

7 DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurde die eingangs erläuterte spezifische Fragestellung zur Etablierung eines Modellsystems für das Studium von Pathobiologie und Manipulation der ZIA bearbeitet. Die ZIA bei Menschen ist als Folge der HF-Dystrophie, des Anagen-Effluviums und der zusätzlichen Induktion eines vorzeitigen Katagens in reifen Anagen VI-HF beschrieben worden (Braun-Falco, 1961a, Orfanos & Gerstein, 1976). Aus diesem Grund wurde zu Beginn dieser Studie postuliert, dass aus Gründen der überzeugenden klinischen Relevanz ein Mausmodell jene Eigenschaften haben muss, welche die Verhältnisse der ZIA bei Menschen nahezu exakt widerspiegeln. An erster Stelle ist wichtig, dass das Zielobjekt der Zytostatika gut pigmentierte terminale HF der Maus sind. Sie sollen mindestens einen postnatalen Haarzyklus hinter sich haben. Weil die reife Anagen VI-HF-Population die während einer ZIA am stärksten betroffene Kopfhairpopulation ist, sollten auch die murinen HF zur Zeit der zytostatischen Behandlung in dieser Phase des Haarzyklus sein. Wünschenswert ist, dass das Muster von Haarverlust, HF-Histopathomorphologie und Wiederherstellung des Haarkleids in diesem Modellsystem weitgehend identisch zur ZIA bei Menschen ist und möglichst nach der Behandlung mit dem gleichen Medikament auftritt.

Kein bekanntes Modell erfüllt diese Kriterien optimal. Einige der heute gebräuchlichen Versuchsmodelle für ZIA-Studien arbeiten mit jungen Ratten (Hussein *et al.* 1990, Cece *et al.* 1996, Davis *et al.* 2001) und in jüngster Zeit mit neugeborenen weiblichen (Chen *et al.* 1998, Sato *et al.* 2001) und männlichen Mäusen (Shirai *et al.* 2001). Sie nutzen die erste postnatale Generation der HF mit noch nicht abgeschlossener Morphogenese und lanugoartiger Struktur der Haarschäfte. Solche HF sind als Modellsystem nicht ideal, weil während der ZIA bei Menschen reifere, gut pigmentierte Anagen VI-HF betroffen sind (Braun-Falco, 1961a, Orfanos & Gerstein, 1976, Cotsarelis & Milar, 2001).

Es ist anzumerken, dass in diesem Modell die jungen Ratten nach der Behandlung ihre unpigmentierte, weiße Haarschäfte lanugoähnlich und mit nicht gesichertem Haarzyklusstadium verlieren (Hussein *et al.* 1990, Davis *et al.* 2001). Ein weiterer Mangel sowohl von diesem als auch anderer Modelle ist, dass die Histopathologie der provozierten ZIA mit der Pathologie, dem klinischen Verlauf sowie mit der Wiederherstellung der Kopfhare im Rahmen einer ZIA bei Menschen nicht systematisch verglichen wurde.

Im Gegensatz dazu wird in der hier vorgelegten Arbeit ein alternatives und klinisch vergleichbares Modellsystem für ZIA an adolescenten weiblichen Mäusen des Stammes C57BL/6 vorgestellt, welches den gewünschten Kriterien entspricht. Die vorliegende Studie belegt, dass die systemische Applikation von 150 mg/kg CYP (Endoxan, Asta Medica) in C57BL/6 Mäusen mit reifen, gut pigmentierten HF starke Schäden an der HF-Architektur, ein *Anagen-Effluvium*, eine Alopezie sowie einen vorzeitigen Übergang in die Katagen- und Telogenphasen des Haarzyklus erfolgreich provozieren kann, die mit der CYP-induzierten Alopezie bei Menschen vergleichbar sind (Braun-Falco, 1961a, Kostanecki *et al*, 1966, Orfanos & Gerstein, 1976).

Die Ergebnisse bestätigen, dass das Ausmaß der Ereignisse dosisabhängig ist. Damit stimmen sie mit den publizierten Daten überein, die chemotherapiebedingte Schäden der HF-Morphologie mit der Gültigkeit eines „*Alles-oder-Nichts*“-Gesetzes für Tiere und Menschen begründen (Zaun 1967). Die Daten zeigen, dass, wenn die für eine dystrophe Umstellung und Katagentransformation notwendige Schwelle nicht erreicht wird, die HF unbeschädigt bleiben. Aus diesem Grund provoziert die niedrig dosierte CYP-Gabe von 10 mg/kg grundsätzlich keine bzw. nur geringgradige Schäden der Pigmentproduktion und des Melanosomentransfers. Die einmalige Dosis von 150 mg/kg CYP hingegen reicht aus, eine massive dystrophe Umstellung der HF-Morphologie und eine ZIA zu induzieren, ohne für die Mäuse letal zu sein.

Entscheidend an diesem Modell ist die Tatsache, dass der anfangs diffusere Haarausfall (*Effluvium anagenicum*) sich innerhalb von wenigen Tagen ausbreiten kann. Die breitflächige ZIA erfasst innerhalb einer Woche nach der CYP-Gabe den gesamten Rücken. Damit sind die Befunde der Entstehung einer ZIA bei Menschen sehr ähnlich, wo der Haarverlust auch 1-3 Wochen nach der Behandlung ausgelöst wird (Stoll, 1974, Orfanos & Gerstein, 1976).

Die Umstellung der HF-Architektur entspricht dem Grundschema der toxischen Wirkung chemischer Substanzen (Zaun, 1967) und ist mit weiteren histopathologischen Befunden bei Menschen vergleichbar (Braun-Falco, 1961a, Kostanecki *et al*, 1966). Weiterhin ergänzen die hier dargestellten histomorphologischen Ergebnisse über die Pathologie der CYP-bedingten ZIA bereits veröffentlichte Studien über die ZIA bei Menschen (Braun-Falco, 1961a, Stoll, 1974, Orfanos & Gerstein, 1976, Howser, 1996) und Mäusen (Zaun, 1967, Kostanecki *et al*. 1967, Shirai *et al*. 2001).

Aus histopathologischer Sicht verdienen neben den epithelialen Keratinozyten der HF die starken Schäden an den follikeligen Melanozyten besondere Aufmerksamkeit. Der massive Austritt von ektopischen Melaningranula und ihre Verteilung im interzellulären Raum sind wichtige Frühzeichen der Dystrophie (Slominski *et al.* 1996, Tobin *et al.* 1999). Erst danach folgen das Melaninklumping, die Reduktion des proximalen Haarbulbus, der Haarschaftabbruch und der Übergang ins dystrophe Katagen (Maurer *et al.* 1997, Hendrix *et al.* 2005). Eine intakte Pigmentproduktion vor der Verabreichung von CYP ist dabei entscheidend. Da die Melaninmoleküle die Fähigkeit besitzen, chemische Substanzen zu binden, könnte die An- oder Abwesenheit von pigmentierten Haarschäften die Empfindlichkeit der HF gegenüber dem Zytostatikum zusätzlich beeinflussen (Jimbow *et al.* 1991). Angenommen, die HF mit aktiver Melanogenese sind ein bevorzugtes Ziel der zytostatisch wirkenden Pharmaka, so ist der Gebrauch von reifen, gut pigmentierten Anagen VI-HF mit intakter Melanogenese eine weitere gewünschte Eigenschaft jedes guten ZIA-Modellsystems.

Anhand der Ergebnisse wurden in der vorliegenden Arbeit zwei grundlegende Muster für die Wiederherstellung der HF-Morphologie nach der Schädigung durch Zytostatika skizziert. Es wurde festgestellt, dass für die Geschwindigkeit und die Qualität der Reparatur des Haarkleides entscheidend ist, ob die geschädigten HF im dystrophen Anagen VI verbleiben oder aber ins dystrophe Katagen übertreten. Damit spiegeln die Reaktion auf die CYP-Gabe und die Wiederherstellung des Haarfells in unserem Mausmodell die Ereignisse während der Endoxan-induzierten Alopezie bei Menschen wider (Braun-Falco, 1961a, Kostanecki *et al.* 1966) und können als eine natürliche Eigenschaft des Körpers interpretiert werden, Fehler unterschiedlicher Herkunft sowohl in den HF als auch im Haarzyklus beseitigen zu können.

Wichtig ist auch die Tatsache, dass alle während der Sekundären Erholung neu gewachsenen Haarschäfte gut pigmentiert sind und durch ihre schwarze Farbe deutlich auffallen. Solche Befunde sind nach einer CYP-Behandlung bei Menschen bekannt und sprechen für die Qualität dieser Reparaturmechanismen in dem Modellsystem (Fitzpatrick & Hood, 1988, Howser, 1996). Die Bedeutung dieser Wiederherstellungsmechanismen besteht darin, dass die HF die schweren Schäden der Follikelarchitektur anhand eines Zwei-Schritt-Prozesses reparieren können:

- 1) ein vorzeitiger, schneller Übergang ins Katagen und die sich unmittelbar anschließende
- 2) Wiederherstellung der normalen Anatomie (Sekundäre Erholung).

Diese regenerative Strategie der HF ist beachtenswert, weil der HF damit in der Lage ist, erstens die entstandenen Schäden durch die schnelle Induktion terminaler Differenzierung, das gezielte Einschalten der Apoptose und die vorzeitige Katageninitiation zu beseitigen und zweitens durch eine sofortige Regeneration der gesamten HF-Architektur die Defekte im Fell komplett zu rekonstruieren (Paus *et al* 1994a).

Die Studie lässt erkennen, dass im Rahmen des gesamten Haarzyklus nur die Anagen VI- und die Telogenphasen extrem variabel bezüglich der Zeitdauer sein können. Der zeitliche Rahmen der Haarwuchsphasen sowohl von Anagen I bis Anagen VI als auch der einzelnen Phasen der Katagentransformation ist genetisch festgesetzt, da innerhalb dieser Phasen bestimmte HF-Komponenten neu strukturiert werden (Foitzik & Paus, 2005, Krause & Foitzik, 2006). Diese dramatische Verkürzung der Telogenphase nach der CYP-Gabe ist deshalb ein Phänomen mit großem praktischem Wert für die Erklärung der Phänomene des rapiden Nachwachsens der Haare bei Menschen (Tierney *et al.* 1990).

Nach heutigem Kenntnisstand ist CYP das einzige Medikament, für welches *in vivo* demonstriert werden konnte, dass eine verkürzte Telogenphase als Folge einer dystrophen Umstrukturierung der HF entstanden ist, und diese zu einer Beschleunigung des nachfolgenden Haarwuchses führen kann (Paus *et al.* 1994a). Es wird angenommen, dass dieser Befund ein weiterer Teil des regenerativen Programms des Körpers sein könnte, welcher den Verlauf der bereits dargestellten Zwei-Schritt-Strategie der HF-Wiederherstellung in maximalem Tempo ermöglicht. Wenn eine toxische Schädigung der HF durch CYP nicht eine unumgängliche Voraussetzung für die Abkürzung der Telogenphase wäre, könnte das Phänomen klinisch für eine Behandlung sowohl des *Telogen-Effluviums* als auch der androgenetischen Alopezie durch nicht toxische, das Telogen verkürzende CYP-Metabolite oder CYP-Analoga genutzt werden (Headington, 1993).

Bei der Erarbeitung dieses Modellsystems wurde angestrebt, dass es das Verhalten der menschlichen HF auf CYP in unterschiedlichen Körperregionen widerspiegelt. Die ZIA bei Menschen ist durch einen zwar starken Verlust der Kopfhaare, jedoch nur selten mit Ausfall der Gesichts- und Körperbehaarung gekennzeichnet (Braun-Falco, 1961a). Ähnliche regionen-gebundene Unterschiede konnten auch bei der Maus erkannt werden. Für die Mäuse des Stammes C57BL/6 ist typisch, dass während eines ausgedehnten Verlusts der Rückenbehaarung die Bauch- und Kopfhaare erhalten bleiben. Der Befund tritt wiederholt auf und könnte mit einer artspezifischen, regionalen Verteilung von unterschiedlichen HF-Typen erklärt werden

(Kostanecki *et al.* 1967, Paus *et al.* 1994a). Solche HF haben entweder eine niedrigere Mitose- und Wachstumsrate, oder sie sind durch ein unterschiedliches Verteilungsmuster des subkutanen Blutversorgungsnetzes gekennzeichnet. Weil in der Regel nur die Rückenhautpartien untersucht werden, dürften solche regionalen Unterschiede die Aussagekraft nicht beeinflussen.

Im Prozess der Bewertung der klinischen Relevanz dieses Modellsystems tauchten Fragen auf über die Vergleichbarkeit der *in vivo* applizierten CYP-Dosis an Mäusen mit der Dosis für Menschen. Anhand der Literaturangaben bin ich der Meinung, dass die kumulative Dosis für CYP (Endoxan, Asta Medica), die einem Patienten während einer Chemotherapie appliziert wird, im Allgemeinen höher ist als die Einzeldosis, die in unserem Modell gebraucht wird. (Braun-Falco, 1961a, Aktories & Unger, 2005). Hingegen ist die Tagesdosis für erwachsene Menschen niedriger (Braun-Falco, 1961a).

Weiterhin muss eingeräumt werden, dass die CYP-Behandlung in unserem Modell nicht den Prinzipien einer Behandlung mit Zytostatika bei Menschen bis ins Detail entspricht. Der Unterschied zur Chemotherapie bei Menschen besteht in der Art der Anwendung und im Applikationsschema des Zytostatikums (Aktories & Unger, 2005). Die Chemotherapeutika werden meist als Bestandteil einer Kombinations- und seltener als Monotherapie verabreicht, die im Gegensatz zur Einzelgabe in dieser Studie während mehrerer Wochen als Sequenztherapie Anwendung findet. Darüber hinaus ist schwer festzulegen, welche Dosis eines Medikaments im Tiermodell ein tatsächliches Äquivalent der Applikation bei Menschen darstellen würde. Entscheidend ist, dass die Dosis das gleiche Wirkungsspektrum einschließlich der Nebenwirkungen auch im Tiermodell hervorrufen kann.

Die pharmakologische Manipulation der CYP-induzierten Alopezie mit CsA zeigt, dass CsA nicht nur ein potenter Induktor des Haarwuchses bei Mäusen ist (Paus *et al.* 1989, Gafter-Gavli *et al.* 2003/2004), sondern auch die ZIA beeinflussen kann. Die Ergebnisse der Studie korrespondieren mit publizierten Daten über erfolgreiche Inhibition der ZIA und des Katagens *in vivo* mittels topischer Applikation von CsA und FK 506 und bestätigen das präventive Potential dieses IPL (Hussein *et al.* 1995, Maurer *et al.* 1997, Shirai *et al.* 2001).

Die HF-Dystrophie und das Effluvium konnten jedoch durch die systemische Applikation von CsA in diesem Mausmodell nicht komplett blockiert, sondern lediglich gemindert werden, wobei der Übergang ins Katagen und der Eintritt der ZIA verzögert werden konnten. Von Bedeutung

ist die Erkenntnis, dass CsA die Reaktion der HF auf CYP in Richtung dystrophes Anagen VI lenken konnte. Zu vermerken ist, dass die HF mehr als drei Tage nach der CYP-Gabe eine intakte Haarschaft- und Pigmentproduktion haben und die ZIA deutlich schwächer ausfällt. Wichtig dabei ist, dass die Gabe von CsA die Reparatur der HF (die Primäre Erholung) sofort in Gang setzt.

Diese wachstumsfördernde Wirkung des verwendeten CsA könnte, ähnlich wie die eines weiteren IPL, des FK 506, mit der Blockade der Calcineurin-abhängigen Aktivierung von NFAT durch diese Pharmaka erklärt werden (Ho *et al.* 1996, Maurer *et al.* 1997, Gafter-Gvali *et al.* 2003/2004). Da Calcineurin und NF-AT in den Keratinozyten der murinen (Santini *et al.* 2001) und menschlichen Haut (Al-Daraji *et al.* 2002), weit verbreitet sind, könnten diese Effekte klinisch erfolgreich für die Prävention der ZIA bei Menschen genutzt werden, indem die Calcineurinaktivität mit antagonistisch wirkenden Peptiden blockiert wird (Hendey *et al.*, 1992, Lawson & Maxfield, 1995).

Um den protektiven CsA-Effekt auf die ZIA überzeugend zu erklären, muss man die Bedeutung der CYP-induzierten Apoptose für die dystrophe Umstellung der HF-Morphologie berücksichtigen. Heute ist bekannt, dass solche nukleären Transkriptionsfaktoren wie p53 mit nachgewiesenen proapoptotischer Wirkung in den HF-Keratinozyten nach DNS-Schäden infolge einer Bestrahlung (McGregor *et al.* 1997, Song & Lambert, 1999) oder Chemotherapie (Giaccia & Kastan, 1998, Botchkarev, 2000b, Sharov 2004) vermehrt intrazellulär akkumulieren. Parallel dazu werden auch die p21waf/cip1 und p27kip1 (p53-Zielgen) berücksichtigt, welche infolge der DNS-Schäden intrazellulär hochreguliert werden und zu Bindung und Inaktivierung des CDK2/Cyclin E-Komplexes führen können. Damit kann die Zelldifferenzierung in der G1/S-Phase gebremst werden (Botchkarev 2003, Yamamoto & Nishioka, 2005).

Die erhöhte Aktivität von p53 führt in den geschädigten HF zur Hochregulation von Fas, IGF-BP3 und Bax, die auch unter der Transkriptionskontrolle von p53 stehen (Lindner *et al.* 1997, Song & Lambert, 1999, Botchkarev *et al.* 2000b, Sharov *et al.* 2004). Weil eine Hochregulation von Fas und Rezeptoren wie Fas/Apo-1 und p55 TNF-R und eine Reduktion der bcl-2/Bax-Ratio eine proapoptotische Wirkung im Prozess der HF-Transformation während der Katagenphase des Haarzyklus hat (Lindner *et al.* 1997), wird angenommen, dass sie auch im Prozess der dystrophen Umstrukturierung der HF während der ZIA beteiligt sind (Botchkarev *et al.* 2000b, Botchkarev *et al.* 2003, Sharov *et al.* 2004).

Die neuen Erkenntnisse über die molekularbiologischen Mechanismen der inhibierenden IPL-Wirkung auf die Katagenphase zeigen, dass die Expression der proapoptischen Marker wie Bax, p53 und IL-1 β Converting Enzyme (ICE), parallel mit der Inhibition der Calcineurin-Aktivität und der NF-AT-Translokation, reduziert wird und die Apoptose gehemmt (Gafer-Gvili *et al.* 2003/2004). Gafer-Gvili *et al.* belegen, dass die Calcineurin-Inhibition zur Blockade von Differenzierungsmarkern wie die p21waf/cip1 und p27kip1 in der Haut und zur Reduktion von TGF- β sowohl bei nackten als auch bei normalen C57BL/6 Mäuse führen kann. Dabei ist auch eine Steigerung der Bcl-2/Bax-Ratio und des IL-1 α zu vermerken (Gafer-Gvili *et al.* 2003). Infolge dieser antiapoptischen Wirkung der IPL werden die molekularbiologischen Signale und Enzymen, welche Apoptose in den HF-Keratinocyten herbeiführen, gebremst (Tanaka *et al.*, 2004, Gafer-Gvili *et al.* 2004). Damit wird die Anzahl der Apoptose-Fälle der epithelialen Keratinocyten reduziert, die Transformation ins Katagen aufgehoben und eine Verlängerung der Anagenphase erreicht. Aus diesem Grund kann die festgestellte protektive Wirkung des CsA gegen ZIA in dieser Studie auch als Folge seiner antiapoptischen Wirkung wie bei Gafer-Gvili *et al.* oder Yarosh *et al.*, betrachtet werden (Gafer-Gvili *et al.* 2003/2004, Yarosh *et al.* 2005).

Aufgrund der Zuverlässigkeit und der Vergleichbarkeit mit der ZIA bei Menschen hat die hier vorgestellte Technik für die Initiation und Manipulation der ZIA gute Perspektiven. Das Modell kann sowohl für eine pharmakologische Manipulation und detaillierte Erforschung der ZIA, als auch für Entwicklung von allgemein wirkenden Anti-Alopezie-Pharmaka genutzt werden. Solche Studien wurden bereits sowohl mit Vitamin D und Vitamin D-Analoga (Paus *et al.* 1997b, Schilli *et al.* 1998) als auch mit PTH/PTHrP und dessen Antagonisten (Peters *et al.* 2001), mit Estrogenen sowie mit Zink (Ohnemus *et al.* 2004, Plonka *et al.* 2005) durchgeführt, wobei die standardisierten Verhältnisse des CYP-Modells eine entscheidende Grundlage für die Signifikanz der Ergebnisse waren.

Das Modell ist auch für das Studium der Wirkung anderer Pharmaka gut geeignet. Die vielen Möglichkeiten in dieser Hinsicht sind ein großer Vorteil der Technik, so dass sie weiterhin in Organkulturen mit gezüchteten Anagen VI-HF der C57BL/6 Maus, oder als Langzeitkultur mit menschlichen HF (Philpott *et al.* 1990, Peters *et al.* 2006) *ex vivo* für längere Zeit benutzt werden kann. Auf diese Weise könnten vor dem Start einer klinischen Studie mit Anti-Alopezie-wirksamen Pharmaka diese bereits *in vitro* bewertet werden. In einem solchem System könnte die für die ZIA charakteristische Pathologie sowie die Mechanismen des HF-Nachwachstums

nach beliebigen chemischen Schäden auf ultrastruktureller und molekularbiochemischer Ebene untersucht werden. Weiterhin wird auf diese Weise auch das Studium der CYP-induzierten Umstellung der Proteinsynthese oder der Gen-Expression ermöglicht.

Im Rahmen der Zellforschung können die dargestellten Modellsysteme von besonderem Interesse für das Studium der Pigmentzellen oder der Apoptose sein. Da der physiologische Prozess der Melanogenese während der Anagen-Katagen-Telogen-Transformationen für die C57BL/6 Maus bereits gut erforscht ist, bestehen ausgezeichnete Vergleichsmöglichkeiten (Slominski *et al.* 1994, Tobin *et al.* 1999, Slominski *et al.* 2004). Die einzigartige Lokalisation von Pigmentzellen innerhalb der HF könnte für das Studium der phasenbedingten Änderung der zellulären Aktivität genutzt werden. Biochemische und besonders physikalische EPR-Tests am CYP-Modell haben bereits wesentlich für das Verständnis der Pathogenese der Dystrophie und der Vorgänge während der Primären und Sekundären Erholung beigetragen (Slominski *et al.* 1996, Plonka *et al.* 2005).

Besonders wichtig ist das Modell für die Apoptoseforschung. Die massive Apoptose der Matrixkeratinozyten nach CYP-Gabe ist Standardreaktion auf die toxische Wirkungsweise der Zytostatika und Objekt zahlreicher Studien, welche die ersten gesicherten Daten über die Rolle bestimmter proapoptotischer Faktoren im Prozess der Apoptoseinitiation geliefert haben (Lindner *et al.* 1997, Schilli *et al.* 1998, Botchkarev *et al.* 2000, Sharov *et al.* 2004). Anhand dieses Modells konnten auch Steroidhormone, welche die Apoptose provozieren und sogar im Fall einer Co-Applikation mit CYP den Zellverlust durch Apoptose beschleunigen, untersucht werden (Paus *et al.* 1994a, Ohnemus *et al.* 2004).

Das Modell ist auch auf dem Gebiet der klinischen Forschung vielversprechend, weil bis heute keine zufriedenstellende Prävention und Therapie des massiven Haarverlusts nach einer Chemotherapie möglich ist. Die zur Behandlung anderer Formen des Haarausfalls brauchbaren Pharmaka sind im Falle einer ausgeprägten ZIA nicht wirksam. Auch die stark empfohlene Kältetherapie mittels hypothermen Kappen oder Skalptourniquets, welche die Blutzufuhr der Kopfhaut einschränken und als eine hoch effektive präventive Methode diskutiert wird (Ridderheim *et al.* 2003, Massey, 2004), hat sich in manchen Fällen als unpraktikabel und ineffizient erwiesen (MaCduff *et al.* 2003). Sie ist nicht generell zu empfehlen (Tollenhaar *et al.* 1994, Grevelman & Breed, 2005). Wegen der Komplexität der HF als funktionsfähiger Minieinheit gibt es derzeit wenige *in vivo* Alternativen. Deswegen können die erworbenen Fachkenntnisse

über die unterschiedlichen Muster der HF-Reaktion auf zytostatisch wirkende Medikamente in absehbarer Zeit einen besseren und gezielteren Umgang mit ZIA ermöglichen.

Abschließend bieten die in dieser Arbeit identifizierten Reaktionsmuster drei Hauptstrategien für die Therapie des Haarausfalls:

1. Eine Prävention oder maximale Reduktion der Follikeldystrophie als Erstantwort auf Schäden durch zytostatische Pharmaka. Als geeignete Pharmaka kommen effektive IPL wie CsA und FK 506 in Frage, welche über eine schwache systemische Wirkung einerseits, aber über ein voll ausgeprägtes wachstumsmodulierendes Potential andererseits verfügen.
2. Durch Dosisreduktion oder Fraktionierung eine Erhöhung des Populationsverhältnisses zugunsten der HF im dystrophen Anagen VI zu ermöglichen und damit jene HF-Population zu favorisieren, welche dann zur „Primären Erholung“ in der Lage ist.
3. In ausgeprägten Fällen einer ZIA könnte die „Sekundäre Erholung“ mit zusätzlichen Pharmaka gefördert und beschleunigt werden, z.B. mit potenten Glucocorticosteroiden wie Dexamethason (Paus *et al.* 1994), welche den Anteil der HF im dystrophen Katagen auf 100% erweitern. Diese Co-Applikation würde den Effekt eines signifikant schnelleren und kosmetisch zufriedenstellenden Nachwachsens der Haare haben. Außerdem könnte die Verkürzung der Telogenphase nach der CYP-Gabe, wenn die toxische Schädigung der HF durch CYP nicht eine unumgängliche Voraussetzung für die Abkürzung der Telogenphase wäre, für die Behandlung des Telogen-Effluviums sowie der androgenetischen Alopezie mittels nicht toxischer telogen verkürzender CYP-Methabolite oder CYP-Analoga klinisch genutzt werden.

8 ZUSAMMENFASSUNG

Die Zytostatika-induzierte Alopezie wird von den Betroffenen als Eingriff in die körperliche Integrität mit erheblichem Attraktivitätsverlust empfunden. Infolge der sozialen Isolation kommt der ZIA eine sekundäre Krankheitsbedeutung zu, und sie wird zu einer ernsthaften psychischen Belastung für die Patienten. Neue Konzepte für Prävention und Therapie werden von geeigneten Versuchsmodellen erwartet. Reife HF sind mit gut studierter Morphologie und zyklischer Aktivität ein attraktives Modell für das Studium der Pathologie der diversen Formen von Haarverlust einschließlich der ZIA.

Die hier vorgelegte Arbeit hatte zum Ziel, anhand des C57BL/6 Mausmodells für die Haarforschung ein zuverlässiges Modell für das Studium der Pathologie und für die pharmakologische Manipulation der ZIA *in vivo* zu etablieren. In der vorliegenden Studie wird die Wirkung einer Einzeldosis von 150 mg/kg CYP (Endoxan) auf den Haarwuchs, die Pigmentierung und die Wiederherstellung der HF-Morphologie von depilations-induzierten reifen Anagen VI-HF detailliert studiert. Die CYP-bedingte ZIA wird makroskopisch anhand des Haarschaftverlusts und der Änderung des Hautkolorits der Rückenhaut untersucht. Weitere Aspekte werden histomorphometrisch und elektronenmikroskopisch analysiert.

Die Ergebnisse zeigen, dass die CYP-behandelten Tiere sowohl makroskopisch als auch histologisch die gleichen Phänomene aufweisen, die für die Pathologie der ZIA nach einer CYP-Behandlung bei Menschen charakteristisch sind. Auffallend sind das anfangs diffuse Effluvium und die ungleichmäßig verteilte Alopezie mit rapidem Eintritt und Progression. Die Befunde konnten histologisch mit einem massiven Verlust der Bulbuskeratinozyten, der Schwellung der DP, mit Melanininkontinenz und Klumping sowie mit einem Haarschaftverlust der Anagen VI HF Population und einer außergewöhnlichen Erweiterung des distalen Haarkanals begründet werden. Die ektope Verteilung von abnormen Melaningranula sowie die morphologisch stark geschädigten Matrixkeratinozyten und Melanozyten in CYP-behandelten Tieren konnten ultrastrukturell bestätigt werden.

Die Daten unterstützen die Existenz von zwei pathologischen Grundreaktionen von Anagen VI-HF auf zytostatische Noxen: ab einer bestimmten Dosischwelle schlagen die HF den dystrophen Anagen VI- oder den dystrophen Katagen-Pfad ein. Auffallend sind die regional bedingten Differenzen der HF-Reaktion auf CYP, wobei die HF in der Nackenregion stärker befallen sind.

Auch nach schwersten Zytostatikaschäden sind die HF in diesem Mausmodell in der Lage, ihre Morphologie sofort zu reparieren und den Verlust schnellstens zu ersetzen. Die HF-Architektur wird schon vor dem Eintritt in die Katagenphase mittels Primärer Erholung repariert. Nach folgender Transformation ins Telogen wird das Haarkleid durch eine Initiation der Sekundären Erholung und *de novo* Generation von HF komplett wiederhergestellt. Die registrierten Primären und Sekundären Erholungsmuster der Morphologie, Repigmentation und der Wiederherstellung des Haarkleides entsprechen den klinisch bekannten Mustern des Nachwachsens der Kopfhare nach einer ZIA bei Menschen.

Die ZIA in dem vorgestellten Mausmodell konnte durch eine dreimalige Applikation des IPL CsA (Sandimmun) in einer Dosis von 250 mg/kg signifikant abgeschwächt werden. Die Daten der vorliegenden Arbeit zeigen, dass die systemische Gabe von CsA eine protektive Wirkung auf die HF hat. Der Eintritt der CYP-bedingten ZIA konnte verzögert, jedoch nicht komplett verhindert werden. Die dreimalige Dosis von 5 mg / Maus favorisiert den Eintritt in das dystrophe Anagen VI-Stadium und fördert die schnelle Primäre Erholung der geschädigten HF. Im Gegensatz dazu bedingt 150 mg/kg CYP einen massiveren Übertritt ins dystrophe Katagen, sodass die Reparatur des Haarkleides ausschließlich infolge Sekundärer Erholung zustande kommt.

Die hohe klinische Relevanz dieses Versuchsmodells erlaubt eine detaillierte Untersuchung der Pathobiologie der ZIA unter klinischen Verhältnissen innerhalb einer übersichtlichen Zeitspanne *in vivo*. Deshalb stellt es ein äußerst geeignetes Testsystem für das Studium der ZIA und die Selektion geeigneter Pharmaka mit protektiver Wirkung der ZIA bei Menschen dar.