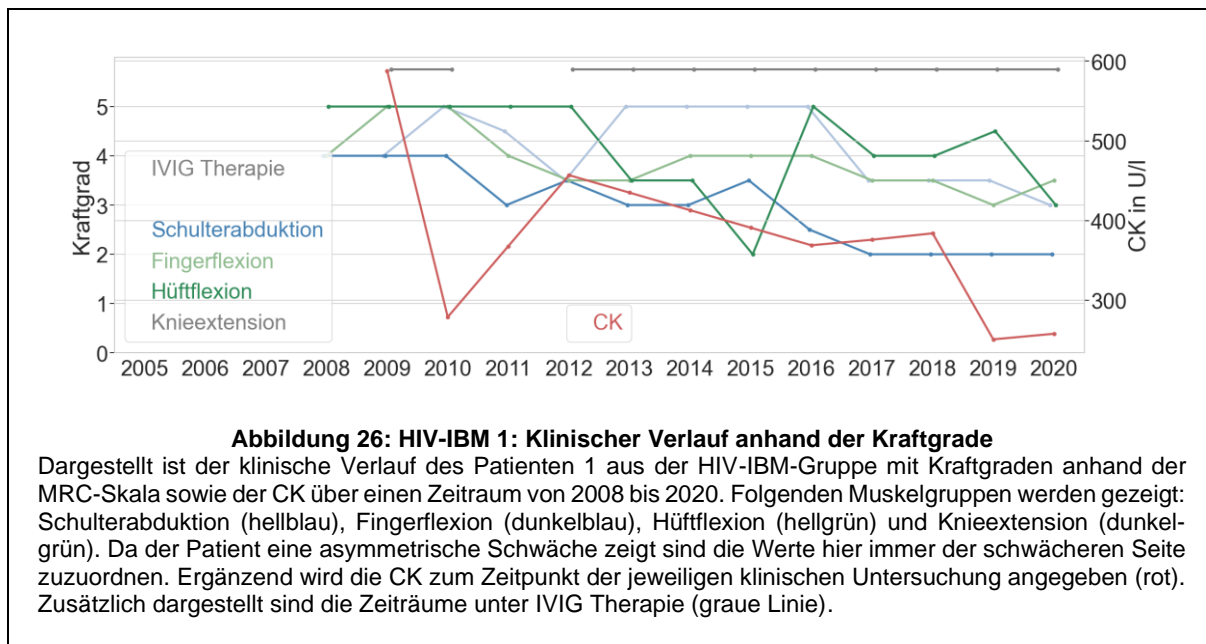
4.4.1.1 HIV-Vorgeschichte

1984 wurde eine HIV-Infektion diagnostiziert. Der CD4-Nadir lag 2009 bei 34 Zellen/ μ l mit einer Viruslast von 89 000 Kopien/ml im Serum und 41 400 Kopien/ml im Liquor. Im gleichen Jahr wurde ein Non-Hodgkin-Lymphom der rechten Axilla diagnostiziert, welches kurativ mittels Operation und Chemotherapie (CHOP-Schema) remittiert werden konnte. Eine antiretrovirale Therapie wurde erstmals 1984 mit Efavirenz begonnen und durch den Patienten im Jahr 2001 abgebrochen. Nach einer Therapiepause von acht Jahren wird der Patient seit 2009 suffizient mit kombinierter antiretroviraler Therapie und einer Viruslast unter der Nachweisgrenze behandelt.

2014 traten erstmals kognitive Defizite in Form einer anterograden Gedächtnisstörung mit einem Nachweis von HIV-RNA mit 48 Kopien/ml im Liquor auf. Die Symptomatik persistierte, ohne progrediente Entwicklung und es zeigte sich eine geringgradige kortikale Substanzminderung in der Verlaufs-MRT 2018, jedoch kein erneuter Nachweis von HIV-RNA im Liquor. Neuropsychologische Untersuchungen ergaben ein leichtes neurokognitives Defizit des nicht-mnestischen Typs. Bei unauffälligen Neurodegenerationsmarkern und Ausschluss anderer Ursachen wurde dieses als mildes HIV-assoziiertes neurokognitives Defizit (MNCD) eingeordnet. Als weitere Komorbiditäten sind ein Zustand nach Hepatitis B, eine Polyneuropathie, sowie seit 2018 ein Diabetes mellitus Typ 2 beschrieben. Zusätzlich leidet der Patient seit Jahren an einer depressiven Störung. Der Patient ist dem C3 Stadium nach CDC-Klassifikation zuzuordnen. Aktuell ist der Immunstatus unter antiretroviraler Therapie (Bictegravir, Tenofovir/Emtricitabin) und einer Viruslast unter der Nachweisgrenze im Serum und im Liquor stabil.

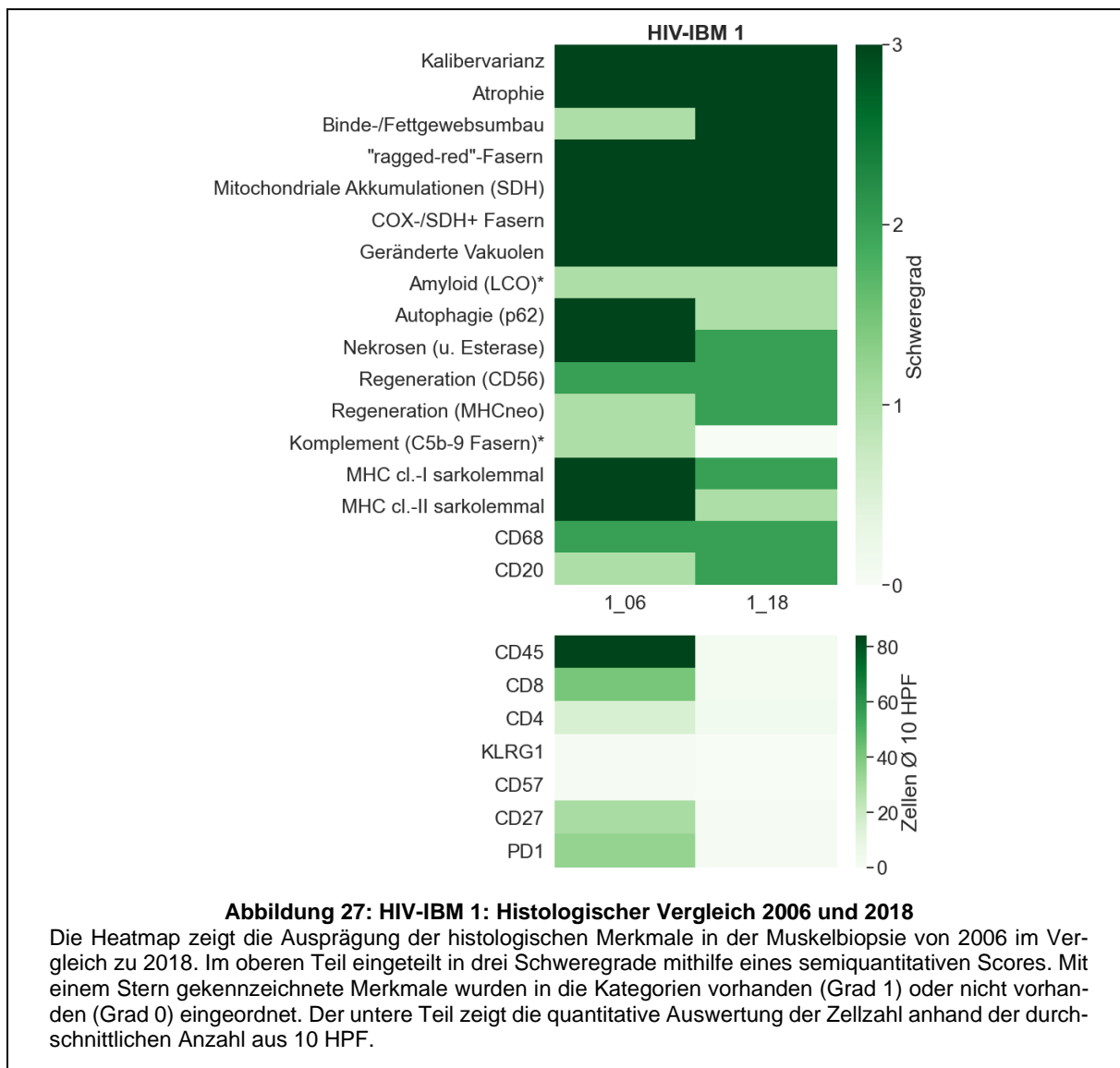
4.4.1.2 Muskelbezogene Symptomatik

Die initiale Muskelbiopsie 2006 ist in den Zeitraum ohne antiretrovirale Therapie mit einer CD4-Zellzahl von 500/ μ l einzuordnen. Entsprechende Werte zur Viruslast lagen uns nicht vor. Zum Zeitpunkt der zweiten Biopsie 2018 war eine suffiziente antiretrovirale Behandlung mit einer CD4-Zellzahl von 440 Zellen/ μ l und einer Viruslast unter der Nachweisgrenze gegeben. Zwei Jahre vor der initialen Muskelbiopsie begann die Symptomatik erstmals in Form von Myalgien. Zusätzlich entwickelten sich im Verlauf eine linksbetonte Muskelschwäche der Handmuskulatur und der proximalen unteren Extremität sowie Schluckstörungen. Im Jahr 2006 wurde muskelbiopsisch die Diagnose einer Einschlusskörperchenmyositis gestellt. Die CK war bis 588 U/l erhöht. Elektromyographisch zeigte sich ein myopathisches Bild mit deutlicher pathologischer Spontanaktivität und myopathieverdächtigen Potentialen. Seit 2009 wurde der Patient mit Unterbrechung von 14 Monaten mit intravenösen Immunglobulinen (90g i.v. alle 5 Wochen) behandelt. Unter der Therapie wurde eine zeitweise Verbesserung der Kraft und der Schluckstörungen beschrieben. In **Abbildung 26** wird der klinische Verlauf anhand der Kraftgrade mit Ergänzung der Serum-CK dargestellt. Während der Therapiepause war sowohl eine Kraftverschlechterung als auch eine Steigerung der CK zu beobachten. Nach erneuter Therapieaufnahme mit IVIG konnte die CK im Verlauf von initial bis 4-facher Erhöhung auf deutlich niedrigeren Werten bis 2-facher Erhöhung gesenkt werden. In der Entwicklung der Muskelschwäche zeigte sich ein variables Bild mit temporärer Kraftbesserung einzelner Muskelgruppen wie der Knieextensoren, während bei anderen Muskelgruppen wie den Fingerflexoren eine progrediente Verschlechterung zu beobachten war. Insgesamt war der Krankheitsverlauf über 10 Jahre trotz Therapie langsam progredient mit initialen Kraftgraden von 4-5, welche sich im Verlauf auf 2-3 reduzierten. Seit 2013 wurde ein Rollator und seit 2018 ein Rollstuhl zur Fortbewegung benötigt. Aufgrund der 2018 erneut beobachteten für die IBM ungewöhnlichen elektrophysiologischen Befunde in Form von pathologischer Spontanaktivität mit deutlicher Floridität, erfolgte erneut eine Muskelbiopsie. Klinische Tests zeigten zu diesem Zeitpunkt eine linksbetonte Tetraparese, welche an den distalen oberen Extremitäten und den proximalen unteren Extremitäten dominierte. Die freie Gehstrecke des Patienten betrug wenige Meter und er war auf einen elektrischen Rollstuhl angewiesen.



4.4.2 Histomorphologie

Im Folgenden werden nun die histologischen Befunde der Biopsien aus den Jahren 2006 und 2018 gegenübergestellt. Als Übersicht sind in **Abbildung 27** zunächst die histologischen Merkmale mit jeweiliger Ausprägung in Form einer Heatmap dargestellt. Im oberen Teil erfolgt eine Einteilung in Schweregrade. Auffällig war hier eine deutliche Zunahme des Binde- und Fettgewebsumbaus von Grad 1 bei der initialen Biopsie zu Grad 3 in der Folgebiopsie. Mitochondriale Veränderungen in Form von Akkumulationen und COX-/SDH⁺ Fasern zeigten sich weitestgehend unverändert. Auch andere degenerative Veränderungen wie die für die Einschlusskörperchenmyositis typischen geränderten Vakuolen waren in beiden Biopsien in ähnlichem Ausmaß zu finden. Ein Rückgang war bei der Ausprägung von Autophagie, Nekrosen und vor allem der inflammatorischen Komponente festzustellen. Im unteren Teil wird letzteres in Form einer Quantifizierung von eingewanderten Lymphozyten pro Gesichtsfeld dargestellt. Die CD45⁺-Lymphozyten haben sich von durchschnittlich 84 Zellen pro Gesichtsfeld in der Biopsie 2006 auf durchschnittlich drei Zellen pro Gesichtsfeld 2018 deutlich reduziert.



In den **Abbildungen 28** und **29** werden die histologischen Merkmale in Form von Bildern einzeln gegenübergestellt. In der Gömöri-Trichrom-Färbung zeigte sich in der zweiten Biopsie eine deutliche endomysiale Bindegewebsvermehrung mit zusätzlicher fettiger Degeneration. Auf der anderen Seite waren in der initialen Biopsie stark ausgeprägte endomysiale Infiltrate zu finden. Merkmale wie eine gesteigerte Kalibervarianz und Fasern mit geränderten Vakuolen waren in beiden Biopsien vorhanden. In der Doppelfärbung mit COX/SDH waren in der Übersichtsaufnahme zu beiden Zeitpunkten zahlreiche COX-/SDH⁺ Fasern nachweisbar. Mit p62 angefärbte autophagische Strukturen zeigten sich konzentriert innerhalb der Vakuolen und waren in der initialen Biopsie in stärkerer Ausprägung zu finden.

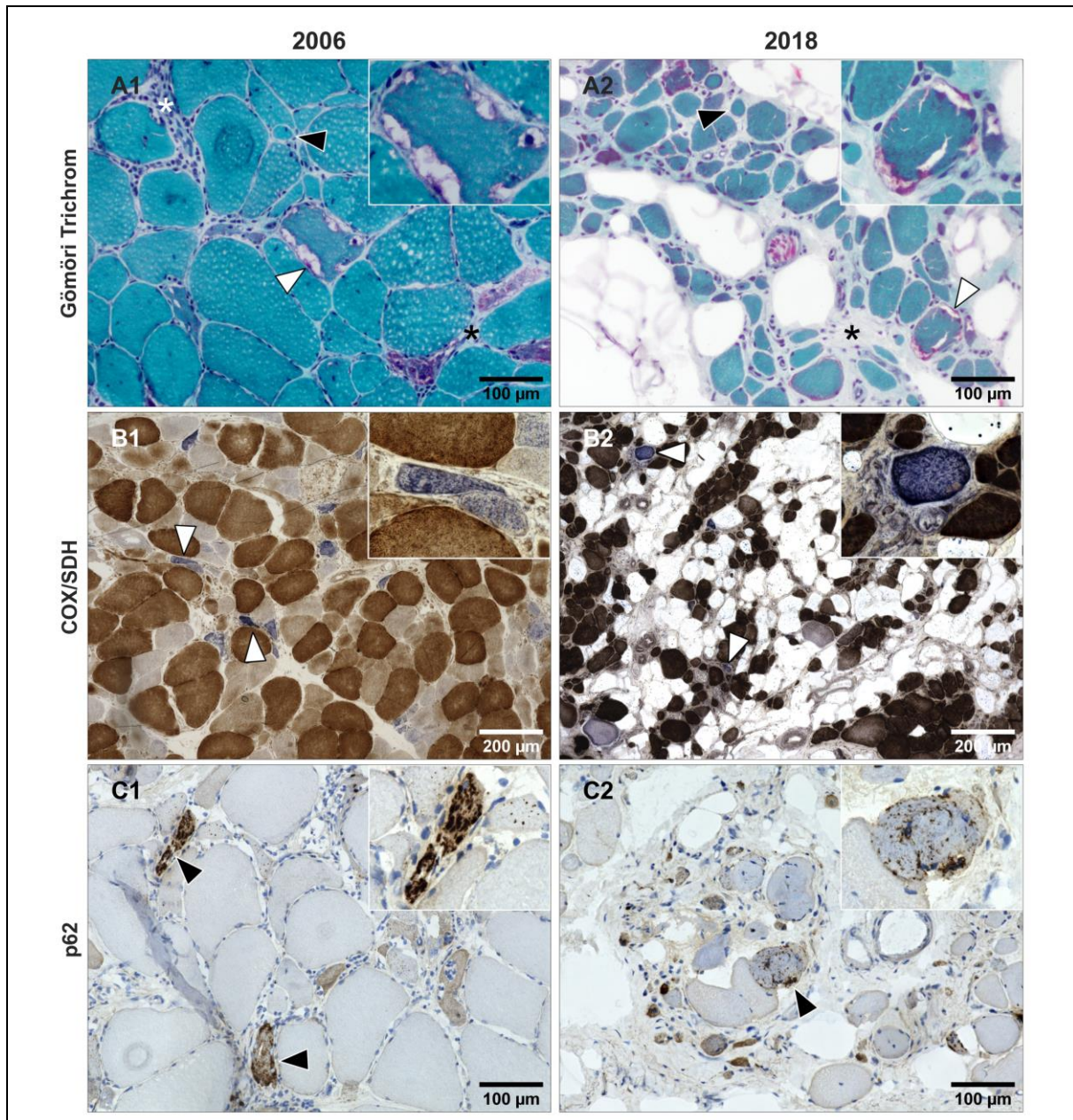


Abbildung 28: Histologischer Verlaufvergleich I

Gezeigt werden Bilder von ausgewählten Färbungen der Biopsien von HIV-IBM 1 aus 2006 und 2018. In der Gömöri-Trichrom-Färbung (**A1, 2**) werden geränderte Vakuolen (weißer Pfeil), Kalibervarianz (schwarzer Pfeil) und endomysiale Bindegewebsvermehrung (schwarzer Stern) markiert. Die COX/SDH Färbung (**B1, 2**) zeigt COX/SDH⁺ Fasern, welche sich blau darstellen (weiße Pfeile). P62-positive autophagische Strukturen werden in **C1** und **C2** dargestellt (schwarze Pfeile).

Die inflammatorischen Merkmale werden in **Abbildung 29** dargestellt. Die initiale Biopsie zeigte ausgeprägte clusterförmige endomysiale Infiltrate mit CD8⁺-Zellen, während in der Verlaufsbiopsie lediglich vereinzelt CD8⁺-Zellen endomysial nachweisbar waren. Die Färbereaktion mit MHC cl.-I war mit Grad 3 in der initialen Biopsie stark ausgeprägt. Im Verlauf war diese schwächer und dem Schweregrad 2 zuzuordnen. Die sarkolemmale Anfärbung mit MHC cl.-II war in der ersten Biopsie ebenfalls kräftig, während in der Verlaufsbiopsie lediglich bei einzelnen Fasern eine Färbereaktion auf dem Sarkolemm zu beobachten war. In beiden Biopsien waren erweiterte Kapillaren zu finden.

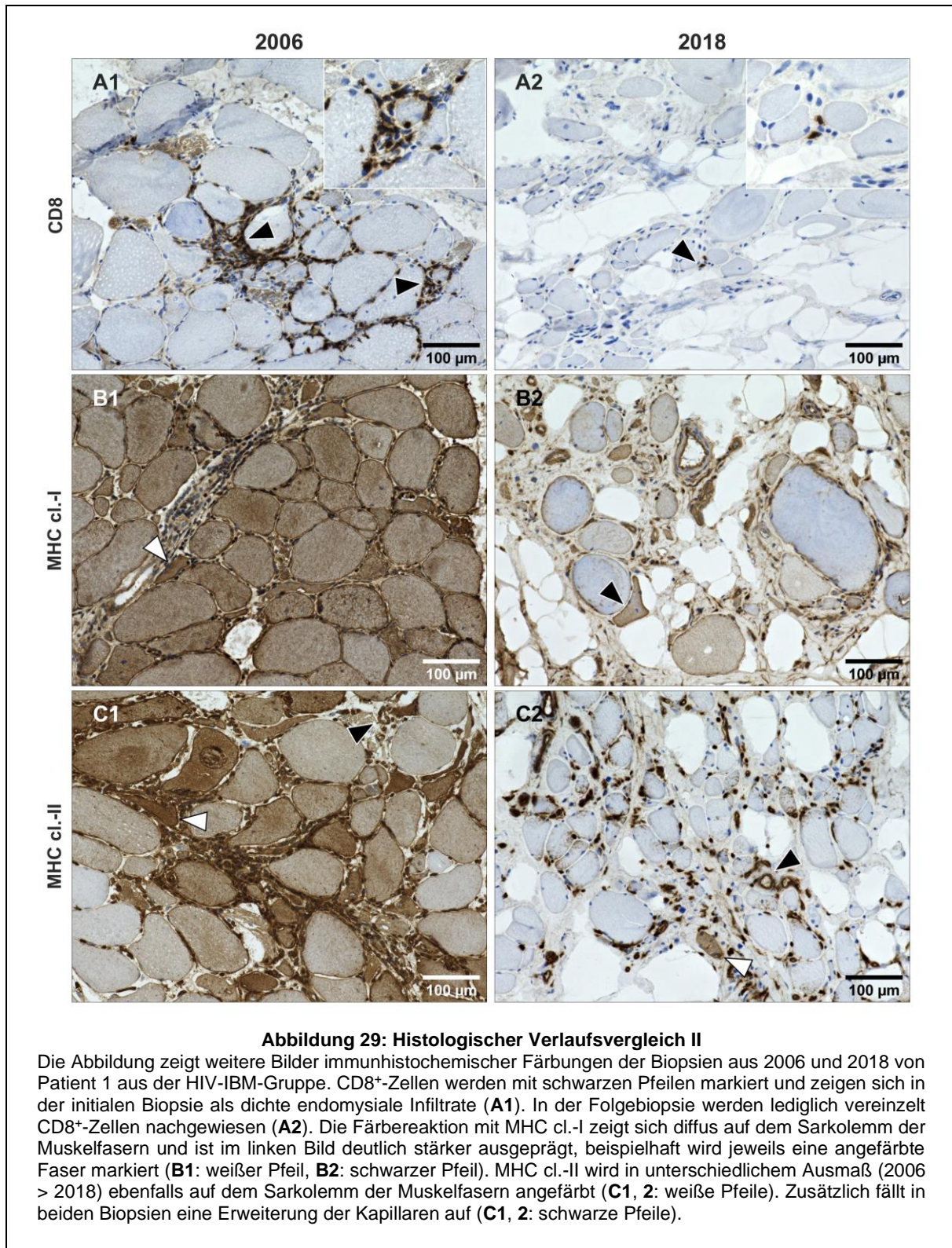
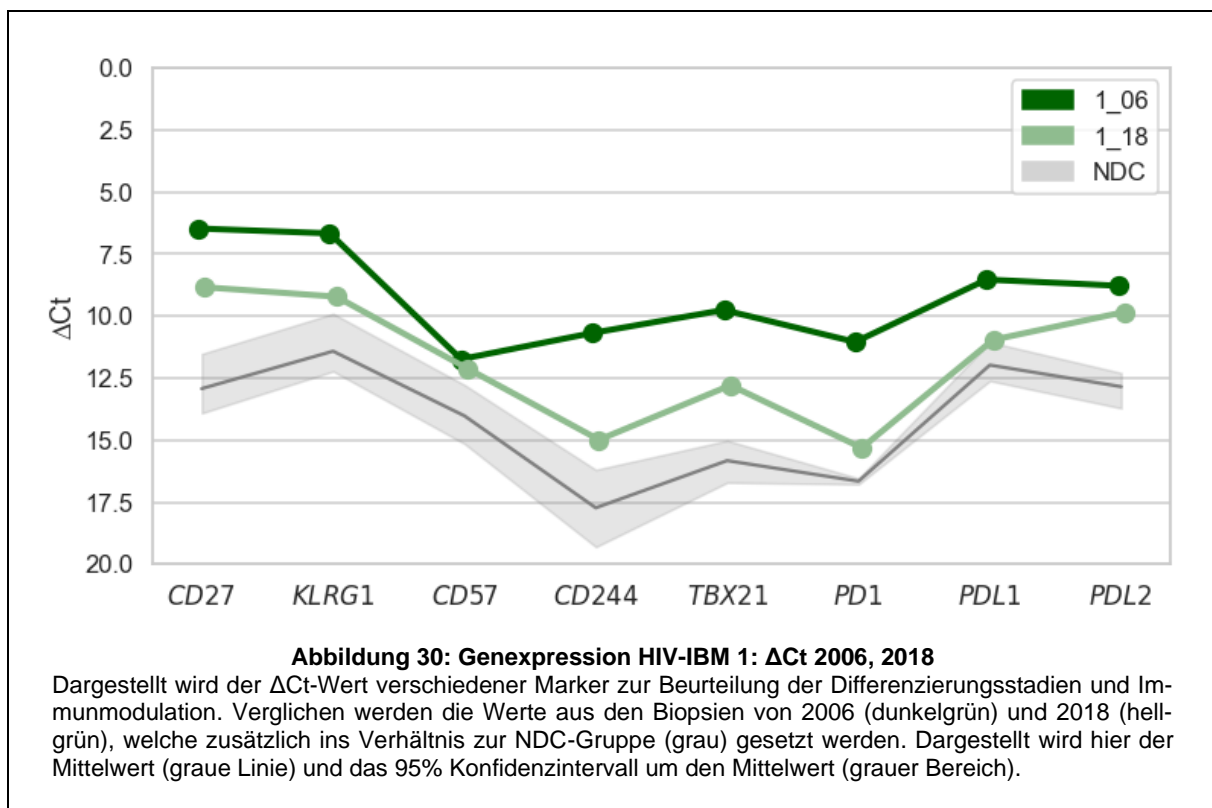


Abbildung 29: Histologischer Verlaufsvergleich II

Die Abbildung zeigt weitere Bilder immunhistochemischer Färbungen der Biopsien aus 2006 und 2018 von Patient 1 aus der HIV-IBM-Gruppe. CD8⁺-Zellen werden mit schwarzen Pfeilen markiert und zeigen sich in der initialen Biopsie als dichte endomysiale Infiltrate (**A1**). In der Folgebiopsie werden lediglich vereinzelt CD8⁺-Zellen nachgewiesen (**A2**). Die Färbereaktion mit MHC cl.-I zeigt sich diffus auf dem Sarkolemm der Muskelfasern und ist im linken Bild deutlich stärker ausgeprägt, beispielhaft wird jeweils eine angefärbte Faser markiert (**B1**: weißer Pfeil, **B2**: schwarzer Pfeil). MHC cl.-II wird in unterschiedlichem Ausmaß (2006 > 2018) ebenfalls auf dem Sarkolemm der Muskelfasern angefärbt (**C1**, **2**: weiße Pfeile). Zusätzlich fällt in beiden Biopsien eine Erweiterung der Kapillaren auf (**C1**, **2**: schwarze Pfeile).

4.4.3 Genexpression

Das Genexpressionsniveau der beiden Biopsien wird anhand der ΔCt -Werte in **Abbildung 30** dargestellt. In der initialen Biopsie war sowohl eine höhere Expression von Oberflächenmarkern, welche mit frühen bis mittleren Differenzierungsstadien von Lymphozyten assoziiert sind (*CD27*), als auch von solchen die mit späten bis enddifferenzierten Zellen assoziiert sind (*KLRG1*), nachzuweisen. Der Marker *CD57*, welcher mit sog. Seneszenz-Stadien assoziiert ist, zeigte sich auf einem ähnlichen Expressionsniveau in beiden Biopsien. Immunregulatorische Moleküle wie der inhibitorische *PD1*-Rezeptor und seine Liganden *PDL1* und *PDL2* sowie *CD244* und *TBX21* wurden ebenfalls stärker bei der initialen Biopsie im Vergleich zur Folgebiopsie exprimiert. Das Expressionsniveau aller Marker in der Folgebiopsie übersteigt jedoch trotzdem in geringem Ausmaß jenes der nicht betroffenen Kontrollen.



5 Diskussion

In den letzten 20 Jahren hat sich die Anzahl der jährlichen HIV-Neuinfektionen von 3 Millionen auf 1,5 Millionen halbiert (78). Das „90-90-90“-Ziel der Vereinten Nationen konnte weltweit bisher nicht erreicht werden. Lediglich 84% aller HIV-Infizierten haben Kenntnis über die Diagnose, 87% davon erhalten ART und wiederum bei 90% der Therapierten ist die Behandlung erfolgreich mit einer Viruslast <200 Kopien/ml (79). Deutschland ist dem Ziel mit 88%-96%-96% sehr nahe (81). Gleichwohl stagniert in Deutschland die Zahl der jährlichen HIV-Neuinfektionen seit ca. 15 Jahren zwischen 2500 und 3000. Zusätzlich steigt die Anzahl der mit HIV lebenden Menschen kontinuierlich an. Aufgrund der verminderten Sterblichkeit durch effektive antiretrovirale Therapie und zusätzlich mehr Neuinfektionen in höheren Altersgruppen hat sich die HIV-Population über 40 Jahre seit 1990 verfünffacht (81). Aktuell ist keine Heilung der HIV-Infektion möglich und das Virus persistiert im Körper der Infizierten, weswegen eine lebenslange Therapie notwendig ist. Trotz Kontrolle der Viruslast unter ART werden bleibende Veränderungen der T-Zell-Homöostase wie ein geringerer Anteil an naiven CD4- und CD8-T-Zellen und ein höherer Anteil an Effektor-Gedächtniszellen mit CD57-Expression beobachtet. Zusätzlich fällt bei HIV-Infizierten eine erhöhte Prävalenz im Vergleich zu seronegativen gleichaltrigen Menschen für beispielsweise kardiovaskuläre Erkrankungen, Krebserkrankungen und neurologische Erkrankungen auf (90). Als neurologische Erkrankungen werden unter anderem HIV-assoziierte Myositiden beschrieben. Dort fällt beispielsweise bei der Einschlusskörperchenmyositis im Vergleich zur sporadischen Form vor allem ein deutlich jüngeres Erkrankungsalter bei den HIV-Infizierten auf (106). Bisher gibt es noch keine effektive Therapie für die IBM. Da aus diesem Grund die Lebensqualität der Betroffenen nach einigen Jahren deutlich eingeschränkt ist und viele Ihre Gehfähigkeit verlieren, ist das Verständnis der Pathogenese der IBM zur Entwicklung von Therapiemöglichkeiten insbesondere für HIV-Patient*innen, welche durch ein jüngeres Erkrankungsalter schon früher betroffen sind, von großer Bedeutung. Das bisherige Verständnis der Pathogenese der IBM stützt sich auf zwei Komponenten: inflammatorisch und degenerativ. In Bezug auf die inflammatorische Komponente wurden kürzlich die bei der IBM in den Muskel eingewanderten zytotoxischen T-Zellen weiter charakterisiert (62).

Es wurden hochdifferenzierte zytotoxische Effektor-Gedächtniszellen (TEMRA) mit Expression von KLRG1 und CD57 im Muskel bei Patient*innen mit sIBM nachgewiesen, welche sich als spezifische für die IBM im Vergleich zu anderen inflammatorischen Myopathien erwiesen. Zusätzlich waren diese Marker auch auf Genexpressionsebene hochreguliert (62). TEMRA-Zellen sind mit einer verminderten Proliferationsfähigkeit und einer erhöhten Effektorfunktion assoziiert. Zusätzlich wurden sog. erschöpfte T-Zellen mit Expression von PD1 in Muskelbiopsien von sIBM-Patient*innen detektiert, welche ebenfalls durch einen Verlust der Proliferationsfähigkeit und zusätzlich auch der Effektorfunktion charakterisiert sind (63). Diese Zellen könnten eine Erklärung für das fehlende Ansprechen von IBM-Patient*innen auf Immunsuppressiva sein.

In dieser Arbeit wurden nach unserem Wissen erstmals Patient*innen mit HIV-assoziiierter Myositis und speziell HIV-IBM auf den Nachweis von TEMRA und PD1-exprimierenden Zellen im Muskel untersucht. Es wurde ein klinischer, histologischer und molekulargenetischer Vergleich der HIV-IBM zur sporadischen Form durchgeführt. Zusätzlich wurde in Ergänzung zu bisherigen Arbeiten das histomorphologische Spektrum innerhalb der HIV-assoziierten Myositiden inklusive klinischer Merkmale zur HIV-Geschichte und muskelspezifischen Parametern dargestellt.

5.1 Spektrum HIV-assoziiierter Myositiden

Insgesamt zeigte sich ein breites Spektrum HIV-assoziiierter Myositiden, welches von IBM, PM-Mito, IMNM bis zu unspezifischen Veränderungen in Form von milder endomysialer Myositis mit milder mitochondrialer Pathologie (MEM/MMP) bzw. vaskulärer Inflammation oder kapillärer Pathologie (MEM/VI, KP) reichte. Im Vergleich zu anderen Arbeiten wie der bisher größten histologischen Klassifikation von Landon-Cardinal et al. (102) liegt der Fokus dieser Arbeit auf inflammatorischen Myopathien mit entzündlichen Veränderungen in der Biopsie als Einschlusskriterium. Die Gruppe um Landon-Cardinal zeigte ein Spektrum innerhalb HIV-assoziiierter Myopathien, bei dem die meisten Fälle als Polymyositis (PM), nicht-spezifische Myositis (NSM) oder isolierte mitochondriale Auffälligkeiten (IMA) klassifiziert wurden. Zusätzlich gab es wenige Fälle mit Einschlusskörperchenmyositis und Immun-vermittelter nekrotisierender Myopathie (102). Die Kohorte umfasste 50 HIV-Patient*innen, von denen 34 entzündliche Veränderungen aufwiesen, während in unserer Studie die Biopsien von 19 HIV-Patient*innen analysiert wurden.

Die Patient*innen, welche in unserer Arbeit der MEM/VI,KP-Gruppe zugeordnet wurden, entsprechen ebenfalls den ENMC-Kriterien der NSM mit perivaskulären, perimysialen inflammatorischen Infiltraten oder endomysialen CD8⁺-T-Zellen, welche nicht eindeutig die Muskelfasern umranden oder in diese eindringen (5). Die Vertreter*innen der MEM/MMP-Gruppe können aufgrund der milden mitochondrialen Pathologie in Form von subsarkolemmalen Akkumulationen als sog. „Prä-ragged-blue“-Fasern und einzelnen COX-negativen Fasern nach ENMC-Klassifikation (5) keiner Gruppe zugeordnet werden, so dass es notwendig wurde, hier eine neue deskriptive Beschreibung zu etablieren. Kriterien einer PM mit endomysialen inflammatorischen Infiltraten CD8⁺-T-Zellen, welche nicht-nekrotische Muskelfasern umranden und in diese eindringen, ohne andere Merkmale wie mitochondrialer Schädigung oder Proteinablagerungen trafen in dieser Arbeit bei keinem*r Patient*in zu, wobei die PM als umschriebene Myositis-Entität hinterfragt wird (7, 9). Kriterien einer Dermatomyositis mit z.B. perifaszikulärer Atrophie wurden ebenfalls bei keinem*r Patient*in dieser Arbeit nachgewiesen. Ein Patient zeigte eine sarkolemmale MHC cl.-I und MHC cl.-II Hochregulation mit perifaszikulärer Betonung, Kapillarverlust und Komplementablagerungen auf den Kapillaren, jedoch war der Patient MxA-negativ, weswegen er als MEM/KP eingeordnet wurde.

Der Patient mit Klassifizierung als IMNM-like erfüllte überwiegend die histologischen ENMC-Kriterien (14) mit nekrotischen Fasern, Myophagozytosen und regenerativen Fasern in unterschiedlichen Stadien. Ebenfalls ließen sich endomysiale Bindegewebsvermehrung, entzündliche Infiltrate mit prädominantem Anteil an Makrophagen und vereinzelt Lymphozyten, eine milde sarkolemmale MHC cl.-I Hochregulation, milde sarkolemmale Komplementablagerungen und kapilläre Erweiterung nachweisen. Zusätzlich wies der Patient jedoch milde mitochondriale Veränderungen auf, was von den Kriterien abweicht. Klinisch war eine dauerhaft normwertige CK ebenfalls ungewöhnlich für die IMNM, weswegen die Diagnose im engeren Sinne hier nicht gestellt wurde.

Zwei Patient*innen zeigten sich mit dem Bild einer PM-Mito mit endomysialen Infiltraten CD8⁺-T-Zellen, sarkolemmaler MHC cl.-I Färbereaktion, myopathischen Veränderungen wie Kalibervarianz und teilweise auch endomysialer Bindegewebsvermehrung sowie mitochondrialer Schädigung in Form von COX-negativen Fasern. Nicht nachweisbar waren geränderte Vakuolen oder Proteinablagerungen von Amyloid oder p62 und LC3.

Für die PM-Mito gibt es noch keine etablierten diagnostischen Kriterien (17). Sie ist gekennzeichnet durch endomysiale Inflammation und Invasion nicht-nekrotischer Fasern mit MHC cl.-I Expression durch vorwiegend CD8⁺-Lymphozyten, eine mitochondriale Schädigung in Form von COX-negativen Fasern und durch unspezifische Proteinaggregate sowie eine verstärkte Autophagie mit Markern wie LC3 oder p62 visualisiert (jedoch nicht in Form von typischen 'grobscholligen' Ablagerungen wie bei der IBM). Geränderte Vakuolen oder andere Formen von Proteinablagerungen wie SMI-31 und TDP-43 finden sich bei der PM-Mito jedoch nicht (17, 19, 20). Hiniker et al. differenzieren dabei noch weiter in PM-COX und possible IBM (pIBM) (20). Die PM-COX zeigte dabei im Gegensatz zur pIBM keine oder lediglich milde Zeichen eines chronisch myopathischen Umbaus wie beispielsweise erhöhte Kalibervarianz und endomysiale Fibrose. Die pIBM-Gruppe zeigte zusätzlich einen höheren Anteil LC3⁺-Fasern (20). Dementsprechend wäre Pat. 15 aufgrund fehlender endomysialer Bindegewebsvermehrung und lediglich mild erhöhter Kalibervarianz eher als PM-COX einzustufen, während Pat. 16 mit stärker ausgeprägter Kalibervarianz und milder endomysialer Bindegewebsvermehrung auch als pIBM eingestuft werden könnte. Nicht nachzuweisen waren bei beiden Patienten jedoch LC3 positive sarkoplasmatische Strukturen. Immunhistochemische Färbungen für die Marker SMI-31 und TDP-43 wurden in dieser Arbeit nicht durchgeführt. Es gibt Fallbeschreibungen, bei denen Patient*innen mit dem Bild einer PM oder PM-Mito nach mehreren Jahren eine IBM entwickelten und in der Verlaufsbiopsie geränderte Vakuolen zeigten (19). Bei Pat. 16 gab es zwei vorherige Biopsien sieben und fünf Jahre zuvor mit der Beschreibung einer Polymyositis, welche uns jedoch nicht vorlagen. Zusätzlich sprach dieser Patient weder auf Prednison noch auf IVIG-Therapie an, zeigte eine erhöhte CK mit 728 U/l und ist Anti-cN1A-positiv. Die Therapierefraktärität und der Antikörperstatus würden für eine mögliche Übergangsform von einer initialen PM zur PM-Mito bzw. pIBM sprechen. Ungewöhnlich ist jedoch das klinische Bild mit Myalgien im Vordergrund ohne Nachweis von Paresen.

Bezüglich der HIV-Vorgeschichte war in der Übersichtsarbeit von Landon-Cardinal et al. die Viruslast bei der PM mit einem Median von 601 Kopien/ml signifikant höher als in den anderen Subgruppen (102). In unserer Arbeit gab es einen Patienten aus der Gruppe der MEM/VI,KP mit einer Viruslast von 95 000 Kopien/ml zum Zeitpunkt der Muskelbiopsie, welcher zu diesem Zeitpunkt auch keine ART erhielt.

Zusätzlich befanden sich zwei weitere Patienten bei der Muskelbiopsie nicht unter antiretroviraler Therapie, wobei einer eine CD4-Zellzahl von 500/ μ l aufwies und uns von dem anderen keine Daten zum Immunstatus zum Zeitpunkt der Biopsie vorlagen. Die Subgruppe der IMA wird in der Arbeit von Landon-Cardinal et al. definiert mit dem Nachweis von COX-negativen Fasern und/oder mitochondrialen Akkumulationen in der SDH-Färbung, jedoch ohne inflammatorische Infiltrate oder geränderte Vakuolen (102). Alle Patient*innen, welche der IMA zugeordnet wurden, waren zuvor und/oder aktuell unter ART. Es wird jedoch nicht aufgeschlüsselt, welche Medikamente verabreicht wurden. Bisher wurde eine antiretroviral-toxische Myopathie mit mitochondrialer Schädigung vor allem im Zusammenhang mit Zidovudin beobachtet (101). In unserer Arbeit war uns bei keinem*r Patient*in eine Einnahme von Zidovudin in der Vorgeschichte bekannt. Bei einem Patienten war eine Einnahme von Stavudin in der Vorgeschichte dokumentiert, was eine toxische Neuropathie hervorrufen kann (92). Eine PNP ist bei diesem Patienten auch beschrieben, diese kann jedoch auch als Konsequenz des HI-Virus selbst auftreten. Insgesamt hatten 37% der HIV-Patient*innen eine periphere Neuropathie. Andere HIV-assoziierte neurologische Erkrankungen waren ein mildes neurokognitives Defizit bei einem Patienten.

Es wurden HIV-Patient*innen mit unterschiedlichen CDC-Stadien eingeschlossen. Zweiunddreißig Prozent wurden dem Stadium C zugeordnet, 5% dem Stadium B und 11% dem Stadium A, wobei die restlichen 52% aufgrund fehlender Daten nicht zugeordnet werden konnten. Dabei zeigte sich in der HIV-IBM- und HIV-non-IBM-Gruppe eine ähnliche Verteilung der Stadien.

Für den klinischen Vergleich wurden die HIV-Patient*innen in zwei Gruppen eingeteilt: HIV-IBM und HIV-non-IBM, welche die anderen Myositis-Formen und unspezifischen Veränderungen in der Biopsie zusammenfasst. Die Gruppen unterschieden sich sowohl klinisch als auch histomorphologisch. Klinische Unterschiede waren ein jüngeres Erkrankungsalter in der HIV-non-IBM-Gruppe, welche im Vergleich zu den HIV-IBM-Patient*innen zum Zeitpunkt der Muskelbiopsie durchschnittlich 10 Jahre jünger waren. Dabei betrug der durchschnittliche Zeitraum zwischen HIV-ED und Muskelbiopsie in der HIV-IBM-Gruppe 13 Jahre und 7 Jahre bei den HIV-non-IBM-Patient*innen. Zusätzlich waren die non-IBM-Patient*innen klinisch und histologisch milder betroffen mit Myalgien als Hauptsymptom, milden Paresen und einer durchschnittlich 3-fach erhöhten CK sowie histologisch einem mittleren overall severity score von 3.

In der HIV-IBM-Gruppe war die Muskelschwäche das vordergründige Symptom mit moderaten bis schweren Paresen, einer durchschnittlichen stärkeren CK-Erhöhung um den Faktor 5 und histomorphologisch schwerer Muskelschädigung mit einem durchschnittlichen OSS von 8. Eine dermatologische, kardiale oder pulmonale Organbeteiligung wurde bei keinem*r Patient*in festgestellt.

5.2 Klinischer und histomorphologischer Vergleich HIV-IBM und sIBM

Klinisch und histomorphologisch zeigte sich insgesamt ein sehr ähnliches Bild zwischen der HIV-assoziierten IBM und der sporadischen Form. Klinische Unterschiede sind das Erkrankungsalter mit einem signifikant jüngeren Alter zum Zeitpunkt der Biopsie in der HIV-IBM-Gruppe (53 vs. 70 Jahre, $p < 0,01$). Die Ergebnisse decken sich mit anderen Arbeiten wie von Hiniker et al., bei denen das Erkrankungsalter bei den HIV-Patient*innen mit dem histologischen Bild einer IBM ebenfalls signifikant geringer war als bei der sporadischen Form (106). Diese Beobachtung konnte auch bei anderen Krankheiten wie kardiovaskulären Erkrankungen, Krebserkrankungen (nicht-HIV assoziiert) und anderen neurologischen Erkrankungen bei HIV-Patient*innen gemacht werden, bei denen eine erhöhte Prävalenz im Vergleich zu seronegativen gleichaltrigen Menschen auffiel (90). Es wurde festgestellt, dass trotz Kontrolle der Viruslast durch effektive ART bleibende Veränderungen in der T-Zell-Homöostase bei HIV-Infizierten auftreten. Dies zeigte sich mit einem geringeren Anteil an naiven CD4- und CD8-T-Zellen, während der Anteil an Effektor-Gedächtniszellen mit CD57-Expression höher war. Zusätzlich wurde bei HIV-Infizierten eine erhöhte Produktion von inflammatorischen Zytokinen beobachtet (90). Da diese Merkmale wie immunseneszente Zellen mit CD57-Expression und ein erhöhter Nachweis von proinflammatorischen Zytokinen auch bei älteren Menschen beobachtet wurden, könnte dies als verfrühte Alterung des Immunsystems von HIV-Infizierten gedeutet werden (90). Hiniker et al. bringen dabei auch die Rolle der regulatorischen T-Zellen mit ein, welche ebenfalls bei HIV-Infizierten dysreguliert sind. Diese spielen eine wichtige Rolle bei der Unterdrückung von Inflammation und Reparaturprozessen im Muskel (106, 126-128). Daraus wurde die Hypothese abgeleitet, dass eine Dysregulation von regulatorischen T-Zellen Muskelreparaturprozesse bei HIV negativ beeinflusst und einen früheren Beginn der Myositis bei HIV-Patient*innen begünstigt (106).

Zusätzlich wurden die HIV-IBM-Patient*innen in unserer Arbeit durchschnittlich früher biopsiert mit einem Zeitraum von Symptombeginn bis zur Muskelbiopsie von 1,8 Jahren, während dieser in der sIBM-Gruppe mit durchschnittlich 6,2 Jahren deutlich länger war. Dieser Unterschied könnte auf eine engmaschigere Kontrolle und Überwachung von HIV-Patient*innen durch regelmäßigen ärztlichen Kontakt aufgrund der Grunderkrankung zurückzuführen sein. Eine weitere mögliche Erklärung ist ein schnellerer Krankheitsprogress bei HIV-Infizierten, da diese in kürzerer Zeit klinisch und histologisch ähnlich schwer betroffen sind wie Patient*innen mit sporadischer IBM. Als Erstsymptom zeigte sich in beiden Gruppen überwiegend eine Schwäche der Oberschenkelmuskulatur. Bei einem Patienten mit sporadischer IBM war eine Dysphagie das initiale Symptom. Insgesamt waren bei den sIBM-Patient*innen zwei von einer Dysphagie betroffen und ein Patient in der HIV-IBM-Gruppe. Die Ausprägung der Muskelschwäche war zum Zeitpunkt der Biopsie in beiden Gruppen gemischt. In der HIV-IBM-Gruppe zeigten sich ausschließlich milde (MRC-KG 4+) und moderate Paresen (MRC-KG 4- bis 4), während in der sIBM-Gruppe bei zwei Patient*innen auch höhergradige Paresen mit Kraftgraden von 2 und 3 bereits zum Zeitpunkt der Biopsie auftraten. Hierzu ist zu ergänzen, dass bei Pat. 2 der sIBM-Gruppe schon ein längerer Krankheitsverlauf bestand und es sich bei der in dieser Arbeit untersuchten Biopsie aus dem Jahr 2016 nicht um die Erstbiopsie handelte. Sieben Jahre zuvor wurde die Patientin zum ersten Mal biopsiert mit dem Bild einer sIBM mit entzündlichen Infiltraten und vereinzelt geränderten Vakuolen. Mit dieser Anpassung würde der durchschnittliche Zeitraum von Symptombeginn bis zur initialen Muskelbiopsie fünf Jahre in der sIBM-Gruppe umfassen. Da uns jedoch die initiale Biopsie dieser Patientin nicht vorlag und wir die zweite Biopsie für die histomorphologischen Analyse verwendet haben, beließen wir es für die Auswertung bei dem Zeitraum zwischen Symptombeginn bis zur ausgewerteten Muskelbiopsie. Die erneute Biopsie erfolgte aufgrund des atypischen Verteilungsmusters der Paresen mit deutlicher Beteiligung des Schulter-Nackensbereichs. Zusätzlich ist einschränkend zu sagen, dass die Patientin zwischen der Erst- und Zweitbiopsie bereits im Jahr 2009 für sechs Monate IVIG und anschließend für zwei Jahre Cortison und AZT erhalten hatte. Dabei trat eine kurzzeitige Besserung der Paresen nach der IVIG-Therapie auf, die Therapie mit Cortison/AZT zeigte jedoch keinen Effekt. Alle anderen Patient*innen hatten vor der Biopsie keine medikamentöse Therapie erhalten.

Bei genauerer Analyse des Paresen-Musters zeigte sich ein gemischtes Bild in beiden Gruppen mit sowohl symmetrischer als auch asymmetrischer Verteilung. Dabei waren die Paresen an den unteren Extremitäten überwiegend proximal betont, während an den oberen Extremitäten das klassische Muster der IBM mit distaler Betonung nur bei einem (HIV-IBM) bzw. zwei (sIBM) Patient*innen vorhanden war. In der HIV-IBM-Gruppe war die Muskelschwäche der oberen Extremität bei zwei Patienten eher proximal betont. Bei den sIBM-Patient*innen war eine proximale Betonung nicht zu beobachten, wobei drei Patient*innen sowohl proximale als auch distale Paresen in gleicher Ausprägung aufwiesen. Bei Betrachtung des Schweregrads der Paresen zeigen sich im Verlauf auch bei den HIV-Patient*innen höhergradige Paresen mit Kraftgraden von 2 und 3.

In der Studie von Lloyd et al. (107) wurde bei 11 HIV-Patient*innen mit Myositis ein Übergang zwischen PM und IBM beobachtet. Auffällig war im Vergleich zur sIBM eine häufige proximale Muskelschwäche mit teilweiser Verbesserung der Armabduktion bei manchen Betroffenen durch immunsuppressive Therapie und eine durchschnittliche CK von 2 796 U/l (16-fach erhöht). In unserer Studie war die CK in beiden Gruppen ähnlich und ca. 5-fach erhöht. Jedoch hatten bei der Arbeit von Lloyd et al. nicht alle Patient*innen eine histologisch gesicherte IBM. In der Muskelbiopsie zeigten 90% endomysiale Inflammation und lediglich 60% geränderte Vakuolen sowie 50% viele COX-negative Fasern (107). Einen positiven Antikörperstatus für Anti-cN1A konnten wir lediglich bei zwei sIBM-Patient*innen nachweisen, wobei diese sich anhand ihres Phänotyps nicht von den Seronegativen unterschieden. In der HIV-IBM-Gruppe war Anti-cN1A nicht nachweisbar. Bei drei Patient*innen der HIV-IBM-Gruppe und zwei mit sporadischer IBM fehlten uns jedoch die Angaben zum Antikörperstatus. Die Häufigkeit von Anti-cN1A bei der IBM variiert und wird in bisherigen Studien mit 33-76% angegeben (7, 25, 26). In der oben genannten Studien über HIV-Myositis Patient*innen mit Merkmalen von PM und IBM wurde Anti-cN1A bei 64% nachgewiesen (107).

Als medikamentöse Therapie konnte mit intravenösen Immunglobulinen bei vielen Patient*innen eine zeitweise Besserung beobachtet werden. Dies betraf 2 von 3 HIV-IBM-Patient*innen und alle sechs sIBM-Patient*innen mit medikamentöser Therapie. In allen Fällen war dieser Effekt jedoch temporär, was sich mit der bisherigen Studienlage deckt (33, 35). Die restlichen Patient*innen erhielten entweder keine medikamentöse Therapie oder es wurden keine Angaben dazu gemacht.

Histopathologisch zeigte sich insgesamt ein ähnliches Bild in der HIV-IBM- und sIBM-Gruppe. Alle Patient*innen entsprachen der histologischen Definition einer IBM nach ENMC-Kriterien (24) mit endomysialen inflammatorischen Infiltraten, geränderten Vakuolen und Proteinakkumulationen mit Nachweis von p62. Ein Nachweis von Amyloid im Muskel war bei 71% der HIV-IBM-Patient*innen und bei 43% der sIBM-Patient*innen vorhanden. Die Färbungen erfolgten mit LCOs und Kongorot, wobei sich die LCOs als sensitiver erwiesen mit einer Färbereaktion bei 5 von 7 Vertreter*innen der HIV-IBM-Gruppe und 2 von 7 bei den sIBM-Patient*innen. Kongophile Einschlüsse konnten wir lediglich bei jeweils einem*r Patient*in jeder Gruppe nachweisen. LCOs können sich der molekularen Struktur der abgelagerten Proteine anpassen und dadurch ein breiteres Spektrum von immun-positiven Proteineinschlüssen nachweisen (57). Weiterhin zeigten alle Patient*innen eine mitochondriale Schädigung, welche etwas stärker in der HIV-IBM-Gruppe ausgeprägt war. Dort zeigten die meisten Patient*innen zahlreiche COX-negative Fasern, während diese bei den sIBM-Patient*innen insgesamt in geringerem Ausmaß nachweisbar waren. Chronisch myopathische Merkmale wie eine erhöhte Kalibervarianz, Muskelatrophie oder Binde-/Fettgewebsumbau waren in beiden Gruppen ähnlich ausgeprägt. Ebenso wie inflammatorische Infiltrate und sarkolemmale MHC cl.-I und cl.-II Hochregulation. Insgesamt ergab die Zusammenfassung aller Merkmale im overall severity score in beiden Gruppen einen mittleren Wert von 8/10.

5.3 Hochdifferenzierte zytotoxische T-Zellen bei HIV-assoziierter Myositis

Hochdifferenzierte zytotoxische Effektor-Gedächtnis-T-Zellen (TEMRA), welche KLRG1 und CD57 exprimieren, wurden kürzlich als spezifische Zellpopulation im Muskel bei Patient*innen mit sIBM nachgewiesen (62). Diese Zellen sind mit einer erhöhten Zytotoxizität sowie einer verringerten Proliferationsfähigkeit assoziiert, weswegen sie eine mögliche Erklärung für das fehlende Ansprechen auf Immunsuppressiva bei der IBM sein könnten (58, 62). TEMRA-Zellen konnten wir in dieser Arbeit immunhistochemisch nur vereinzelt im Muskel bei der HIV-assozierten Form der IBM detektieren, während im Vergleich bei der sIBM signifikant mehr TEMRA-Zellen vorhanden waren ($p < 0,01$).

Trotzdem war der Anteil der KLRG1⁺-Zellen auch in der sIBM-Gruppe mit sechs Zellen/HPF im Median bei 43 CD8⁺-Zellen/HPF gering, wobei die CD8⁺-T-Zellen bei der HIV-IBM-Gruppe mit 34 Zellen/HPF im Median auf einem ähnlichen Niveau lagen. CD57⁺-Zellen konnten in der sIBM-Gruppe lediglich bei einem Patienten zahlreich mit durchschnittlich 19 Zellen/HPF und bei den anderen ebenfalls vereinzelt, bis wenig nachgewiesen werden. Eine statistische Signifikanz konnte im Vergleich zur HIV-IBM-Gruppe bei diesem Marker nicht erreicht werden. Bei der Arbeit von Greenberg et al. wurden keine Angaben zur Quantifizierung der KLRG1⁺- und CD57⁺-Zellen auf Proteinebene bei sIBM-Patient*innen gemacht, weswegen hier kein Vergleich gezogen werden kann (62). Unsere Ergebnisse suggerieren, dass sich die in den Muskel eingewanderten zytotoxischen T-Zellen bei der HIV-IBM möglicherweise in weniger fortgeschrittenen Differenzierungsstadien befinden ohne Expression von KLRG1 oder CD57. Da diese Marker mit Immunseneszenz assoziiert sind, könnte eine längere Krankheitsdauer in der sIBM-Gruppe eine probate Erklärung für diesen Unterschied sein. Aktuelle Studien konnten bei sIBM-Patient*innen ebenfalls eine Korrelation der Krankheitsdauer mit einer erhöhten Differenzierung CD8⁺-T-Zellen im Blut nachweisen (64). Auf Genexpressionsebene zeigte sich jedoch ein ähnliches Expressionsniveau von KLRG1 und CD57 bei der HIV-assoziierten und der sporadischen Form, welches in beiden Gruppen signifikant gegenüber der NDC-Gruppe erhöht war. Der auf Proteinebene beobachtete signifikante Unterschied der beiden Gruppen bei dem Marker KLRG1 konnte hier also nicht bestätigt werden. Weitere Studien mit größeren Fallzahlen sind nötig, um den Unterschied in den Differenzierungsstadien der zytotoxischen T-Zellen zwischen der HIV-IBM und der sIBM zu bekräftigen.

Zusätzlich zu zytotoxischen T-Zellen in fortgeschrittenen Differenzierungsstadien wurden ebenfalls immunmodulatorische Marker wie PD1 und die entsprechenden Liganden untersucht. Bisherige Studien konnten sowohl PD1⁺-Zellen im Muskel bei sIBM-Patient*innen nachweisen als auch eine Färbereaktion bei PD-L2 auf dem Sarkolemm der Fasern (63). In dieser Arbeit konnten wir zahlreiche PD1⁺-Zellen im Muskel sowohl bei der HIV-IBM-Gruppe als auch bei den sIBM-Patient*innen nachweisen. Die Färbungen mit den Liganden zeigte in beiden Gruppen ein ähnliches Bild ohne Färbereaktion bei PD-L1 und einer Anfärbung auf dem Sarkolemm der Muskelfasern und zusätzlich auch Bindegewebszellen bei PD-L2.

Bei der Messung der Genexpression immunregulatorischer Moleküle wurden zusätzlich zum PD1-Signalweg der Membranrezeptor CD244 und der Transkriptionsfaktor TBX21 untersucht. Auch hier zeigte sich ein ähnliches Expressionsniveau bei den HIV-IBM- und sIBM-Patient*innen, welches signifikant im Vergleich zu den nicht betroffenen Kontrollen hochreguliert war.

Insgesamt konnten wir bei Patient*innen mit HIV-IBM im Muskel nur vereinzelt bis keine TEMRA-Zellen nachweisen, während diese in der sIBM-Gruppe signifikant häufiger waren. *KLRG1* und *CD57* lagen in der qPCR auf einem ähnlichen Expressionsniveau wie in der sIBM-Gruppe und waren signifikant gegenüber der NDC-Gruppe hochreguliert. T-Zellen in Erschöpfungsstadien mit PD1-Expression waren bei der HIV-assoziierten und sporadischen IBM in gleichem Ausmaß nachweisbar und machen insgesamt den größten Anteil der zytotoxischen T-Zellen (bezogen auf die gemessenen Marker) aus, was wir mithilfe der Doppelimmunfluoreszenzfärbungen zeigen konnten.

5.4 Fallbeschreibung: HIV-IBM im Verlauf

Die Therapie der Einschlusskörperchenmyositis hat im Verlauf meist keinen Effekt auf die Schwere und das Fortschreiten der Muskelschwäche mit der Konsequenz, dass die meisten Patient*innen nach 5-10 Jahren auf Gehhilfen und nach 10-15 Jahren auf einen Rollstuhl angewiesen sind (22, 26). Eine ähnliche Entwicklung konnten wir auch bei einem IBM-Patienten aus unserer HIV-Kohorte beobachten, von welchem uns eine klinische Verlaufsbeurteilung und eine zweite Muskelbiopsie 12 Jahre nach der initialen Biopsie vorlag. Die HIV-Diagnose wurde 22 Jahre vor der Erstbiopsie gestellt und der Patient ist dem C3 Stadium nach CDC-Klassifikation zuzuordnen. Klinisch zeigte sich eine asymmetrische Muskelschwäche mit Betonung der distalen oberen Extremität und der proximalen unteren Extremität mit zusätzlicher Dysphagie. Sieben Jahre nach der Erstbiopsie benötigte der Patient einen Rollator und nach 12 Jahren war er auf einen Rollstuhl angewiesen. In 9 von 12 Jahren zwischen den Biopsien wurde der Patient mit intravenösen Immunglobulinen therapiert. Es gibt einzelne Berichte, bei denen IVIG zeitweise zu einer leichten Besserung der Kraft und Dysphagie geführt hat, wobei diese Effekte nicht über längere Zeit anhielten (33, 35). Dies bestätigte sich auch bei diesem Patienten mit einem positiven Effekt auf die Schluckstörungen und temporär auf die Muskelkraft sowie einer Absenkung der CK.

Deutlich wurde die Wirkung zusätzlich durch eine klinische Verschlechterung während einer ca. einjährigen Therapiepause. Insgesamt zeigte sich klinisch jedoch eine deutliche Progredienz der Muskelschwäche mit initialen Kraftgraden von 4-5 und im Verlauf nach 12 Jahren Kraftgrade von 2-3 nach MRC-Skala.

Histopathologisch zeigte sich im Vergleich beider Biopsien ein deutlicher Rückgang der inflammatorischen Merkmale wie lymphozytäre Infiltrate und sarkolemmale Färbereaktion mit MHC cl.-I und MHC cl.-II sowie der Komplementaktivierung auf den Fasern. Gleichzeitig zeigten sich bei den degenerativen Merkmalen eine deutliche Zunahme des endomysialen Binde- und Fettgewebes und keine Veränderungen bei der mitochondrialen Schädigung oder der Anzahl der geänderten Vakuolen, während bei der Färbereaktion mit dem Autophagiemarker p62 ein leichter Rückgang zu beobachten war. Die Besserung der inflammatorischen Veränderungen könnte auf die IVIG-Therapie zurückzuführen sein. In bisherigen Studien konnte bei sIBM-Patient*innen nach 3-monatiger IVIG-Therapie eine Reduktion von endomysialen T-Zellen in der Muskelhistologie festgestellt werden, wobei andere Merkmale unverändert blieben (54, 55). Bei Patient*innen mit DM konnte im Gegensatz zur sIBM eine signifikante Besserung der Kraft und der CK-Spiegel mit ebenfalls signifikanter Verbesserung der Muskelzellarchitektur, Reduktion der Inflammation und Verschwinden von Komplementablagerungen als histologisches Korrelat durch IVIG gezeigt werden (50-52). Es scheint Überschneidungen zwischen den histologischen Effekten nach IVIG-Therapie bei der DM und IBM wie eine Reduktion der Inflammation und der Komplementablagerungen zu geben, welche wir auch bei diesem Patienten beobachten konnten. Jedoch bleibt der klinische Effekt bei der IBM sehr begrenzt und zeigt sich bei einzelnen Patient*innen lediglich in einer temporären Besserung bzw. Stabilisierung der Symptomatik. Die bisherigen Beobachtungsstudien für den Effekt von IVIG mit Verlaufsbiopsien beurteilen einen sehr kurzen Zeitraum von wenigen Monaten (55). Mit dieser Fallbeschreibung konnten wir einen Vergleich zu einer zweiten Biopsie nach einem deutlich längeren Krankheitsverlauf von 12 Jahren darstellen. Klinisch zeigten sich bei diesem Patienten lediglich eine temporäre Besserung der Kraft und der Dysphagie. Trotzdem fiel bei einer Therapiepause von 14 Monaten eine deutliche Verschlechterung der Kraft auf, was darauf hindeutet, dass IVIG bei manchen IBM-Patient*innen eine zumindest vorübergehende stabilisierende Wirkung hat, wobei der Krankheitsverlauf auch bei diesem Patienten trotz jahrelanger IVIG-Therapie progredient war.

Es ist zu ergänzen, dass die Therapie erst drei Jahre nach Diagnosestellung und fünf Jahre nach Symptombeginn begonnen wurde. Möglicherweise hat der Zeitpunkt des Therapiebeginns ebenfalls einen Einfluss auf den Verlauf und ein frühzeitiger Therapiebeginn könnte sich günstig auf die weitere Krankheitsprogredienz auswirken.

Auf Genexpressionsebene zeigte sich in der initialen Biopsie (mit Ausnahme von CD57) eine stärkere Hochregulation bei Markern mit Assoziation zu T-Zellseneszenz und -erschöpfung im Vergleich zur Verlaufsbiopsie. Unter IVIG-Therapie scheint sich die Genexpression sowohl von Molekülen, die mit hochdifferenzierten zytotoxischen T-Zellen assoziiert sind wie KLRG1, als auch von immunmodulatorischen Molekülen wie dem PD1-Signalweg zu reduzieren. Dies passt zu dem histologischen Befund von deutlich weniger zytotoxischer T-Zellen in der Verlaufsbiopsie. Inwiefern dies auf die Therapie zurückzuführen ist, oder dem natürlichen Krankheitsverlauf geschuldet ist, bleibt jedoch unklar.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass sich die HIV-IBM bei diesem Patienten unter IVIG-Therapie chronisch progredient entwickelte, wobei sich morphologisch eine deutliche Verbesserung inflammatorischer Merkmale und eine Stagnation bzw. Verschlechterung degenerativer Merkmale feststellen ließ. Da es seit einigen Jahren auch Therapieansätze für degenerative Signalwege gibt, könnte eine Kombinationstherapie beider Therapieansätze hilfreich sein. Eine Studie mit Kombination von Follistatin-Gentherapie, Prednison und Krafttraining zeigte eine Besserung im klinischen Outcome in Form einer Steigerung der Gehstrecke im 6 Minuten Gehstest nach einem Jahr und zusätzlich eine Verringerung der Inflammation, eine Normalisierung der Fasergröße und -verteilung sowie eine Reduktion von endomysialem Bindegewebe (47). Jedoch bleiben auch in dieser Studien Ergebnisse zum Langzeitverlauf offen.

5.5 Fazit und Ausblick

In unserer Studie wurden HIV-Infizierte mit Myositis anhand von Skelettmuskelbiopsien mit konventionell histologischen und immunhistochemischen Färbungen charakterisiert sowie mithilfe retrospektiver Daten klinisch beschrieben. Ergänzend zu bisherigen Arbeiten konnte hier ein breites histologisches Spektrum HIV-assoziiertes Myositiden gezeigt werden mit Nachweis von IBM, PM-Mito, IMNM sowie unspezifischen Myositis-Formen inklusive Patient*innen mit Kombination einer milden endomysialen Myositis und milder mitochondrialer Pathologie, welche in bisherige Myositis-Klassifikationen wie den ENMC-Kriterien (5) nicht eingeordnet werden können. Stärken dieser Studie sind dabei die Kombination zahlreicher klinischer Merkmale sowohl zur HIV-Geschichte als auch zu muskelspezifischen Merkmalen mit einer umfangreichen histomorphologischen und immunologischen Charakterisierung. Einschränkend ist jedoch zu sagen, dass aufgrund der retrospektiven Erhebung der klinischen Daten nicht alle Informationen vollständig waren. Es wurde eine ausführliche histologische Auswertung mit über 20 Parametern durchgeführt. Zusätzlich wurde mit Methoden wie LCOs zum Nachweis von Amyloid Ablagerungen gearbeitet, welche in ähnlichen Studien bisher wenig verwendet wurden. Diese erwiesen sich bei der IBM als sensitiver im Vergleich zu konventionellen Amyloid-Liganden wie Kongorot.

In einem zweiten Teil wurden die HIV-assoziierte und die sporadische Form der IBM klinisch, histologisch und molekulargenetisch verglichen. Bei der HIV-assoziierten IBM zeigte sich ein signifikant jüngeres Erkrankungsalter, was Ergebnisse vorheriger Studien bestätigt. Zusätzlich konnten wir einen kürzeren Zeitraum zwischen Symptombeginn und Biopsie bei den HIV-Patient*innen feststellen. Da sich histopathologisch insgesamt die Schwere der Muskelschädigung in beiden Gruppen als ähnlich erwies, könnte dies ein Hinweis auf eine schnellere Krankheitsprogression bei HIV-Infizierten sein. Mittels immunhistochemischer Färbungen und quantitativer PCR wurden Differenzierungsstadien und immunmodulatorische Moleküle bei zytotoxischen T-Zellen untersucht. Hochdifferenzierte zytotoxische T-Zellen mit Expression von KLRG1 und CD57 konnten wir in der Skelettmuskulatur bei Patient*innen mit HIV-IBM jedoch nur vereinzelt bzw. gar nicht nachweisen, während KLRG1⁺-Zellen signifikant häufiger bei sIBM-Patient*innen detektiert werden konnten.

Möglicherweise besteht hier ein Zusammenhang zwischen dem längeren Krankheitsverlauf und dem größeren Anteil an TEMRA-Zellen bei Patient*innen mit sIBM, da der Anteil an hochdifferenzierten zytotoxischen T-Zellen mit fortgeschrittener Krankheitsdauer zunimmt (64). Sog. „erschöpfte“ T-Zellen waren dagegen bei der HIV-IBM ebenso wie bei der sIBM zahlreich nachweisbar. Auf Genexpressionsebene zeigte sich sowohl bei Differenzierungsmarkern als auch bei immunmodulatorischen Molekülen ein ähnliches Expressionsniveau bei der HIV-assoziierten und der sporadischen IBM, welches signifikant gegenüber den Normalkontrollen hochreguliert war. Um diesen immunhistochemisch von uns nachgewiesenen Unterschied in Differenzierungsstadien der zytotoxischen T-Zellen zwischen HIV-IBM und sIBM zu bekräftigen, werden weitere Studien mit größeren Fallzahlen benötigt, da sich in unseren Analysen interessante Trends zeigten. Limitierende Faktoren für den Vergleich der HIV-assoziierten und sporadischen IBM waren geringe Fallzahlen mit jeweils lediglich sieben Patient*innen pro Gruppe. Daher und aufgrund teilweise unvollständiger klinischer Daten konnten oft nur Tendenzen abgeleitet werden und eine Korrelation von klinischem Outcome zu histopathologischen Merkmalen war nicht möglich. Zusätzlich besteht bei der verwendeten Methode zur Quantifizierung der Zellzahlen pro Gesichtsfeld ein gewisser Unsicherheitsbereich, da der Durchschnitt aus 10 Gesichtsfeldern gebildet wurde und dabei mögliche Cluster von Infiltraten theoretisch übersehen werden könnten.

Zusammenfassend bietet unsere Arbeit fundamentale Einblicke in das Spektrum der HIV-assoziierten Myositiden und trägt insbesondere zum weiteren Verständnis der Pathogenese der IBM und den Besonderheiten der HIV-assoziierten Form bei. Insgesamt gibt es viele Ähnlichkeiten der HIV-IBM im Vergleich zur sporadischen Form. Die Unterschiede bei Erkrankungsalter, -verlauf und Differenzierungsstadien zytotoxischer T-Zellen könnten jedoch relevant für mögliche Therapieansätze sein.

6 Literaturverzeichnis

1. Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts). *N Engl J Med.* 1975;292(7):344-7.
2. Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (second of two parts). *N Engl J Med.* 1975;292(8):403-7.
3. Yunis EJ, Samaha FJ. Inclusion body myositis. *Lab Invest.* 1971;25(3):240-8.
4. Smith B. Skeletal muscle necrosis associated with cainoma. *J Pathol.* 1969;97(2):207-10.
5. Hoogendijk JE, Amato AA, Lecky BR, Choy EH, Lundberg IE, Rose MR, Vencovsky J, de Visser M, Hughes RA. 119th ENMC international workshop: trial design in adult idiopathic inflammatory myopathies, with the exception of inclusion body myositis, 10-12 October 2003, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord.* 2004;14(5):337-45.
6. Griggs RC, Askanas V, DiMauro S, Engel A, Karpati G, Mendell JR, Rowland LP. Inclusion body myositis and myopathies. *Ann Neurol.* 1995;38(5):705-13.
7. Benveniste O, Stenzel W, Allenbach Y. Advances in serological diagnostics of inflammatory myopathies. *Curr Opin Neurol.* 2016;29(5):662-73.
8. Zampeli E, Venetsanopoulou A, Argyropoulou OD, Mavragani CP, Tektonidou MG, Vlachoyiannopoulos PG, Tzioufas AG, Skopouli FN, Moutsopoulos HM. Myositis autoantibody profiles and their clinical associations in Greek patients with inflammatory myopathies. *Clin Rheumatol.* 2019;38(1):125-32.
9. Mariampillai K, Granger B, Amelin D, Guiguet M, Hachulla E, Maurier F, Meyer A, Tohmé A, Charuel JL, Musset L, Allenbach Y, Benveniste O. Development of a New Classification System for Idiopathic Inflammatory Myopathies Based on Clinical Manifestations and Myositis-Specific Autoantibodies. *JAMA Neurol.* 2018;75(12):1528-37.
10. Gunawardena H. The Clinical Features of Myositis-Associated Autoantibodies: a Review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2017;52(1):45-57.
11. Rigolet A, Musset L, Dubourg O, Maisonobe T, Grenier P, Charuel JL, Behin A, Herson S, Amoura Z, Benveniste O. Inflammatory myopathies with anti-Ku antibodies: a prognosis dependent on associated lung disease. *Medicine (Baltimore).* 2012;91(2):95-102.
12. De Lorenzo R, Pinal-Fernandez I, Huang W, Albayda J, Tiniakou E, Johnson C, Milisenda JC, Casal-Dominguez M, Corse AM, Danoff SK, Christopher-Stine L, Paik JJ, Mammen AL. Muscular and extramuscular clinical features of patients with anti-PM/Scl autoantibodies. *Neurology.* 2018;90(23):e2068-e76.
13. Casal-Dominguez M, Pinal-Fernandez I, Corse AM, Paik J, Albayda J, Casciola-Rosen L, Johnson C, Danoff SK, Christopher-Stine L, Tiniakou E, Mammen AL. Muscular and extramuscular features of myositis patients with anti-U1-RNP autoantibodies. *Neurology.* 2019;92(13):e1416-e26.
14. Allenbach Y, Mammen AL, Benveniste O, Stenzel W, Group I-MNMW. 224th ENMC International Workshop:: Clinico-sero-pathological classification of immune-mediated necrotizing myopathies Zandvoort, The Netherlands, 14-16 October 2016. *Neuromuscul Disord.* 2018;28(1):87-99.
15. Tanboon J, Uruha A, Stenzel W, Nishino I. Where are we moving in the classification of idiopathic inflammatory myopathies? *Curr Opin Neurol.* 2020;33(5):590-603.
16. Mammen AL, Allenbach Y, Stenzel W, Benveniste O, Group EtWS. 239th ENMC International Workshop: Classification of dermatomyositis, Amsterdam, the Netherlands, 14-16 December 2018. *Neuromuscul Disord.* 2020;30(1):70-92.

17. Papadimas GK, Kokkinis C, Xirou S, Chrysanthou M, Kararizou E, Papadopoulos C. Polymyositis with mitochondrial pathology or atypical form of sporadic inclusion body myositis: case series and review of the literature. *Rheumatol Int.* 2019;39(8):1459-66.
18. Blume G, Pestronk A, Frank B, Johns DR. Polymyositis with cytochrome oxidase negative muscle fibres. Early quadriceps weakness and poor response to immunosuppressive therapy. *Brain.* 1997;120 (Pt 1):39-45.
19. Temiz P, Weiher CC, Pestronk A. Inflammatory myopathies with mitochondrial pathology and protein aggregates. *J Neurol Sci.* 2009;278(1-2):25-9.
20. Hiniker A, Daniels BH, Lee HS, Margeta M. Comparative utility of LC3, p62 and TDP-43 immunohistochemistry in differentiation of inclusion body myositis from polymyositis and related inflammatory myopathies. *Acta Neuropathol Commun.* 2013;1:29.
21. Brady S, Squier W, Sewry C, Hanna M, Hilton-Jones D, Holton JL. A retrospective cohort study identifying the principal pathological features useful in the diagnosis of inclusion body myositis. *BMJ Open.* 2014;4(4):e004552.
22. Catalán M, Selva-O'Callaghan A, Grau JM. Diagnosis and classification of sporadic inclusion body myositis (sIBM). *Autoimmun Rev.* 2014;13(4-5):363-6.
23. DGN. Myositissyndrome - Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. (S2k-Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie) 2015 [Stand: 20.09.2021]. Abrufbar unter: https://dgn.org/wp-content/uploads/2013/01/030-054l_S2k_Myositissyndrome_2015-08-verlaengert.pdf.
24. Rose MR, Group EIW. 188th ENMC International Workshop: Inclusion Body Myositis, 2-4 December 2011, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord.* 2013;23(12):1044-55.
25. Kramp SL, Karayev D, Shen G, Metzger AL, Morris RI, Karayev E, Lam Y, Kazdan RM, Pruijn GJ, Saschenbrecker S, Dähnrich C, Schlumberger W. Development and evaluation of a standardized ELISA for the determination of autoantibodies against cN-1A (Mup44, NT5C1A) in sporadic inclusion body myositis. *Auto Immun Highlights.* 2016;7(1):16.
26. Greenberg SA. Inclusion body myositis: clinical features and pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol.* 2019;15(5):257-72.
27. Lilleker JB, Rietveld A, Pye SR, Mariampillai K, Benveniste O, Peeters MT, Miller JA, Hanna MG, Machado PM, Parton MJ, Gheorghe KR, Badrising UA, Lundberg IE, Sacconi S, Herbert MK, McHugh NJ, Lecky BR, Brierley C, Hilton-Jones D, Lamb JA, Roberts ME, Cooper RG, Saris CG, Pruijn GJ, Chinoy H, van Engelen BG, contributors aU. Cytosolic 5'-nucleotidase 1A autoantibody profile and clinical characteristics in inclusion body myositis. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(5):862-8.
28. Lassche S, Küsters B, Heerschap A, Schyns MVP, Ottenheijm CAC, Voermans NC, van Engelen BGM. Correlation Between Quantitative MRI and Muscle Histopathology in Muscle Biopsies from Healthy Controls and Patients with IBM, FSHD and OPMD. *J Neuromuscul Dis.* 2020;7(4):495-504.
29. Carstens PO, Schmidt J. Diagnosis, pathogenesis and treatment of myositis: recent advances. *Clin Exp Immunol.* 2014;175(3):349-58.
30. Benveniste O, Guiguet M, Freebody J, Dubourg O, Squier W, Maisonobe T, Stojkovic T, Leite MI, Allenbach Y, Herson S, Brady S, Eymard B, Hilton-Jones D. Long-term observational study of sporadic inclusion body myositis. *Brain.* 2011;134(Pt 11):3176-84.
31. Leff RL, Miller FW, Hicks J, Fraser DD, Plotz PH. The treatment of inclusion body myositis: a retrospective review and a randomized, prospective trial of immunosuppressive therapy. *Medicine (Baltimore).* 1993;72(4):225-35.

32. Dalakas MC, Sonies B, Dambrosia J, Sekul E, Cupler E, Sivakumar K. Treatment of inclusion-body myositis with IVIg: a double-blind, placebo-controlled study. *Neurology*. 1997;48(3):712-6.
33. Walter MC, Lochmüller H, Toepfer M, Schlotter B, Reilich P, Schröder M, Müller-Felber W, Pongratz D. High-dose immunoglobulin therapy in sporadic inclusion body myositis: a double-blind, placebo-controlled study. *J Neurol*. 2000;247(1):22-8.
34. Badrising UA, Maat-Schieman ML, Ferrari MD, Zwinderman AH, Wessels JA, Breedveld FC, van Doorn PA, van Engelen BG, Hoogendijk JE, Höweler CJ, de Jager AE, Jennekens FG, Koehler PJ, de Visser M, Viddeleer A, Verschuuren JJ, Wintzen AR. Comparison of weakness progression in inclusion body myositis during treatment with methotrexate or placebo. *Ann Neurol*. 2002;51(3):369-72.
35. Dobloug C, Walle-Hansen R, Gran JT, Molberg Ø. Long-term follow-up of sporadic inclusion body myositis treated with intravenous immunoglobulin: a retrospective study of 16 patients. *Clin Exp Rheumatol*. 2012;30(6):838-42.
36. Cherin P, Pelletier S, Teixeira A, Laforet P, Simon A, Herson S, Eymard B. Intravenous immunoglobulin for dysphagia of inclusion body myositis. *Neurology*. 2002;58(2):326.
37. Lindberg C, Trysberg E, Tarkowski A, Oldfors A. Anti-T-lymphocyte globulin treatment in inclusion body myositis: a randomized pilot study. *Neurology*. 2003;61(2):260-2.
38. Barohn RJ, Herbelin L, Kissel JT, King W, McVey AL, Saperstein DS, Mendell JR. Pilot trial of etanercept in the treatment of inclusion-body myositis. *Neurology*. 2006;66(2 Suppl 1):S123-4.
39. Dalakas MC, Rakocevic G, Schmidt J, Salajegheh M, McElroy B, Harris-Love MO, Shrader JA, Levy EW, Dambrosia J, Kampen RL, Bruno DA, Kirk AD. Effect of Alemtuzumab (CAMPATH 1-H) in patients with inclusion-body myositis. *Brain*. 2009;132(Pt 6):1536-44.
40. Group MS. Randomized pilot trial of high-dose beta1NF-1a in patients with inclusion body myositis. *Neurology*. 2004;63(4):718-20.
41. Kosmidis ML, Alexopoulos H, Tzioufas AG, Dalakas MC. The effect of anakinra, an IL1 receptor antagonist, in patients with sporadic inclusion body myositis (sIBM): a small pilot study. *J Neurol Sci*. 2013;334(1-2):123-5.
42. Ahmed M, Machado PM, Miller A, Spicer C, Herbelin L, He J, Noel J, Wang Y, McVey AL, Pasnoor M, Gallagher P, Statland J, Lu CH, Kalmar B, Brady S, Sethi H, Samandouras G, Parton M, Holton JL, Weston A, Collinson L, Taylor JP, Schiavo G, Hanna MG, Barohn RJ, Dimachkie MM, Greensmith L. Targeting protein homeostasis in sporadic inclusion body myositis. *Sci Transl Med*. 2016;8(331):331ra41.
43. A/S O. Orphazyme announces topline results from pivotal trial of arimoclomol for Inclusion Body Myositis (IBM) 2021 [Stand: 20.04.2022]. Abrufbar unter: <https://tools.eurolandir.com/tools/Pressreleases/GetPressRelease/?ID=3890677&lang=en-GB&companycode=dk-orpha&v=>.
44. Amato AA, Sivakumar K, Goyal N, David WS, Salajegheh M, Praestgaard J, Lach-Trifilieff E, Trendelenburg AU, Laurent D, Glass DJ, Roubenoff R, Tseng BS, Greenberg SA. Treatment of sporadic inclusion body myositis with bimagrumab. *Neurology*. 2014;83(24):2239-46.
45. Amato AA, Hanna MG, Machado PM, Badrising UA, Chinoy H, Benveniste O, Karanam AK, Wu M, Tankó LB, Schubert-Tennigkeit AA, Papanicolaou DA, Lloyd TE, Needham M, Liang C, Reardon KA, de Visser M, Ascherman DP, Barohn RJ, Dimachkie MM, Miller JAL, Kissel JT, Oskarsson B, Joyce NC, Van den Bergh P, Baets J, De Bleeker JL, Karam C, David WS, Mirabella M, Nations SP, Jung HH, Pegoraro E, Maggi L, Rodolico C, Filosto M, Shaibani AI, Sivakumar K, Goyal NA, Mori-

- Yoshimura M, Yamashita S, Suzuki N, Aoki M, Katsuno M, Morihata H, Murata K, Nodera H, Nishino I, Romano CD, Williams VSL, Vissing J, Zhang Auberson L, Group RSE. Efficacy and Safety of Bimagrumab in Sporadic Inclusion Body Myositis: Long-term Extension of RESILIENT. *Neurology*. 2021;96(12):e1595-e607.
46. Rutkove SB, Parker RA, Nardin RA, Connolly CE, Felice KJ, Raynor EM. A pilot randomized trial of oxandrolone in inclusion body myositis. *Neurology*. 2002;58(7):1081-7.
47. Mendell JR, Sahenk Z, Al-Zaidy S, Rodino-Klapac LR, Lowes LP, Alfano LN, Berry K, Miller N, Yalvac M, Dvorchik I, Moore-Clingenpeel M, Flanigan KM, Church K, Shontz K, Curry C, Lewis S, McColly M, Hogan MJ, Kaspar BK. Follistatin Gene Therapy for Sporadic Inclusion Body Myositis Improves Functional Outcomes. *Mol Ther*. 2017;25(4):870-9.
48. Lünemann JD, Nimmerjahn F, Dalakas MC. Intravenous immunoglobulin in neurology--mode of action and clinical efficacy. *Nat Rev Neurol*. 2015;11(2):80-9.
49. Dalakas MC. Therapeutic approaches in patients with inflammatory myopathies. *Semin Neurol*. 2003;23(2):199-206.
50. Dalakas MC, Illa I, Dambrosia JM, Soueidan SA, Stein DP, Otero C, Dinsmore ST, McCrosky S. A controlled trial of high-dose intravenous immune globulin infusions as treatment for dermatomyositis. *N Engl J Med*. 1993;329(27):1993-2000.
51. Miyasaka N, Hara M, Koike T, Saito E, Yamada M, Tanaka Y, Group G-S. Effects of intravenous immunoglobulin therapy in Japanese patients with polymyositis and dermatomyositis resistant to corticosteroids: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Mod Rheumatol*. 2012;22(3):382-93.
52. Basta M, Dalakas MC. High-dose intravenous immunoglobulin exerts its beneficial effect in patients with dermatomyositis by blocking endomysial deposition of activated complement fragments. *J Clin Invest*. 1994;94(5):1729-35.
53. Raju R, Dalakas MC. Gene expression profile in the muscles of patients with inflammatory myopathies: effect of therapy with IVIg and biological validation of clinically relevant genes. *Brain*. 2005;128(Pt 8):1887-96.
54. Dalakas MC. Mechanistic effects of IVIg in neuroinflammatory diseases: conclusions based on clinicopathologic correlations. *J Clin Immunol*. 2014;34 Suppl 1:S120-6.
55. Zschüntzsch J, Voss J, Creus K, Sehmisch S, Raju R, Dalakas MC, Schmidt J. Provision of an explanation for the inefficacy of immunotherapy in sporadic inclusion body myositis: quantitative assessment of inflammation and β -amyloid in the muscle. *Arthritis Rheum*. 2012;64(12):4094-103.
56. Benveniste O, Goebel HH, Stenzel W. Biomarkers in Inflammatory Myopathies- An Expanded Definition. *Front Neurol*. 2019;10:554.
57. Klingstedt T, Blechschmidt C, Nogalska A, Prokop S, Häggqvist B, Danielsson O, Engel WK, Askanas V, Heppner FL, Nilsson KP. Luminescent conjugated oligothiophenes for sensitive fluorescent assignment of protein inclusion bodies. *Chembiochem*. 2013;14(5):607-16.
58. Benveniste O, Allenbach Y. Inclusion body myositis: accumulation of evidence for its autoimmune origin. *Brain*. 2019;142(9):2549-51.
59. Hedberg-Oldfors C, Lindgren U, Basu S, Visuttijai K, Lindberg C, Falkenberg M, Larsson Lekholm E, Oldfors A. Mitochondrial DNA variants in inclusion body myositis characterized by deep sequencing. *Brain Pathol*. 2021;31(3):e12931.
60. Naddaf E, Barohn RJ, Dimachkie MM. Inclusion Body Myositis: Update on Pathogenesis and Treatment. *Neurotherapeutics*. 2018;15(4):995-1005.
61. Strioga M, Pasukoniene V, Characiejus D. CD8+ CD28- and CD8+ CD57+ T cells and their role in health and disease. *Immunology*. 2011;134(1):17-32.

62. Greenberg SA, Pinkus JL, Kong SW, Baecher-Allan C, Amato AA, Dorfman DM. Highly differentiated cytotoxic T cells in inclusion body myositis. *Brain*. 2019;142(9):2590-604.
63. Knauss S, Preusse C, Allenbach Y, Leonard-Louis S, Touat M, Fischer N, Radbruch H, Mothes R, Matyash V, Böhmerle W, Endres M, Goebel HH, Benveniste O, Stenzel W. PD1 pathway in immune-mediated myopathies: Pathogenesis of dysfunctional T cells revisited. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2019;6(3):e558.
64. Goyal NA, Coulis G, Duarte J, Farahat PK, Mannaa AH, Cauchii J, Irani T, Araujo N, Wang L, Wencel M, Li V, Zhang L, Greenberg SA, Mozaffar T, Villalta SA. Immunophenotyping of Inclusion Body Myositis Blood T and NK Cells. *Neurology*. 2022;98(13):e1374-e83.
65. Ibegbu CC, Xu YX, Harris W, Maggio D, Miller JD, Kourtis AP. Expression of killer cell lectin-like receptor G1 on antigen-specific human CD8+ T lymphocytes during active, latent, and resolved infection and its relation with CD57. *J Immunol*. 2005;174(10):6088-94.
66. Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, Weisman JD, Fan PT, Wolf RA, Saxon A. *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med*. 1981;305(24):1425-31.
67. Masur H, Michelis MA, Greene JB, Onorato I, Stouwe RA, Holzman RS, Wormser G, Brettman L, Lange M, Murray HW, Cunningham-Rundles S. An outbreak of community-acquired *Pneumocystis carinii* pneumonia: initial manifestation of cellular immune dysfunction. *N Engl J Med*. 1981;305(24):1431-8.
68. Siegal FP, Lopez C, Hammer GS, Brown AE, Kornfeld SJ, Gold J, Hassett J, Hirschman SZ, Cunningham-Rundles C, Adelsberg BR. Severe acquired immunodeficiency in male homosexuals, manifested by chronic perianal ulcerative herpes simplex lesions. *N Engl J Med*. 1981;305(24):1439-44.
69. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C, Axler-Blin C, Vézinet-Brun F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 1983;220(4599):868-71.
70. Fischl MA, Richman DD, Grieco MH, Gottlieb MS, Volberding PA, Laskin OL, Leedom JM, Groopman JE, Mildvan D, Schooley RT. 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(4):185-91.
71. Hammer SM, Katzenstein DA, Hughes MD, Gundacker H, Schooley RT, Haubrich RH, Henry WK, Lederman MM, Phair JP, Niu M, Hirsch MS, Merigan TC. A trial comparing nucleoside monotherapy with combination therapy in HIV-infected adults with CD4 cell counts from 200 to 500 per cubic millimeter. AIDS Clinical Trials Group Study 175 Study Team. *N Engl J Med*. 1996;335(15):1081-90.
72. Kirk O, Mocroft A, Katzenstein TL, Lazzarin A, Antunes F, Francioli P, Brettle RP, Parkin JM, Gonzales-Lahoz J, Lundgren JD. Changes in use of antiretroviral therapy in regions of Europe over time. EuroSIDA Study Group. *AIDS*. 1998;12(15):2031-9.
73. Carr A, Miller J, Law M, Cooper DA. A syndrome of lipoatrophy, lactic acidemia and liver dysfunction associated with HIV nucleoside analogue therapy: contribution to protease inhibitor-related lipodystrophy syndrome. *AIDS*. 2000;14(3):F25-32.
74. El-Sadr WM, Lundgren J, Neaton JD, Gordin F, Abrams D, Arduino RC, Babiker A, Burman W, Clumeck N, Cohen CJ, Cohn D, Cooper D, Darbyshire J, Emery S, Fätkenheuer G, Gazzard B, Grund B, Hoy J, Klingman K, Losso M, Markowitz N,

- Neuhaus J, Phillips A, Rappoport C, Group SfMoATSS. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *N Engl J Med.* 2006;355(22):2283-96.
75. Lundgren JD, Babiker AG, Gordin F, Emery S, Grund B, Sharma S, Avihingsanon A, Cooper DA, Fätkenheuer G, Llibre JM, Molina JM, Munderi P, Schechter M, Wood R, Klingman KL, Collins S, Lane HC, Phillips AN, Neaton JD, Group ISS. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *N Engl J Med.* 2015;373(9):795-807.
76. Teeraananchai S, Kerr SJ, Amin J, Ruxrungtham K, Law MG. Life expectancy of HIV-positive people after starting combination antiretroviral therapy: a meta-analysis. *HIV Med.* 2017;18(4):256-66.
77. Zicari S, Sessa L, Cotugno N, Ruggiero A, Morrocchi E, Concato C, Rocca S, Zangari P, Manno EC, Palma P. Immune Activation, Inflammation, and Non-AIDS Co-Morbidities in HIV-Infected Patients under Long-Term ART. *Viruses.* 2019;11(3).
78. WHO. Number of new HIV infections (Estimates by World Health Organization region) 2021 [Stand: 27.09.2021]. Abrufbar unter: <https://apps.who.int/gho/data/node.main.HIVINCIDENCE?lang=en>.
79. UNAIDS. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS: 90–90–90 - An ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic 2014 [Stand: 27.09.2021]. Abrufbar unter: <https://www.unaids.org/en/resources/909090>.
80. UNAIDS. Global HIV statistics 2021 [Stand: 27.09.2021]. Abrufbar unter: <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>.
81. RKI. HIV im Jahr 2019 in Deutschland: Neuinfektionen und Gesamtkrankheitslast (Epidemiologisches Bulletin des Robert-Koch-Instituts) 2020 [Stand: 27.09.2021]. Abrufbar unter: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2020/Ausgaben/48_20.pdf?__blob=publicationFile.
82. Hoenigl M, Green N, Camacho M, Gianella S, Mehta SR, Smith DM, Little SJ. Signs or Symptoms of Acute HIV Infection in a Cohort Undergoing Community-Based Screening. *Emerg Infect Dis.* 2016;22(3):532-4.
83. Hecht FM, Busch MP, Rawal B, Webb M, Rosenberg E, Swanson M, Chesney M, Anderson J, Levy J, Kahn JO. Use of laboratory tests and clinical symptoms for identification of primary HIV infection. *AIDS.* 2002;16(8):1119-29.
84. Robb ML, Eller LA, Kibuuka H, Rono K, Maganga L, Nitayaphan S, Kroon E, Sawe FK, Sinei S, Sriplienchan S, Jagodzinski LL, Malia J, Manak M, de Souza MS, Tovanabuttra S, Sanders-Buell E, Rolland M, Dorsey-Spitz J, Eller MA, Milazzo M, Li Q, Lewandowski A, Wu H, Swann E, O'Connell RJ, Peel S, Dawson P, Kim JH, Michael NL, Team RS. Prospective Study of Acute HIV-1 Infection in Adults in East Africa and Thailand. *N Engl J Med.* 2016;374(22):2120-30.
85. Mindel A, Tenant-Flowers M. ABC of AIDS: Natural history and management of early HIV infection. *BMJ.* 2001;322(7297):1290-3.
86. From the Centers for Disease Control and prevention. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *JAMA.* 1993;269(4):460.
87. Brites-Alves C, Luz E, Netto EM, Ferreira T, Diaz RS, Pedroso C, Page K, Brites C. Immune Activation, Proinflammatory Cytokines, and Conventional Risks for Cardiovascular Disease in HIV Patients: A Case-Control Study in Bahia, Brazil. *Front Immunol.* 2018;9:1469.
88. Zevin AS, McKinnon L, Burgener A, Klatt NR. Microbial translocation and microbiome dysbiosis in HIV-associated immune activation. *Curr Opin HIV AIDS.* 2016;11(2):182-90.

89. Sokoya T, Steel HC, Nieuwoudt M, Rossouw TM. HIV as a Cause of Immune Activation and Immunosenescence. *Mediators Inflamm.* 2017;2017:6825493.
90. Deeks SG, Verdin E, McCune JM. Immunosenescence and HIV. *Curr Opin Immunol.* 2012;24(4):501-6.
91. Wright EJ, Thakur KT, Bearden D, Birbeck GL. Global developments in HIV neurology. *Handb Clin Neurol.* 2018;152:265-87.
92. Robinson-Papp J, Simpson DM. Neuromuscular diseases associated with HIV-1 infection. *Muscle Nerve.* 2009;40(6):1043-53.
93. Morgello S, Estanislao L, Simpson D, Geraci A, DiRocco A, Gerits P, Ryan E, Yakoushina T, Khan S, Mahboob R, Naseer M, Dorfman D, Sharp V, Bank MHB. HIV-associated distal sensory polyneuropathy in the era of highly active antiretroviral therapy: the Manhattan HIV Brain Bank. *Arch Neurol.* 2004;61(4):546-51.
94. Omeragic A, Kayode O, Hoque MT, Bendayan R. Potential pharmacological approaches for the treatment of HIV-1 associated neurocognitive disorders. *Fluids Barriers CNS.* 2020;17(1):42.
95. Saylor D, Dickens AM, Sacktor N, Haughey N, Slusher B, Pletnikov M, Mankowski JL, Brown A, Volsky DJ, McArthur JC. HIV-associated neurocognitive disorder - pathogenesis and prospects for treatment. *Nat Rev Neurol.* 2016;12(5):309.
96. McArthur JC, Brew BJ. HIV-associated neurocognitive disorders: is there a hidden epidemic? *AIDS.* 2010;24(9):1367-70.
97. Hahn K, Maschke M. Diagnostik und Therapie HIV-1-assoziierter neurologischer Erkrankungen - Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. (S1-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie) 2020 [Stand: 03.10.2021]. Abrufbar unter: https://dgn.org/wp-content/uploads/2021/02/030044_LL_HIV_2021.pdf.
98. Valcour V, Shikuma C, Shiramizu B, Watters M, Poff P, Selnes O, Holck P, Grove J, Sacktor N. Higher frequency of dementia in older HIV-1 individuals: the Hawaii Aging with HIV-1 Cohort. *Neurology.* 2004;63(5):822-7.
99. Smail RC, Brew BJ. HIV-associated neurocognitive disorder. *Handb Clin Neurol.* 2018;152:75-97.
100. Antinori A, Arendt G, Becker JT, Brew BJ, Byrd DA, Cherner M, Clifford DB, Cinque P, Epstein LG, Goodkin K, Gisslen M, Grant I, Heaton RK, Joseph J, Marder K, Marra CM, McArthur JC, Nunn M, Price RW, Pulliam L, Robertson KR, Sacktor N, Valcour V, Wojna VE. Updated research nosology for HIV-associated neurocognitive disorders. *Neurology.* 2007;69(18):1789-99.
101. Casademont J, Barrientos A, Grau JM, Pedrol E, Estivill X, Urbano-Márquez A, Nunes V. The effect of zidovudine on skeletal muscle mtDNA in HIV-1 infected patients with mild or no muscle dysfunction. *Brain.* 1996;119 (Pt 4):1357-64.
102. Landon-Cardinal O, Gallay L, Dubourg O, Maisonobe T, Léonard-Louis S, Beniken D, Simon A, Behin A, Stojkovic T, Duyckaerts C, Breton G, Rigolet A, Fain O, Meyohas MC, Leport C, Valantin MA, Vittecoq D, Bergmann JF, Hanslik T, Chauveheid MP, Amoura Z, de Broucker T, Eymard B, Beaudequin N, Benveniste O, Allenbach Y. Expanding the spectrum of HIV-associated myopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2019.
103. Carroll MB, Holmes R. Dermatomyositis and HIV infection: case report and review of the literature. *Rheumatol Int.* 2011;31(5):673-9.
104. Cupler EJ, Leon-Monzon M, Miller J, Semino-Mora C, Anderson TL, Dalakas MC. Inclusion body myositis in HIV-1 and HTLV-1 infected patients. *Brain.* 1996;119 (Pt 6):1887-93.

105. Dalakas MC, Rakocevic G, Shatunov A, Goldfarb L, Raju R, Salajegheh M. Inclusion body myositis with human immunodeficiency virus infection: four cases with clonal expansion of viral-specific T cells. *Ann Neurol*. 2007;61(5):466-75.
106. Hiniker A, Daniels BH, Margeta M. T-Cell-Mediated Inflammatory Myopathies in HIV-Positive Individuals: A Histologic Study of 19 Cases. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2016;75(3):239-45.
107. Lloyd TE, Pinal-Fernandez I, Michelle EH, Christopher-Stine L, Pak K, Sacktor N, Mammen AL. Overlapping features of polymyositis and inclusion body myositis in HIV-infected patients. *Neurology*. 2017;88(15):1454-60.
108. Hoffmann C, Rockstroh J. HIV 2020/2021 (Medizin Fokus Verlag, Hamburg) 2020 [Stand: 28.09.2021]. Abrufbar unter: <https://www.hivbuch.de/wp-content/uploads/2020/11/HIV2020-21-1.pdf>.
109. Höschele D. Cell culture models for the investigation of NRTI-induced mitochondrial toxicity. Relevance for the prediction of clinical toxicity. *Toxicol In Vitro*. 2006;20(5):535-46.
110. Lewis W, Copeland WC, Day BJ. Mitochondrial dna depletion, oxidative stress, and mutation: mechanisms of dysfunction from nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Lab Invest*. 2001;81(6):777-90.
111. Dagan T, Sable C, Bray J, Gerschenson M. Mitochondrial dysfunction and antiretroviral nucleoside analog toxicities: what is the evidence? *Mitochondrion*. 2002;1(5):397-412.
112. Yerroum M, Pham-Dang C, Authier FJ, Monnet I, Gherardi R, Chariot P. Cytochrome c oxidase deficiency in the muscle of patients with zidovudine myopathy is segmental and affects both mitochondrial DNA- and nuclear DNA-encoded subunits. *Acta Neuropathol*. 2000;100(1):82-6.
113. 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):5325-30.
114. Esbjörnsson J, Månsson F, Kvist A, da Silva ZJ, Andersson S, Fenyö EM, Isberg PE, Biague AJ, Lindman J, Palm AA, Rowland-Jones SL, Jansson M, Medstrand P, Norrgren H, Group SaG-BCR. Long-term follow-up of HIV-2-related AIDS and mortality in Guinea-Bissau: a prospective open cohort study. *Lancet HIV*. 2018.
115. 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(5996):763-7.
116. Doranz BJ, Rucker J, Yi Y, Smyth RJ, Samson M, Peiper SC, Parmentier M, Collman RG, Doms RW. A dual-tropic primary HIV-1 isolate that uses fusin and the beta-chemokine receptors CKR-5, CKR-3, and CKR-2b as fusion cofactors. *Cell*. 1996;85(7):1149-58.
117. Gosselin A, Monteiro P, Chomont N, Diaz-Griffero F, Said EA, Fonseca S, Wacleche V, El-Far M, Boulassel MR, Routy JP, Sekaly RP, Ancuta P. Peripheral blood CCR4+CCR6+ and CXCR3+CCR6+CD4+ T cells are highly permissive to HIV-1 infection. *J Immunol*. 2010;184(3):1604-16.
118. Addo MM, Yu XG, Rathod A, Cohen D, Eldridge RL, Strick D, Johnston MN, Corcoran C, Wurcel AG, Fitzpatrick CA, Feeney ME, Rodriguez WR, Basgoz N, Draenert R, Stone DR, Brander C, Goulder PJ, Rosenberg ES, Altfeld M, Walker BD. Comprehensive epitope analysis of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-specific T-cell responses directed against the entire expressed HIV-1 genome demonstrate broadly directed responses, but no correlation to viral load. *J Virol*. 2003;77(3):2081-92.

119. Streeck H, Jolin JS, Qi Y, Yassine-Diab B, Johnson RC, Kwon DS, Addo MM, Brumme C, Routy JP, Little S, Jessen HK, Kelleher AD, Hecht FM, Sekaly RP, Rosenberg ES, Walker BD, Carrington M, Altfeld M. Human immunodeficiency virus type 1-specific CD8+ T-cell responses during primary infection are major determinants of the viral set point and loss of CD4+ T cells. *J Virol.* 2009;83(15):7641-8.
120. Allen TM, Yu XG, Kalife ET, Reyor LL, Lichterfeld M, John M, Cheng M, Allgaier RL, Mui S, Frahm N, Alter G, Brown NV, Johnston MN, Rosenberg ES, Mallal SA, Brander C, Walker BD, Altfeld M. De novo generation of escape variant-specific CD8+ T-cell responses following cytotoxic T-lymphocyte escape in chronic human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol.* 2005;79(20):12952-60.
121. Allen TM, Altfeld M, Geer SC, Kalife ET, Moore C, O'sullivan KM, Desouza I, Feeney ME, Eldridge RL, Maier EL, Kaufmann DE, Lahaie MP, Reyor L, Tanzi G, Johnston MN, Brander C, Draenert R, Rockstroh JK, Jessen H, Rosenberg ES, Mallal SA, Walker BD. Selective escape from CD8+ T-cell responses represents a major driving force of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) sequence diversity and reveals constraints on HIV-1 evolution. *J Virol.* 2005;79(21):13239-49.
122. Draenert R, Le Gall S, Pfafferott KJ, Leslie AJ, Chetty P, Brander C, Holmes EC, Chang SC, Feeney ME, Addo MM, Ruiz L, Ramduth D, Jeena P, Altfeld M, Thomas S, Tang Y, Verrill CL, Dixon C, Prado JG, Kiepiela P, Martinez-Picado J, Walker BD, Goulder PJ. Immune selection for altered antigen processing leads to cytotoxic T lymphocyte escape in chronic HIV-1 infection. *J Exp Med.* 2004;199(7):905-15.
123. Day CL, Kaufmann DE, Kiepiela P, Brown JA, Moodley ES, Reddy S, Mackey EW, Miller JD, Leslie AJ, DePierres C, Mncube Z, Duraiswamy J, Zhu B, Eichbaum Q, Altfeld M, Wherry EJ, Coovadia HM, Goulder PJ, Klenerman P, Ahmed R, Freeman GJ, Walker BD. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature.* 2006;443(7109):350-4.
124. Pantaleo G, Graziosi C, Demarest JF, Butini L, Montroni M, Fox CH, Orenstein JM, Kotler DP, Fauci AS. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature.* 1993;362(6418):355-8.
125. Henson SM, Akbar AN. KLRG1--more than a marker for T cell senescence. *Age (Dordr).* 2009;31(4):285-91.
126. Chevalier MF, Weiss L. The split personality of regulatory T cells in HIV infection. *Blood.* 2013;121(1):29-37.
127. Burzyn D, Kuswanto W, Kolodin D, Shadrach JL, Cerletti M, Jang Y, Sefik E, Tan TG, Wagers AJ, Benoist C, Mathis D. A special population of regulatory T cells potentiates muscle repair. *Cell.* 2013;155(6):1282-95.
128. Villalta SA, Rosenthal W, Martinez L, Kaur A, Sparwasser T, Tidball JG, Margeta M, Spencer MJ, Bluestone JA. Regulatory T cells suppress muscle inflammation and injury in muscular dystrophy. *Sci Transl Med.* 2014;6(258):258ra142.

7 Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Sinja Kristin Vogt, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „HIV-assoziierte Myositis und die Rolle der zytotoxischen T-Zellen bei der Einschlusskörperchenmyositis/HIV-associated myositis and the key role of cytotoxic T cells in inclusion body myositis“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

8 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

9 Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich all jenen danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen und mich auf dem Weg dahin unterstützt haben. Ganz besonders möchte ich meiner Erstbetreuerin PD Dr. med. Katrin Hahn herzlich für ihre wertvolle und zuverlässige Unterstützung sowie konstruktive Kritik bei der Erstellung dieser Arbeit danken. Ein ganz besonderer Dank gilt ebenfalls meinem Zweitbetreuer Prof. Dr. med. Werner Stenzel für die richtungsweisenden Anregungen für die thematische Ausrichtung dieser Arbeit sowie für die wertvolle Unterstützung bei der Datenerhebung und hilfreiche Rückmeldung bei der Erstellung dieser Arbeit. Ganz herzlich bedanken möchte ich mich auch bei Dr. rer. nat. Corinna Preuße für ihre zuverlässige Unterstützung und Begleitung bei der Datenerhebung sowie ihre hilfreiche Kritik bei der Erstellung dieser Arbeit. Diese Betreuung hat meine Promotion erst ermöglicht und letztendlich zum erfolgreichen Abschluss geführt.

Zusätzlich möchte ich Dr. med. Benjamin Englert für seine Hilfe bei der Patient*innenrekrutierung danken, sowie dem gesamten Team der Neuropathologie für ihre Unterstützung und Hilfe bei meiner Arbeit im Labor.

Abschließend möchte ich mich bei den Partnerkliniken für die gute Zusammenarbeit und die Übermittlung der Patient*innendaten sowie Gewebeproben bedanken. Dazu gehören Frau PD Dr. med. Eva Neuen-Jacob vom Institut für Neuropathologie der Universitätsklinik Düsseldorf und Frau Prof. Dr. med. Gabriele Arendt vom Neuro-Centrum Düsseldorf, Frau PD Dr. med. Anna Brunn vom Institut für Neuropathologie der Universitätsklinik Köln, Herr Dr. med. Jens Reimann von der Klinik für Neurologie der Universitätsklinik Bonn, Herr Prof. Dr. med. Benedikt Schoser vom Friedrich-Baur-Institut an der neurologischen Klinik der Universitätsklinik München, Herr Dr. med. Stefan Bieneck von der Klinik für Rheumatologie der Schlosspark-Klinik Berlin sowie Frau Dr. med. Anja Masuhr von der Klinik für Innere Medizin-Infektiologie des Auguste-Viktoria-Klinikums Berlin.

10 Bescheinigung Statistik



CharitéCentrum für Human- und Gesundheitswissenschaften

Charité | Campus Charité Mitte | 10117 Berlin

Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE)

Direktor: Prof. Dr. Geraldine Rauch

Postanschrift:
Charitéplatz 1 | 10117 Berlin
Besucheranschrift:
Reinhardtstr. 58 | 10117 Berlin

Tel. +49 (0)30 450 562171
geraldine.rauch@charite.de
<https://biometrie.charite.de/>



Name, Vorname: Vogt, Sinja Kristin
Emailadresse: sinja.vogt@charite.de
Matrikelnummer: 222499
PromotionsbetreuerIn: Dr. Katrin Hahn
Promotionsinstitution / Klinik: Klinik für Neurologie mit
Experimenteller Neurologie CCM

Bescheinigung

Hiermit bescheinige ich, dass Frau Sinja Kristin Vogt innerhalb der Service Unit Biometrie des Instituts für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE) bei mir eine statistische Beratung zu einem Promotionsvorhaben wahrgenommen hat. Folgende Beratungstermine wurden wahrgenommen:

- Termin 1: 18.06.2020
- Termin 2: 28.05.2021

Folgende wesentliche Ratschläge hinsichtlich einer sinnvollen Auswertung und Interpretation der Daten wurden während der Beratung erteilt:

- Überprüfung von Normalverteilungsannahmen
- Verwendung geeigneter Lage- und Streumaße
- Verwendung geeigneter statistischer Tests
- Hypothesengenerierende Interpretation der p-Werte (explorativ)

Diese Bescheinigung garantiert nicht die richtige Umsetzung der in der Beratung gemachten Vorschläge, die korrekte Durchführung der empfohlenen statistischen Verfahren und die richtige Darstellung und Interpretation der Ergebnisse. Die Verantwortung hierfür obliegt allein dem Promovierenden. Das Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie übernimmt hierfür keine Haftung.

Datum: 10.09.2021

Name des Beraters/ der Beraterin: Oliver Schweizerhof



Unterschrift BeraterIn, Institutsstempel

CHARITÉ
UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN
Institut für Biometrie und
Klinische Epidemiologie
Campus Charité Mitte
Charitéplatz 1 | D-10117 Berlin
Sitz: Reinhardtstr. 58