

## 2 Forschungsgegenstand

### 2.1 Psychoneuroimmunologie

Psychoneuroimmunologie – die Bezeichnung dieses noch jungen Forschungsgebietes wurde um 1980 von Robert Ader maßgeblich geprägt. Vereinfacht kann die Psychoneuroimmunologie als Forschungsfeld beschrieben werden, das sich mit den funktionellen Wechselwirkungen zwischen psychischen Faktoren, dem Nervensystem, dem endokrinen und dem Immunsystem befasst. Um zu einem besseren Verständnis der Interaktionen dieser bereits isoliert betrachtet sehr komplexen Systeme beizutragen und deren Bedeutung für die Gesundheit sowie für die Entstehung und den Verlauf von Erkrankungen zu untersuchen, fließen in diesem Forschungsgebiet die Erkenntnisse zahlreicher verschiedener Fachdisziplinen zusammen.

Vorstellungen über psychische Einflüsse auf körperliche Vorgänge sind im Alltagswissen seit langem verankert und grundlegender Bestandteil des Konzepts psychosomatischer Medizin. Die Prozesse, die den vermuteten oder nachgewiesenen Veränderungen zugrunde liegen, blieben jedoch lange unbekannt. Die Psychoneuroimmunologie setzt an genau dieser Stelle an und kann als wichtiger Zweig moderner psychosomatischer und psychotherapeutischer Grundlagenforschung angesehen werden: Erforscht werden Mechanismen zur Erklärung von nachweisbaren Auswirkungen psychischer Prozesse auf verschiedene körperliche Funktionen, mit dem Ziel, Wege für mögliche Interventionsmaßnahmen zu bereiten.

Noch vor wenigen Jahrzehnten wurde das Immunsystem als ein autonom agierendes Abwehrsystem angesehen. Mittlerweile liegen allerdings zahlreiche Studien vor, die einen anatomisch und funktional engen Kontakt zwischen diversen Aspekten des ZNS und des Immunsystems aufzeigen, so dass diese nicht mehr als unabhängig voneinander arbeitende Körpersysteme betrachtet werden können. Bereits die Studien von Metalnikov und Chorine in den 1920er Jahren, die sich mit der Rolle der Konditionierung im Immunsystem auseinandersetzten, ließen eine Interaktion von Gehirn und Immunsystem vermuten (Metalnikov & Chorine, 1926). Robert Ader und Nicholas Cohen, die als Wegbereiter der interdisziplinären psychoneuroimmunologischen Forschung in ihrer heutigen Form gelten, legten mit ihrem Studien in den 1970er Jahren die Möglichkeit einer experimentellen Konditionierung der immunsuppressiven Effekte von Pharmaka nahe und prägten die Auffassung, dass das Immunsystem Signale vom Gehirn erhält (Ader, 1974; Ader & Cohen, 1975). Wesentlich weiter

gehen heute einige Forscher in ihrer Auffassung, das Immunsystem könne angesichts der vorliegenden Erkenntnisse sogar als sensorisches Organ oder „sechster Sinn“ bezeichnet werden, da es in der Lage sei, die Präsenz von Entitäten wie Viren oder Bakterien zu erkennen und dem ZNS zu melden, die den „klassischen“ Sinnen verborgen blieben (Blalock, 2005).

Nach nunmehr drei Jahrzehnten psychoneuroimmunologischer Forschung ist heutzutage gut belegt, dass nicht nur das Immunsystem vom ZNS durch endokrine und neuronale Mechanismen in seiner Funktion beeinflusst wird, sondern auch Botenstoffe des Immunsystems, insbesondere Zytokine, einen Einfluss auf endokrines und Nervensystem haben: Es besteht ein bidirektionaler Informationsfluss.

## **2.2 Psychophysiologische Stresskonzepte**

Nach über einem Jahrhundert der Stressforschung gibt es auch heute keine einheitliche wissenschaftliche Definition des Terminus „Stress“. Die weite Verbreitung des Begriffs im umgangssprachlichen Gebrauch trägt ebenfalls zu einer gewissen begrifflichen Unschärfe bei, wobei „Stress“ in unserer Gesellschaft meist im Sinne einer psychosozialen Belastung verstanden wird.

In der heutigen medizinisch-psychologischen Literatur wird Stress zumeist als komplexes physiologisches Geschehen betrachtet, wobei psychosoziale Stimuli (Stressoren) als häufige Auslöser einer Stressreaktion angesehen werden (Ursin & Olf, 1993). Die Auswirkungen von natürlichen und experimentellen psychischen Belastungssituationen auf körperliche Vorgänge werden in der psychoneuroimmunologischen Forschung untersucht.

Es ist bekannt, dass emotionale und kognitive Stressoren in Abhängigkeit von ihrer Art und Intensität sowie der Dauer und Häufigkeit mit der sie auftreten unterschiedliche Reaktionen hervorrufen können. Auch die individuelle Bewertung des Stimulus mit unangenehmen oder bedrohlichen Konsequenzen für den Organismus ist von großer Bedeutung für die Auslösung und das Ausmaß einer Stressreaktion. Diese wird oftmals von den meist als negativ empfundenen Emotionen wie Ärger und Angst begleitet oder induziert (Schedlowski & Tews, 1999). Wird ein Stimulus vom ZNS als Stressor wahrgenommen, werden hauptsächlich über die Strukturen des limbischen Systems und des Hypothalamus die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPA-Achse) sowie das sympathische Nervensystem (SNS) aktiviert. In der Folge kommt es zur systemischen Ausschüttung so genannter primärer Stressmediatoren wie Adrenalin, Noradrenalin und Cortisol (Wrona, 2006).

Wie heute bekannt ist, betreffen die resultierenden stressinduzierten Veränderungen jedoch nicht nur das metabolische und Herz-Kreislaufsystem mit physiologischen Parametern wie z.B. Herzfrequenz, Blutdruck, Blutglukosespiegel oder der Durchblutung der glatten und Skelettmuskulatur, sondern es findet auch eine Modulation verschiedener Immunfunktionen statt. Insgesamt kann die akute Stressreaktion als eine evolutionär konservierte Anpassungsleistung des Organismus an sich verändernde Umgebungsbedingungen verstanden werden, die die kognitive und körperliche Leistungsfähigkeit durch eine Mobilisierung biologischer Ressourcen erhöht, um in einer akuten Kampf-oder-Flucht-Antwort einer potentiellen oder realen Störung der Homöostase entgegenzuwirken (McEwen, 1998).

### **2.3 Kommunikation zwischen ZNS und Immunsystem**

Die bedeutendste Vermittlerrolle im Netzwerk des Informationsaustauschs zwischen Gehirn und Immunsystem wird nach heutiger Auffassung der so genannten „Stressachse“ zugeschrieben. Sie besteht zum einen aus der HPA-Achse und zum anderen aus dem sympathischen Nervensystem und spielt mit ihren vermittelnden Stressmediatoren eine zentrale Rolle bei regulierenden Prozessen der Allostase und Homöostase. Allerdings gibt es Hinweise dafür, dass auch andere Hypophysenhormone, Zytokine und Neurotransmitter Einfluss auf die Kommunikation zwischen ZNS und Immunsystem nehmen können (Sternberg, 2006; Wrona, 2006).

#### ***HPA-Achse***

Das ZNS ist in der Lage, über die HPA-Achse einen regulierenden Einfluss auf den Ablauf verschiedener Funktionen des Immunsystems auszuüben, woran im Wesentlichen drei Komponenten beteiligt sind: Im Rahmen einer Stressantwort, beispielsweise in der Reaktion auf systemische proinflammatorische oder physikalische, aber auch psychische Stimuli werden Zellen des paraventriculären Nukleus des Hypothalamus zur Ausschüttung von CRH angeregt. Dadurch wird nachfolgend die Freisetzung von ACTH aus dem Hypophysenvorderlappen stimuliert, was wiederum die Sekretion von Glucocorticoiden wie Cortisol aus der Nebennierenrinde ins periphere Blut bedingt (Munck & Guyre, 1986). Die Glucocorticoide können neben ihrer – in pharmakologischer Dosis allgemein bekannten – immunsuppressiven Wirkungen auch immunstimulierende Effekte vermitteln (Sapolsky et al., 2000). In physiologischen Konzentrationen sind sie vielmehr in der Lage, eine Immunantwort zu

modulieren und optimieren als diese lediglich zu unterdrücken (Sternberg, 2001). Wichtige Teile der Immunantwort, wie die frühe Mobilisation und Migration von Leukozyten zum Ort des Entzündungsgeschehens, werden von Glucocorticoiden beeinflusst (Dhabhar et al., 1995). Des Weiteren wurde kürzlich gezeigt, dass diese Hormone zu einer  $T_H1/T_H2$ -Dysbalance führen können (Calcagni & Elenkov, 2006; Maes et al., 1998). Ihre vermutlich dosisabhängigen Effekte vermitteln sie direkt über spezifische Glucocorticoid-Rezeptoren, die von fast allen immunkompetenten Zellen exprimiert werden, und indirekt über die Regulation diverser Zytokine, die ihrerseits in auto-, para- oder endokriner Weise eine modulierende Funktion auf die immunkompetenten Zellen ausüben (Blalock, 2005; Sternberg, 2006; Webster & Tonelli 2002).

### ***Bidirektionale Kommunikation***

Hinweise dafür, dass die Kommunikation zwischen ZNS und Immunsystem in bidirektionaler Weise erfolgt, lieferten bereits die Ergebnisse von Besedovsky und Mitarbeitern (1977, 1986), die zeigten, dass periphere Immunreaktionen von Veränderungen hypothalamischer, autonomer und endokriner Prozesse begleitet werden und Strukturen des Gehirns sensitiv für Aktivitäten des Immunsystems sind. Heute ist bekannt, dass Interleukin-1 (IL-1), das z.B. von Lymphozyten und Makrophagen während einer Entzündungsreaktion gebildet wird, die HPA-Achse sowohl über eine Freisetzung von CRH aus Neuronen des Hypothalamus als auch durch die direkte Stimulierung der Hypophyse aktivieren kann (Sapolsky et al., 1987). Auch andere Zytokine wie IL-6 und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) besitzen eine, wenn auch schwächer ausgeprägte, aktivierende Wirkung auf die Stressachse. Die konsekutive Cortisolfreisetzung wiederum kann ihrerseits durch eine Herabregulation der Produktion von proinflammatorischen Zytokinen die entzündliche Reaktion limitieren, so dass letztendlich eine modulierende neuroendokrino-immunologische Rückkopplungsschleife entsteht (Chrousos, 1995; Sapolsky et al, 2000). Kommt es zu Störungen in diesem funktionellen Kreislauf, können akut oder chronisch verlaufende pathologische Zustände ausgelöst werden, deren Spektrum vom septischen Schock über Autoimmunerkrankungen, anhaltende Immunsuppression und Tumorentstehung bis hin zu psychiatrischen Erkrankungen reicht (DeRijk et al., 2004; Johnson et al., 1998; Soni et al. 1995).

Für die proinflammatorischen Zytokine IL-1, IL-6 und TNF- $\alpha$  ist des Weiteren bekannt, dass sie das so genannte Krankheitsverhalten („sickness behavior“) auslösen können, wobei sie ihre Wirkung sowohl über periphere Nerven als auch in direkter Bindung im Gehirn entfalten

können. Dies kann sich durch einen verminderten Appetit, reduziertes soziales und sexuelles Interesse, Aktivitätsverlust, gesteigertes Schmerzempfinden und eine allgemeine Tendenz zu depressiver Stimmung ausdrücken (Maier & Watkins, 1998; Watkins & Maier, 2005).

### ***Das sympathische Nervensystem - SNS***

Das sympathische Nervensystem ist ebenfalls maßgeblich an der Modulation von Immunfunktionen beteiligt. Werden seine übergeordneten Neurone im Hirnstamm, insbesondere im Bereich des Nucleus coeruleus, z.B. im Rahmen einer klassischen fight-or-flight-Situation aktiviert, resultiert unter anderem die Ausschüttung der Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin aus terminalen sympathischen Nervenendigungen und aus dem Nebennierenmark ins periphere Blut (Stoddard et al., 1986).

Systemisch freigesetzte Katecholamine aus der Nebenniere können diverse Immunfunktionen abschwächen, unter bestimmten Bedingungen jedoch auch verstärken (Sternberg, 2006). Die teils gegensätzlichen Wirkungen werden vermutlich zeit- und dosisabhängig über die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Adrenozeptoren der Lymphozyten vermittelt (Landmann, 1992; Sanders, 2006; Titchni & Clark, 1984) und beinhalten beispielsweise eine Veränderung der Proliferationsrate, der Zytokin- und Antikörperproduktion sowie der lytischen Aktivität (Wrona, 2006).

Des Weiteren konnte eine direkte sympathische Innervation von primären und sekundären lymphatischen Organen mit einer bemerkenswerten funktionalen Plastizität nachgewiesen werden. Novotny und Mitarbeiter (1994; 1995) konnten zeigen, dass auf eine Immunstimulation folgend die Innervationsdichte in den daran beteiligten Lymphknoten zunahm und werteten diesen Vorgang als adaptiven Prozess im Sinne einer bei Aktivierung lokal gesteigerten Einflussnahme des vegetativen Nervensystems auf immunkompetente Organe. Über diese direkte sympathische Innervierung der lymphatischen Organe kann eine differenzierte regionale Regulation spezifischer Aspekte der Immunantwort erfolgen (Elenkov et al, 2000).

## **2.4 Teil der adaptiven Immunität: T-Lymphozyten**

### ***Aktivierung von T-Zellen im Rahmen einer Infektion***

T-Lymphozyten stellen eine Schlüsselkomponente des adaptiven Immunsystems dar. Kommt es in der Peripherie zu einer Infektion durch ein pathogenes Agens, so werden antigenpräsentierende Zellen (APC) wie Dendritische Zellen (DC) oder Makrophagen (MP)

durch lokale inflammatorische Signale zur Antigenaufnahme angeregt. Anschließend wandern sie in die sekundären lymphatischen Organe, um den dort patrouillierenden T-Zellen die von ihnen prozessierten Antigene zu präsentieren (Banchereau & Steinman, 1998; Butcher & Picker, 1996). Aus antigenspezifischen unerfahrenen T-Zellen entwickeln sich in der Folge dieser Antigenstimulation innerhalb von einigen Tagen Effektor-T-Zellen, die die lymphatischen Organe verlassen, um mit dem Blutstrom in die Peripherie zu gelangen (Lanzavecchia & Sallusto, 2000). Nach ihrer Extravasation migrieren sie anschließend in die entzündlichen Gewebe (Austrup et al., 1997), wo sie zur Kontrolle und Elimination einer Infektion durch die Ausübung von Effektorfunktionen wie Zytokinproduktion oder Abtötung infizierter Zellen wesentlich beitragen. Ihre Effektorfunktionen werden allerdings im Normalfall nur in der Präsenz von Antigenen ausgeübt und nach einer abgeklungenen Infektion abgeschaltet, so dass eine immunpathologische Schädigung durch dauerhaft aktivierte Effektorzellen normalerweise verhindert werden kann (Slifka et al., 1999).

### ***Immunologisches Gedächtnis***

Ein charakteristisches Merkmal der spezifischen Abwehr ist die Fähigkeit zur Bildung eines immunologischen Gedächtnisses. So werden im Rahmen einer Infektion nicht nur Effektorsondern auch Gedächtnis-T-Zellen gebildet, die im Falle einer erneuten Antigenstimulation schneller auf das pathogene Agens reagieren können. Dies resultiert aus der klonalen Expansion und Differenzierung antigenspezifischer Lymphozyten, die in der Folge dessen sogar lebenslang bestehen bleiben können (Sallusto et al., 2004). Verschiedene Oberflächenmoleküle ermöglichen den T-Lymphozyten in Abhängigkeit von ihrem jeweiligen Differenzierungsgrad und Aktivierungszustand eine koordinierte Migrationsbewegung im Rahmen immunologischer Vorgänge. Anhand dieser Adhäsionsmoleküle und Chemokinrezeptoren, die während des Reifungsprozesses der T-Zellen exprimiert werden oder verloren gehen, können Lymphozyten phänotypisch voneinander unterschieden werden (Jenkins et al., 2001).

#### **2.4.1 Vier Subpopulationen von CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten**

##### ***CD45***

Bis vor wenigen Jahren wurde das in verschiedenen Isoformen vorkommende Leukocyte common antigen CD45 benutzt, um T-Zellen in naive und Gedächtniszellen zu unterteilen

(Akbar et al. 1988). CD45RA wurde auf einer stabilen Zellpopulation gefunden, die sich etwa alle 2 Jahre einmal teilte und lediglich mit einer geringen Stärke auf Antigen reagierte, während Zellen, die CD45RO exprimierten, sich in vivo etwa einmal in 2 Wochen teilten und rasch auf eine wiederholte Antigen-Stimulierung reagierten (Michie et al., 1992). Dies führte zu der Hypothese, dass naive Zellen durch die Expression von CD45RA und Gedächtnis-Zellen durch die CD45RO-Expression definiert würden. Da jedoch kürzlich gezeigt werden konnte, dass auch eine Untergruppe der Gedächtniszellen CD45RA reexprimiert (Arlettaz et al. 1999; Wills et al., 1999) wurde ersichtlich, dass die alleinige Bestimmung dieser Oberflächenmarker keine zuverlässige Subtypisierung der T-Lymphozyten zuließ. Sallusto und Mitarbeiter (1999) beschrieben ein Expressionsmuster zur Differenzierung verschiedener T-Lymphozytensubpopulationen, das neben CD45 auch die Expression des Lymphknoten-Homing-Rezeptors CCR7 auf der Lymphozytenoberfläche berücksichtigt.

### **CCR7**

Der Rezeptor CCR7 und seine Liganden verknüpfen die angeborene und adaptive Immunität miteinander: Werden während einer angeborenen Immunantwort Pathogene durch Phagozyten und lösliche Faktoren in der Peripherie relativ unspezifisch neutralisiert, hat die adaptive, spezifische Immunantwort ihren Ursprung hauptsächlich in den sekundären lymphatischen Organen. Dort treffen antigenpräsentierende Zellen auf naive oder bestimmte Gedächtniszellen, präsentieren diesen die prozessierten immunogene Peptide und aktivieren sie (Charo & Ransohoff, 2006). Die Begegnung von Dendritischen Zellen und T-Zellen wird durch den Rezeptor CCR7 und seine Liganden, die chemotaktischen Zytokine CCL19 (ELC) und CCL21 (SLC), ermöglicht. Sowohl CCR7<sup>+</sup> T-Zellen als auch Dendritische Zellen, die nach ihrer Aktivierung ebenfalls CCR7 exprimieren, binden an SLC, das vom Gefäßendothel der Lymphknoten exprimiert wird, wodurch ihre Extravasation und ihr Eintritt in die Lymphknoten erleichtert werden. Sind die T-Zellen einmal in die Lymphknoten eingetreten, folgen sie dem Gradienten von SLC zu den T-Zell-Zonen, um dort auf die APC zu treffen. CCR7 stellt einen Rezeptor dar, der für die Lymphozytenmigration zu den Lymphknoten essentiell ist (Butcher & Picker, 1996).

Durch die Bestimmung des Expressionsmusters von CD45RA in Kombination mit CCR7 wird somit eine Unterteilung der CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Zellen in jeweils vier verschiedene Subpopulationen möglich: Die beiden Fraktionen der CD45RA<sup>+</sup> naiven T-Zellen (T<sub>naive</sub>) und der CD45RA<sup>-</sup> „central memory“-T-Zellen (T<sub>CM</sub>) sind positiv für CCR7 und können von den CCR7-

negativen „effector memory“-T-Zellen ( $T_{EM}$ ;  $CD45RA^-$ ) und „terminally differentiated effector cells“ ( $T_{EMRA}$ ;  $CD45RA^+$ ) unterschieden werden (Sallusto et al., 2004).

### **2.4.1.1 $T_{naive}$ und $T_{CM}$**

Naive T-Zellen hatten noch keinen Erstkontakt mit ihrem Antigen und besitzen keine unmittelbaren Effektorfunktionen. Funktionelle Ähnlichkeiten bestehen zwischen den naiven T-Zellen und den  $T_{CM}$  insofern, dass diese beiden CCR7-positiven Fraktionen auf der Suche nach ihrem spezifischen Antigen zwischen dem peripheren Blut und den sekundären lymphatischen Organen zirkulieren. Wie die naiven T-Zellen koexprimieren auch  $T_{CM}$  L-Selektin (CD62L), einen Rezeptor für CD34. Durch die Rezeptor-Ligand-Interaktion wird das so genannte „rolling“ der Lymphozyten an der Gefäßwand vermittelt und eine Voraussetzung für die Wanderung der Lymphozyten in die lymphatischen Gewebe geschaffen.

Im Unterschied zu naiven T-Zellen besitzen  $T_{CM}$  unmittelbare, wenn auch gering ausgeprägte Effektorfunktionen. Von besonderem Interesse ist, dass  $T_{CM}$  zur raschen Produktion von IL-2 in der Lage sind, was sie im Falle einer sekundären Infektion zu einer ausgedehnten proliferativen Expansion befähigt. Wherry et al. (2003) konnten zeigen, dass  $T_{CM}$  bei wiederholtem Antigenkontakt in der Lage sind, sowohl systemische und periphere Infektionen als auch Infektionen im Bereich der Schleimhäute effizient zu kontrollieren. Dies könnte einerseits durch die starke IL-2-Reagibilität der  $T_{CM}$  auf sekundäre Antigenstimulation erklärt werden; andererseits drainieren Dendritische Zellen im Falle einer Infektion bevorzugt in die Lymphknoten, wo eine effizientere Antigenpräsentation und T-Zell-Aktivierung zu erfolgen scheint als in der Peripherie. Somit spielt vermutlich auch die primäre Lokalisation der  $T_{CM}$  in den lymphatischen Organen eine wichtige Rolle (Zajac et al., 1998). Weiterhin benötigen  $T_{CM}$  für ihre Aktivierung weitaus weniger ko-stimulatorische Signale als naive T-Zellen, und ihre Differenzierung zu IFN- $\gamma$  und IL-4 produzierenden Effektorzellen erfolgt in kürzerer Zeit.

### **2.4.1.2 $T_{EM}$ und $T_{EMRA}$**

Menschliche  $T_{EM}$  haben ihre konstitutive CCR7-Expression für einen erleichterten Eintritt in lymphatische Gewebe verloren und sind heterogen in ihrer CD62L-Expression. Sie exprimieren stattdessen Rezeptoren für inflammatorische Chemokine, die sie benötigen, um zum Ort einer



Entzündung zu migrieren (Charo & Ransohoff, 2006). Außerdem steuern weitere gewebsspezifische Rezeptoren auf der Zelloberfläche der T<sub>EM</sub> ihre Migrationsbewegung zu den unterschiedlichen Zielgeweben (*homing*), so dass T<sub>EM</sub> eine erhöhte Kapazität zur Wanderung in nicht-lymphatische Gewebe besitzen. T-Zellen mit dem Zielgewebe der Haut exprimieren beispielsweise vermehrt die Moleküle CLA und CCR4 (Campbell et al., 1999), während T-Zellen, die die Oberflächenmoleküle  $\alpha 4\beta 7$  und CCR9 aufweisen, bevorzugt in bestimmte Darmabschnitte migrieren (Zabel et al., 1999).

T<sub>EM</sub> sind mit wichtigen Effektorfunktionen zur Abwehr von Pathogenen ausgestattet, und sowohl die Fraktion der CD4<sup>+</sup> als auch die der CD8<sup>+</sup> Zellen sind in der Lage, nur kurze Zeit nach der Stimulation ihres T-Zell-Rezeptors (TCR) proinflammatorische Zytokine wie IL-4, IL-5 und IFN- $\gamma$  zu bilden. Des Weiteren lassen sich intrazellulär gespeicherte Effektorproteine in den T<sub>EM</sub> nachweisen, was ihre Fähigkeit zur Ausübung unmittelbarer Effektorfunktion noch einmal verdeutlicht (Sallusto et al., 2004). T<sub>EM</sub> zeigen im Vergleich zu naiven T-Zellen eine erhöhte immunologische Reagibilität im Sinne einer verstärkten Proliferationsantwort nach Antigenstimulation *in vitro*. Eine spezielle Untergruppe der T<sub>EM</sub> reexprimiert die Isoform CD45RA. Diese Subpopulation, die gleichzeitig auch die größte Menge von intrazellulär gespeicherten Effektorproteinen aufweist, wird als T<sub>EMRA</sub> bezeichnet. Sie stellt nach heutigem Verständnis terminal differenzierte Effektorzellen dar, die mit sofortigen Effektorfunktionen gegen ihr spezifisches Antigen ausgerüstet sind (Lanzavecchia & Sallusto, 2000). Roman und Mitarbeiter (2002) konnten virusspezifische CCR7-negative Effektorzellen nachweisen, die mit verschiedenen Effektorfunktionen ausgestattet waren, eine große Menge an IFN- $\gamma$  produzierten und innerhalb kurzer Zeit in periphere entzündliche Gewebe migrieren konnten.

#### 2.4.2 Effektormechanismen der T-Lymphozyten

Aus der Aktivierung der T-Lymphozyten resultiert neben ihrer Proliferation und der Veränderung ihrer Migrationskapazität auch eine Bereitstellung von verschiedenen Effektormechanismen zur Elimination von Pathogenen. Aktivierte zytotoxische T-Lymphozyten (CTL) können andere Zellen über mindestens drei bekannte Wege abtöten. Zum einen können sie durch die Expression des Fas-Ligand (FasL) auf ihrer Zelloberfläche und dessen Interaktion mit dem Fas-Rezeptor (Fas bzw. CD95) auf der Zielzelle Apoptose in dieser auslösen (Nagata & Golstein, 1999), oder durch die Freisetzung verschiedener proinflammatorischer Zytokine wie

IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  über unterschiedliche nachgeschaltete Mechanismen eine Apoptose-Induktion in der Zielzelle bewirken. Schließlich sind Effektorzellen durch die Synthese und intrazelluläre Speicherung der Effektorproteine Granzym B und Perforin gekennzeichnet. Diese Proteine werden beim Kontakt mit der Zielzelle per Exozytose aus den intrazellulären Granula in die immunologische Synapse ausgeschüttet und spielen bei der Granula-vermittelten Zytotoxizität von CTL und NK-Zellen eine herausragende Rolle (Trapani & Smyth, 2002).

### **2.4.2.1 Perforin**

Bis vor kurzem nahm man an, dass Perforin allein durch seine Eigenschaft, *in vitro* in der Zellmembran der Zielzelle eine Pore zu bilden, bereits den Zelltod auslösen kann (Podack & Dennert, 1983). Durch die hervorgerufene Störung der Membranintegrität kann eine konsekutive osmotischen Lyse induziert werden. Es stellte sich jedoch heraus, dass *in vivo* die alleinige Anwesenheit von Perforin in der Regel nicht ausreicht, um die Zielzelle zu töten. Stattdessen gibt es Hinweise dafür, dass die zytolytische Funktion des Perforin dort von der gleichzeitigen Anwesenheit anderer Enzyme abhängig ist. Nach heutigen Erkenntnissen scheint die zytotoxische Wirkung des Perforins ganz wesentlich auf dessen Eigenschaft zu beruhen, den Granzymen einen erleichterten Eintritt in die Zielzelle bzw. deren intrazelluläre Freisetzung aus den Endosomen zu ermöglichen (Barry & Bleackley, 2002).

### **2.4.2.2 Granzyme**

Bislang konnten beim Menschen die Granzyme A, B, H, K und M charakterisiert werden, die einer Familie von Serinproteasen angehören (Barry & Bleackley, 2002). Granzym B ist ein wichtiger Vertreter dieser Gruppe und kann, nachdem es in das Zytoplasma der Zielzelle gelangt ist, auf verschiedenen Wegen den Zelltod auslösen. Dies kann durch die Induktion von Apoptose über einen Caspase-abhängigen Mechanismus geschehen und Caspase-unabhängig entweder über eine Beeinträchtigung der mitochondrialen Funktion mit folgendem nekrotischen Zelltod oder durch die Initiierung der Zielzell-DNA-Fragmentierung, was ebenfalls zum Zelltod führt (Darmon et al., 1995).

Gemeinsam stellt der Perforin-/ Granzym B-vermittelte Weg der Apoptoseinduktion eine Schlüsselkomponente zytotoxischer Immunzellen dar und scheint auch deshalb von besonderer

Wichtigkeit für die Effektorzellen zu sein, weil er im Gegensatz zum Fas/ FasL-Pathway zu einer sehr schnellen Initialisierung des Zelltodes führt (Bratke et al., 2005). Beobachtet man die Entwicklung reifer T-Lymphozyten, so kann man feststellen, dass sich die vier beschriebenen Subpopulationen in ihrem Gehalt dieser intrazellulären Effektorproteine erheblich voneinander unterscheiden: Naive T-Zellen besitzen keine zytotoxische Aktivität sondern benötigen einen Aktivierungsprozess von 1-3 Tagen Dauer, bis sie ihre maximale Aktivität entwickelt haben (Russel & Ley, 2002). In den T<sub>CM</sub> sind nur marginale Mengen von intrazellulärem Granzym/ Perforin nachweisbar, jedoch besitzen sie eine ausgeprägte Fähigkeit zur Produktion von Perforin, wenn eine adäquate Stimulierung erfolgt. Dafür sind allerdings mehrere Zellzyklen notwendig, und es erfolgt eine gleichzeitige Downregulation von CCR7 (Meng et al., 2006). T<sub>EM</sub> hingegen besitzen bereits große Mengen präformierten Perforins in ihren intrazellulären Granula, und T<sub>EMRA</sub> weisen als terminal differenzierte Effektor-T-Zellen die insgesamt größte Menge an Perforin auf.

## **2.5 Auswirkungen von psychischem Stress auf Funktionen des Immunsystems**

Konzepte, die sich mit den Auswirkungen von Stress auf Immunfunktionen beschäftigen, haben sich im Laufe der Jahre erheblich verändert.

### ***Chronische psychische Belastungen***

In einem frühen Stressmodell, welches auf den Beobachtungen Selyes (1975) basierte, dass chronischer Stress zu einem strukturellen Umbau und einer Involution lymphatischer Organe führte, wurde Stress über lange Zeit eine weitgehend immunsuppressive Wirkung zugeschrieben (Seegerstrom & Miller, 2004). Zahlreiche humane Stressstudien konnten nachweisen, dass chronischer Stress, wie beispielsweise durch die jahrelange Pflege eines chronisch kranken Familienangehörigen, von einer reduzierten NK-Zell-Aktivität (NKCA), einer verminderten Mitogen-induzierten Lymphozytenproliferation (Solomon et al., 1997) sowie einer abgeschwächten Antikörperproduktion nach einer primären Immunisierung gegen verschiedene virale und bakterielle Antigene begleitet ist (Burns et al., 2002; Glaser et al., 2000; Kiecolt-Glaser et al., 1996; Vedhara et al., 1999) und dadurch dieses Modell unterstützen.

### ***Akute psychische Belastungen***

Untersuchungen über die Auswirkungen von akutem Stress auf das Immunsystem lieferten jedoch insbesondere seit den 1990er Jahren Hinweise dafür, dass Stress nicht generell eine immunsuppressive Wirkung besitzt, sondern verschiedene immunologische Funktionen durch kurzzeitigen Stress auch verstärkt werden können.

Als typische akute Stressoren in der humanen psychoneuroimmunologischen Forschung dienen meist experimentelle emotionale und/ oder mentale Belastungen mit einer Dauer von Minuten bis Stunden (Segerstrom & Miller, 2004), wie beispielsweise das Lösen arithmetischer Aufgaben unter Zeitdruck, das freie Halten einer Rede vor Publikum oder die Durchführung eines Fallschirmsprungs (Tews & Schedlowski, 1999).

In Studien, die die zellulären Funktionen des *angeborenen* Immunsystems unter akutem Stress untersuchten, wurden bislang häufig die Effekte auf NK-Zellen beobachtet. Diese Zellen werden zur angeborenen Immunität gezählt und gelten als wichtiger Bestandteil einer ersten immunologischen Verteidigungslinie, da sie in kurzer Zeit in und aus peripheren Geweben migrieren können und an der Beseitigung von invadierenden Pathogenen und entarteten Körperzellen beteiligt sind (Arnon et al., 2006; Scalzo, 2002). Die Beobachtung, dass sich durch akuten psychischen Stress die Zahl der NK-Zellen im peripheren Blut kurzfristig drastisch erhöht, konnte wiederholt bestätigt werden (Bosch et al., 2005; Schedlowski et al., 1993; Segerstrom & Miller, 2004). Kimura und Isowa (2004) konnten diese signifikanten Anstiege bereits zwei Minuten nach Beginn eines experimentellen mentalen Belastungstests nachweisen. Die NK-Zellen werden hierbei aus dem Marginalpool des Blutes sowie aus verschiedenen anderen Kompartimenten des Körpers mobilisiert. Es konnte gezeigt werden, dass der Einfluss des SNS hierfür von essentieller Bedeutung ist: Physiologische Indikatoren der sympathischen Aktivierung wie Herzfrequenz, systolischer und diastolischer Blutdruck, aber auch die Ausschüttung von Katecholaminen korrelieren positiv mit dem Ausmaß der NK-Zell-Mobilisierung (Benschop et al., 1996). Durch eine peripher-venöse Adrenalininfusion ließen sich ebenfalls gleichgerichtete Veränderungen hervorrufen (Schedlowski, 1996).

In Untersuchungen, die sich mit den funktionellen Parametern der angeborenen Immunität unter dem Einfluss von akutem Stress beschäftigten, konnte wiederholt eine verstärkte Aktivität der NK-Zellen (NKCA) beobachtet werden (Benschop et al., 1994; Dopp et al., 2000; Zorrilla et al., 2001). Des Weiteren konnte in einer Studie mit 211 Probanden 45 min. zeitverzögert nach einer akuten mentalen Belastungssituation eine signifikant erhöhte Zirkulation der proinflammatorischen Zytokine IL-6 und TNF- $\alpha$  im peripheren Blut beschrieben werden, deren

Ausmaß ebenfalls positiv mit der kardiovaskulären Reagibilität korrelierte (Owen & Steptoe 2003).

Die meisten bisher vorliegenden Untersuchungen zu stressinduzierten Veränderung von Parametern der *adaptiven* Immunität hingegen konnten keine derart ausgeprägten Veränderungen nachweisen. Einige Studien beschrieben eine geringe Zunahme der Anzahl CD8-positiver T-Zellen bei einer gleichzeitigen Abnahme der CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> Ratio (Bachen et al., 1992; Brosschot et al., 1992). Sowohl für CD4<sup>+</sup> T-Zellen als auch für B-Zellen konnte in verschiedenen Studien entweder keine signifikante Veränderung oder sogar eine Abnahme der Zellzahlen unter akutem Stress gefunden werden (Benschop et al., 1996; Kimura et al., 2005). Bei in-vitro-Proliferationstests konnte eine Reduktion der Mitogen-induzierten Lymphozytenproliferation nach PHA-, PWM- und ConA-Stimulation gezeigt werden (Cacioppo et al., 1995; Herbert et al., 1994; Schulz & Schulz, 1997). Des Weiteren wurde unter akutem Stress eine signifikante Zunahme sekretorischer Immunglobuline vom Typ IgA im Speichel nachgewiesen (Bosch et al. 2002; Willemsen et al., 2002).

Diese Ergebnisse werden oftmals derart interpretiert, dass kurzzeitiger psychischer Stress zu einer Verstärkung der *angeborenen* Immunität führt, während Funktionen des *adaptiven* Immunsystems eher herabreguliert werden. Zu dieser Schlussfolgerung kommen in einer kürzlich veröffentlichten Metaanalyse von mehr als 300 empirischen Studien auch Segerstrom und Miller (2004).

Es ist jedoch zu beachten, dass auch Hinweise für eine Verstärkung bestimmter Funktionen der *adaptiven* Immunität durch kurzfristigen Stress vorliegen. Die Anstiege von CD8<sup>+</sup> T-Zellen im Blut und von IgA im Speichel unter akutem Stress beispielsweise widersprechen dem oben beschriebenen Muster. Bemerkenswert ist außerdem, dass Dhabhar und McEwan (1997) eine selektive Umverteilung muriner T-Lymphozyten unter akutem Stress in die Haut feststellen konnten, was zu einer Verstärkung der experimentell induzierten Immunantwort führte. Ein auf diesen Beobachtungen basierendes biphasisches Stresskonzept besagt, dass während chronischer Stress zu einer allgemeinen Suppression von Immunfunktionen führt, akute Stresssituationen eine Verstärkung von angeborenen *und* adaptiven Immunfunktionen zur Folge hätten (Dhabhar & McEwan, 2001).

Für das grundlegende Verständnis des Stresseinflusses auf das menschliche Immunsystem ist unerlässlich, dass umfassendere Untersuchungen über die Auswirkungen von akutem Stress auf das adaptive Immunsystem durchgeführt werden. Erstaunlicher Weise liegen bis zum heutigen Datum kaum Studien vor, die sich mit dem Einfluss von akutem psychischem Stress auf die Verteilung und Funktion der T-Lymphozyten beschäftigen. Diese Zellen nehmen innerhalb der spezifischen Immunität eine wichtige Position ein, weshalb auch zu vermuten ist, dass klinisch relevante Konsequenzen aus einer stressbedingten Beeinflussung der T-Lymphozyten resultieren könnten.