

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Lyme-Borreliose

Die Lyme-Borreliose ist eine infektiös bedingte Systemerkrankung, die sich in unterschiedlichen Organsystemen manifestieren kann. Außer beim Menschen gibt es auch bei verschiedenen Haussäugetieren das klinische Bild der Lyme-Borreliose (s. 2.1.3).

Seit Ende des 19. Jahrhunderts gab es Beschreibungen verschiedener Syndrome, die in Verbindung mit Zeckenstichen beobachtet wurden. Dazu gehörte zum Beispiel das Erythema chronicum migrans, eine sich um die Einstichstelle herum ausbreitende Wanderröte, oder die 1940 von Bannwarth beschriebene Meningopolyneuritis nach Zeckenstichen. Auffallend war auch, dass nach einer Penicillinbehandlung häufig eine Besserung des Krankheitsbildes auftrat, was eine bakterielle Erkrankung vermuten ließ (Steere 1989).

1977 kam es im Bezirk Lyme des US-Bundesstaates Connecticut zum gehäuften Auftreten von Arthritisfällen bei Kindern. Wenig später konnten Zecken der Art *Ixodes scapularis* als Überträger identifiziert werden, erst 1982 erfolgte die Isolierung des Erregers *Borrelia burgdorferi* aus der Zecke durch Burgdorfer und Barbour. Daraufhin konnten die verschiedenen Syndrome ätiologisch einer Infektion mit diesem Erreger zugeordnet werden. Die Lyme-Arthritis ist somit nur eine Manifestation; daneben können dermatologische, neurologische, kardiologische oder ophthalmologische Symptomatiken das Krankheitsbild beherrschen. Im Folgenden soll ein Überblick über Verlauf, Klinik und Pathogenese der Lyme-Borreliose sowie nähere Erläuterungen zu ihrem Erreger *Borrelia burgdorferi sensu lato* gegeben werden.

2.1.1 Übertragung und Epidemiologie

Borrelien sind zur Vermehrung und Verbreitung an Vektoren gebunden, die grundsätzlich zu den Arthropoden gehören (Burgdorfer und Schwan 1991). Der Erreger der Lyme-Borreliose, *B. burgdorferi*, wird fast ausschließlich von Zecken der Gattung *Ixodes* (Schildzecken) übertragen. In Europa handelt es sich um die Art *Ixodes ricinus*, im Norden und Westen Amerikas sind überwiegend die Arten *Ixodes scapularis* (früher *Ixodes dammini*) und *Ixodes*

pacificus, in Asien *Ixodes persulcatus* als Überträger von Bedeutung (Steere 1989). Die Entwicklung der Zecken erfolgt über einen komplizierten Zyklus mit einer Dauer von durchschnittlich 3 Jahren. Dabei durchlaufen die Zecken drei Entwicklungsstadien: Larve, Nymphe und Adulte, wobei die Weiterentwicklung zum nächsten Stadium jeweils eine einzige, einige Tage dauernde Blutmahlzeit erfordert. 2–6 Wochen nach der Eiablage schlüpfen die sechsbeinigen Larven. Diesen dienen Kleinnager, hauptsächlich Mäuse als Zwischenwirte. Nymphen, die im Gegensatz zu ihrer Vorstufe acht Extremitäten aufweisen, befallen größere Tiere wie Kaninchen, Vögel, Marder, Igel oder Eichhörnchen. Die adulten Zecken saugen an großen Säugetieren (Rotwild, Kühe, Schafe, Hunde). Beim Menschen sind alle drei Entwicklungsstadien anzutreffen, jedoch werden in den meisten Fällen Nymphen für die Übertragung von *B. burgdorferi* auf den Menschen verantwortlich gemacht. Die Tatsache, dass die Nymphen ihre Blutmahlzeit im Frühjahr und Anfang des Sommers zu sich nehmen, erklärt die Hauptinfektionszeit für den Menschen zwischen Mai und Juli. Nur selten kommt es zu einer Infektion im Herbst oder an warmen Wintertagen, wenn adulte Zecken den Menschen befallen (Kamradt et al. 1998). Als Hauptreservoir für Borrelien dienen Kleinnager (hauptsächlich Mäuse), die meist nicht erkranken; Rotwild, Haus- und Nutztiere haben Bedeutung als Zwischenwirte.

Die Übertragung von *B. burgdorferi* erfolgt während der Blutmahlzeit der Zecken. Die Borrelien sind vor allem im Mitteldarm der Zecke nachweisbar. Während des Saugaktes penetrieren die Bakterien das Darmepithel und gelangen über die Hämolymphe zu den Speicheldrüsen der Zecke, von wo aus sie mit dem Speichel auf den nächsten Wirt übertragen werden. Diskutiert wird auch eine Transmission durch Regurgitation des Darminhaltes der Zecke (Burgdorfer und Schwan 1991). Experimentelle Studien ergaben, dass die Zecken für 24 Stunden auf dem Wirt schmarotzen müssen, damit eine Übertragung auf den nächsten Wirt nachgewiesen werden kann (Piesmann et al. 1987). „In vivo“ findet wohl zumindest in den ersten sechs Stunden keine Erregerübertragung statt; eine direkte Korrelation zwischen Infektionswahrscheinlichkeit und Dauer der Blutmahlzeit wurde an Kaninchen nachgewiesen, denen mit *B. burgdorferi* infizierte Nymphen aufgesetzt und nach bestimmten Zeiten wieder entfernt wurden (Piesmann et al. 1991).

In den USA und Europa existieren zahlreiche endemische Herde. Je nach Region sind bis zu 30 %, in manchen Regionen über 50 % der Zecken mit *B. burgdorferi* infiziert. In Deutschland rechnet man mit ca. 30 000 Neuerkrankungen pro Jahr. Befällt eine infizierte

Zecke den Menschen, kommt es bei 30 % zu einer Erregerübertragung, 75 % davon entwickeln nachfolgend eine Lyme-Borreliose (Burmester und Ullrichs 2000). Ohne Therapie gehen ca. 60 % in ein Spätstadium der Borreliose bzw. in einen chronischen Verlauf über. Bis zu 15 % der gesunden Bevölkerung weisen Antikörper gegen *B. burgdorferi* auf.

2.1.2 Klinik und Therapie beim Menschen

Der Verlauf einer Borrelieninfektion lässt sich in drei Stadien einteilen, die durch den zeitlichen Abstand zum Zeckenstich einerseits und den damit verbundenen Organmanifestationen andererseits charakterisiert sind. Man spricht auch von lokalen, generalisierten und chronischen Manifestationsformen. Jedoch ist zu bedenken, dass sich Stadien überschneiden oder im Krankheitsverlauf nur bestimmte Symptome auftreten können und Stadien übersprungen werden.

Beim **Stadium I** handelt es sich um eine lokale Infektion, wobei sich eine Hautrötung konzentrisch um die Einstichstelle herum ausbreitet. Dieses sogenannte Erythema migrans bildet sich 2–4 Wochen nach dem Zeckenstich wieder zurück. Das kann einerseits durch die erfolgreiche Erregerelimination bedingt sein, ebenso gut möglich ist aber auch eine Erregerpersistenz mit nachfolgendem Befall anderer Organe. Gelegentlich tritt ein allgemeines Krankheitsgefühl mit leichtem Fieber und Lymphknotenschwellung auf.

Nach hämatogener und lymphogener Generalisation der Borrelien kommt es zum **Stadium II**, welches Wochen bis Monate nach dem Zeckenstich auftritt. Es beinhaltet weitere dermatologische, außerdem neurologische, ophthalmologische, kardiale und frühe rheumatologische Manifestationen. Die Lymphadenosis cutis benigna (Lymphozytom) ist eine B-Zell-dominierende Entzündungsreaktion an Akren des Kopfes und am Thorax. Neurologisch können Meningitis, Enzephalitis, Hirnnervenlähmungen (v.a. Fazialisparesen) und Radikuloneuropathien auftreten. Im Bereich des Auges überwiegt eine hintere Uveitis, die unterschiedlich stark ausgeprägt sein kann. Die seltene Herzbeteiligung äußert sich in Form einer Karditis mit Reizleitungsstörungen. Rheumatologische Symptome treten als wandernde Gelenk- und Muskelschmerzen auf, selten kommen in diesem Stadium bereits flüchtige Arthritiden vor.

Die chronische Form der Borreliose, **Stadium III**, ist Monate bis Jahre nach dem Zeckenstich anzutreffen, was die Diagnose erschwert, da die Symptomatik nicht auf Anhieb mit einem

Zeckenstich in Verbindung gebracht wird. Hierbei überwiegt das rheumatologische Krankheitsbild in Form der Lyme-Arthritis. Rezidivierende oder chronische, meist akut auftretende Arthritiden vorwiegend der Knie-, Sprung- und Handgelenke beherrschen das Bild, selten kommt es zur Myositis. Bei der chronischen Hautform der Borreliose, der Acrodermatitis chronica atrophicans, ist die Haut dünn und gefältelt mit durchscheinenden Gefäßen. Späte neurologische und kardiologische Manifestationen sind schwerwiegend, treten jedoch selten in Erscheinung.

Die Therapie der Lyme-Borreliose erfolgt mit Antibiotika und sollte über mehrere Wochen durchgeführt werden. Wirksam sind Amoxicillin, Doxycyclin und Cephalosporine der dritten Generation, ferner Penicillin G (häufige Applikation notwendig aufgrund der schnellen Elimination) und Erythromycin (weniger gute Wirksamkeit). Die Prognose ist im Allgemeinen gut. Ungefähr 10 % der chronischen Fälle sprechen allerdings nicht auf die Therapie an, was entweder mit der bereits erwähnten Autoimmunopathie in Zusammenhang gebracht wird oder durch eine Erregerpersistenz ausgelöst werden kann. Ob die Erreger dabei auch intrazellulär persistieren können, bleibt unklar. So konnte in einem Synovialzell-*In-vitro*-Modell (Monolayer-Kultur) eine Behandlung mit Ceftriaxon zwar die extrazellulären Borrelien eliminieren, in den Synovialzellen konnten jedoch nach einem Zeitraum von über 8 Wochen noch lebende Borrelien nachgewiesen werden (Girschick et al. 1996). Neuere elektronenmikroskopische Untersuchungen weisen darauf hin, dass die Aufnahme von *B. burgdorferi* durch Fibroblasten den Borrelien kein intrazelluläres Überleben ermöglicht, sondern vielmehr eine Zerstörung und Lysis der Zelle bewirkt, was zu den lokalen Entzündungserscheinungen beiträgt (Franz et al. 2001). Das spricht jedoch nicht gegen eine extrazelluläre Persistenz des Erregers.

2.1.3 Lyme-Borreliose bei Haustieren

Haustiere werden, ebenso wie der Mensch, von Zecken befallen und können folglich mit *B. burgdorferi* infiziert werden. Im Gegensatz zum heutigen Wissen über Lyme-Borreliose beim Menschen ist diese Erkrankung bei Haustieren lange nicht so ausführlich untersucht, so dass über Verbreitung und Krankheitsverlauf nur wenige gesicherte Erkenntnisse vorliegen. 1984 wurde in den USA erstmalig der Zusammenhang zwischen einer Polyarthritis und einem Spirochätenbefall beim Hund erbracht, indem im Blut des erkrankten Tieres Spirochäten nachgewiesen werden konnten (Lissmann et al. 1984). Die häufigsten klinischen Symptome beim Hund sind Störungen des Bewegungsapparates wie steifer Gang, intermittierende

Lahmheit und Gelenkschwellungen, die meistens mit Fieber und Appetitlosigkeit einhergehen. Beschrieben sind außerdem neurologische Fälle mit eingeschränkten Reflexen, auch können Beteiligung des Herzens (Herzarrhythmien) und der Haut (Erytheme, Alopezien) auftreten (Baatz et al. 2000). Ferner wurde von Lymphknotenschwellungen und Nierenfunktionsstörungen berichtet (Magnarelli et al. 1987). Seit 1999 ist ein Impfstoff für Hunde auf dem Markt, der inaktivierte Bakterien eines europäischen *sensu stricto*-Stammes enthält.

Über die Borreliose bei Katzen ist wenig bekannt. Gibson und Mitarbeiter konnten erstmalig nach Infektion von 15 Katzen mit *B. burgdorferi* klinische Symptome in Form von Störungen im Bereich des Bewegungsapparates nachweisen (Gibson et al. 1993). Einen erhöhten Antikörpertiter gegen *B. burgdorferi* zeigten bei einer in Texas durchgeführten Studie 36 % der untersuchten Katzen (Angulo 1986). Untersuchung von felines Blutseren in Berlin erbrachten dagegen keinen Infektionstiter (Käsbohrer und Schönberg 1990).

Letzgenannte Studie untersuchte ebenfalls Seren von Pferden auf das Vorhandensein spezifischer Antikörper, wobei im Immunfluoreszenztest kein Tier, im ELISA 16 % der Tiere ein positives Ergebnis aufwiesen. Fallberichte über den Zusammenhang zwischen der Isolation von *B. burgdorferi* und dazugehörigen Krankheitsbildern beim Pferd schildern neben unspezifischer Allgemeinsymptomatik und Aborten Manifestationen im Bereich des Bewegungsapparates (Lahmheit, Polyarthrit), des Auges, der Haut und des Zentralen Nervensystems (Burgess et al. 1986, Burgess und Mattison 1987, Madigan 1993, Liebisch et al. 1999).

Der erste Fall einer klinischen Borreliose beim Rind wurde von Burgess und Mitarbeitern (1987) beschrieben. Die Kuh litt unter Kachexie, Lahmheit und Lymphadenopathie. *B. burgdorferi* konnte aus Leber und Lunge isoliert werden. Auch bei kleinen Wiederkäuern dominiert bei der Lyme-Borreliose eine Arthritis.

2.2 Biologie von *Borrelia burgdorferi*

2.2.1 Klassifikation

Borrelien, so benannt nach dem französischen Mikrobiologen A. Borrel, sind gramnegative, mikroaerophile Schraubenbakterien. Taxonomisch werden sie folgendermaßen eingeteilt:

Ordnung:	Spirochaetales
Familie:	Spirochaetaceae
Gattung:	<i>Borrelia</i>
Arten:	<i>B. burgdorferi sensu stricto</i> (USA und Europa) <i>B. garinii</i> (Europa) <i>B. afzelii</i> (Europa) <i>B. japonica</i> , <i>B. valaisiana</i> , <i>B. andersonii</i> (nicht humanpathogen)

Da *B. burgdorferi* genetisch eine sehr heterogene Art ist, wird sie übergeordnet als *Borrelia burgdorferi sensu lato* („im weiteren Sinne“) bezeichnet. Diese wird weiter in verschiedene Spezies unterteilt, denen unterschiedliche klinische Manifestationen zugeordnet werden können: *B. burgdorferi sensu stricto* (Arthritis und Erythema migrans), *B. afzelii* (Acrodermatitis chronica atrophicans) und *B. garinii* (Nervensystem) (van Dam et al. 1993). In den USA ist hingegen nur die Spezies *B. burgdorferi sensu stricto* vertreten, was die dort im Vordergrund stehenden Lyme-Arthritis-Fälle erklärt (Priem et al. 1999).

2.2.2 Morphologie

Wie schon erwähnt, gehört *B. burgdorferi* zu den Spirochäten, die sich durch ihre korkenzieherartige Struktur und eine hohe Motilität auszeichnen. Sie besitzen eine Länge von 15–30µm und einen Durchmesser von 0,2–0,3µm. Nach längerer Kultivierung sind die Borrelien länger und zeigen weniger enge Windungen (Barbour und Hayes 1986). Wie alle Bakterien der Ordnung Spirochaetales besitzen sie drei wesentliche Bestandteile: Protoplasmazyylinder, äußere Hüllmembran (outer envelope) und dazwischen liegende Achsialfibrillen (Endoflagellen), die den Bakterien eine ausgeprägte Eigenbeweglichkeit ermöglichen. Der längliche Protoplasmazyylinder wird von einer Zellmembran umgeben. Periplasmatisch liegen mehrere (7–30, meist zwischen 7 und 11) Flagellen, die jeweils an den

Polen inserieren, sich um den Protoplasmazyylinder winden und in der Zylindermitte überlappen. Hauptbestandteil der Geißeln ist das Flagellin, ein 41 kDa-Protein. Als äußere Schicht, in loser Verbindung zum Protoplasmazyylinder, schließt sich die trilaminare äußere Hüllmembran an, deren Oberflächenproteine, typische bakterielle Lipoproteine, ebenso wie das Flagellin, stark immunogen sind. Auf der Oberfläche ist eine Mukoidschicht locker assoziiert, die sich durch Waschen mit PBS (phosphate buffered saline) leicht entfernen lässt. In Stress-Situationen, z.B. nach dem Auftauen oder durch Zugabe von Penicillin, können die Borrelien die äußere Hüllmembran abwerfen, wodurch es zur Bildung sogenannter „blebs“ kommt. Auch diese stehen im Verdacht, die Immunantwort zu stimulieren (Barbour und Hayes 1986). Die sogenannten outer surface proteins (Osp) lassen sich aufgrund ihres Molekulargewichts in mehrere Gruppen unterteilen (Osp A–F), von denen Osp A, B und C die immunologisch wichtigsten darstellen. OspA hat ein Molekulargewicht von ca. 31 kDa, OspB von 34 kDa und OspC von 23 kDa. Sie werden aufgrund ihrer Heterogenität wiederum in verschiedene Serotypen unterteilt, die mit den verschiedenen Genospezies assoziiert sind. Interessant ist, dass Borrelien in der Zecke hauptsächlich OspA exprimieren, im Menschen dagegen direkt nach der Infektion OspC als Oberflächenantigen angetroffen wird. Bei Borreliose-Patienten findet man aus diesem Grund vor allem Antikörper gegen OspC.

2.2.3 Genom

Das Genom von *B. burgdorferi* wurde 1997 von Fraser und seinen Mitarbeitern vollständig entschlüsselt. Es besteht aus einem linearen Chromosom mit über 900 000 Basenpaaren und mindestens 17 linearen und zirkulären Plasmiden mit über 500 000 Basenpaaren, die u.a. für die bereits erwähnten Membranproteine kodieren. Das Chromosom enthält 853 Gene, welche Proteine kodieren, die für die DNA-Replikation, Transkription, Translation, Stofftransport und Energiestoffwechsel gebraucht werden. Gene für biosynthetische Stoffwechselwege sind nicht vorhanden, was erklärt, warum *B. burgdorferi* in vitro Serum-supplementiertes Kulturmedium benötigt (Fraser et al. 1997). Die Plasmide kodieren wahrscheinlich Proteine, die für die Virulenz der Bakterien und ihre Antigenvariation von Bedeutung sind. Durch das Passagieren der Borrelien kommt es zum Verlust einiger Plasmide, Veränderungen des Proteinexpressionsmusters und damit verbunden zu einer verminderten Fähigkeit, Labortiere experimentell zu infizieren (Norris et al. 1995).

2.2.4 Kultivierung

Nach bisherigem Kenntnisstand ist das naturgemäße Vorkommen von Borrelien immer an einen Wirt gekoppelt. Das ist für diese Bakterien von Vorteil, da Borrelien komplexe Ansprüche an ihre Umgebung stellen, was sich auch bei der Kultivierung zeigt. Auf diese Weise werden eigene energieaufwendige Biosynthesen vermieden und die nötigen Wachstumsstoffe durch den Wirt bereitgestellt. Seit Beginn des 20. Jahrhunderts wurde versucht, Spirochäten zu kultivieren. Novy und Knapp gelang es, *Borrelia turicatae* im Peritoneum von Ratten anzuzüchten, später erfolgte die Anzüchtung in embryonierten Hühnereiern (Barbour und Hayes 1986). Untersuchungen zeigten, dass Borrelien für ihr optimales Wachstum ein mikroaerophiles Milieu bevorzugen, und dass ihre Beweglichkeit in einem Glucose-substituiertem Medium besser ist. Borrelien bauen Glukose über den Emden-Meyerhof-Weg (Glykolyse) ab, wodurch hohe Laktatkonzentrationen gebildet werden. Durch die Supplementierung des Mediums mit Kaninchen- oder Pferdeserum und Albumin bzw. frischem organischem Gewebeextrakt werden den Borrelien die benötigten langkettigen Fettsäuren bereitgestellt, da es ihnen weder möglich ist, diese zu synthetisieren, noch, die Fettsäuren durch β -Oxidation abzubauen (Barbour und Hayes 1986). 1971 gelang Kelly ein entscheidender Schritt: bei seinen Forschungen an *Borrelia hermsi* fügte er dem Medium N-acetylglucosamin hinzu. Dieser Aminozucker ist Hauptbestandteil des Peptidoglycans und ist essentiell für den Zellwandbau der Borrelien. Außerdem verbesserte Kelly das Puffersystem und versah das Medium unter anderem mit anderen Salzen, Glukose, Pyruvat, Gelatine, Natriumbicarbonat und Albumin (Kelly 1971). 1974 fügte Stoenner ein Zellkulturmedium hinzu, wodurch Aminosäuren, Vitamine und andere Wachstumsfaktoren den Borrelien ein noch besseres Wachstumsvermögen ermöglichten. Diesem sogenannten BSK-I-Medium wurde von Barbour et al. Hefeextrakt hinzugefügt und eine Kaninchenserumkonzentration von 6 % als optimal ermittelt. Dieses BSK-II-Medium ist noch heute die Grundlage für die erfolgreiche Anzucht von Borrelienstämmen in vitro, die jedoch immer noch als anspruchsvoll einzuschätzen ist.

2.2.5 Nachweismethoden

Die Betrachtung der Borrelien bei der Kultivierung erfolgt am einfachsten mikroskopisch im Dunkelfeld- und Phasenkontrastmikroskop. So lassen sich Aussagen über Dichte, Beweglichkeit und eventuelle Verkeimungen machen. Der direkte Erregernachweis von *B. burgdorferi* aus infiziertem Patientenmaterial erfordert mehrere Wochen Anzucht im BSK-Medium und ist nicht immer aussagekräftig: abhängig vom Stadium der Erkrankung und klinischer Manifestation schwankt die Sensitivität zwischen 10 % (aus Liquor) und 80 % (aus Hautbiopsien bei Erythema migrans), aus Gelenkpunktaten können Erreger nur im Ausnahmefall isoliert werden. Ein unspezifischer Nachweis gelingt mit der Silberfärbung, außerdem lassen sie sich nach Giemsa anfärben. Mit Hilfe von spezifischen Antikörpern sind sie immunhistochemisch nachweisbar. Zu ultrastrukturellen Untersuchungen kann die Elektronenmikroskopie herangezogen werden. Der Einsatz von Mikroskopie sowie Immunhistochemie ist jedoch wissenschaftlichen Fragestellungen vorbehalten, da in infiziertem Patientenmaterial meist nur eine geringe Erregerdichte angetroffen wird. Eine weitere direkte Diagnose-Technik mit hoher Sensitivität ist die Polymerase Kettenreaktion (PCR), die für Borreliose 1989 erstmals von Rosa und Schwan beschrieben wurde (Rosa und Schwan 1989). Hierbei werden Borrelien-spezifische DNA-Sequenzen in einem zyklischen Reaktionsverfahren amplifiziert, womit sehr geringe Mengen an infektiösem Material nachzuweisen sind. Als Proben können Synovialflüssigkeit, Urin (allerdings mit herabgesetzter Sensitivität), Liquor oder Gewebeproben verwendet werden (Kamradt et al. 1998). Mit Hilfe einer geschachtelten PCR („nested PCR“), bei der zunächst größere Abschnitte der Borrelien-DNA amplifiziert werden und anschließend mit den gewonnenen Amplifikaten und einem anderen Primerpaar eine PCR durchgeführt wird, wird die Sensitivität erhöht (Priem et al. 1997). Ein positives PCR-Resultat mit entsprechender klinischer Symptomatik wird als Hinweis auf eine Infektion gewertet und der Patient dementsprechend antibiotisch therapiert. Jedoch wird die PCR zur Diagnostik der Borreliose bisher noch nicht routinemäßig eingesetzt. Die Methode ist nur in wenigen Labors etabliert, wobei noch kein Standardverfahren existiert.

Für die Routinediagnostik eignen sich deshalb indirekte Nachweisverfahren. Zwei bis vier Wochen nach einem Erythema migrans lassen sich IgM-Antikörper, nach vier bis acht Wochen IgG-Antikörper im Patientenserum nachweisen. Üblicherweise wird im Verdachtsfall einer Lyme-Borreliose zunächst ein Suchtest in Form eines ELISA durchgeführt. Da die Sensitivität der kommerziellen ELISA-Kits sehr hoch ist, ihre Spezifität

jedoch relativ niedrig und somit immer mit falsch positiven Ergebnissen gerechnet werden muss, werden die im ELISA positiven Ergebnisse üblicherweise im Immunoblot verifiziert, dessen Spezifität bei über 90 % liegt (Kamradt et al. 1998). Da etwa 15 % der gesunden Normalbevölkerung Antikörper gegen *B. burgdorferi* besitzen, müssen die serologischen Ergebnisse immer mit dem klinischen Bild in Zusammenhang gebracht werden.

2.3 Interleukin-18

Interleukin-18 (IL-18) ist ein Zytokin, das als Interferon-gamma (IFN- γ)-induzierender Faktor 1995 entdeckt wurde. IL-18 spielt eine wichtige Rolle bei der zellulären Immunantwort: es stimuliert CD4-positive, inflammatorische T-Lymphozyten (Th1), erhöhte Mengen von IFN- γ zu produzieren. IFN- γ ist, ebenso wie beispielsweise IL-12, in der Lage, Makrophagen zu aktivieren. IL-18 scheint bei der Pathogenese von chronischen Entzündungsvorgängen bei Autoimmunerkrankungen, beispielsweise Rheumatoider Arthritis oder Morbus Crohn, eine wichtige Rolle zu spielen (McInnes et al. 2000). Auf der einen Seite fördert es eine rasche Entzündungsantwort, andererseits wirkt es mit bei der Abwehr von Infektionen und hat dabei protektive Funktionen (Dayer 1999).

In Bezug auf einige Aminosäuresequenzen sowie den Rezeptoraufbau lassen sich Ähnlichkeiten mit der Interleukin-1-Gruppe feststellen, besonders mit Interleukin-1 β (IL-1 β). Beide besitzen eine β -Faltblattstruktur, was bei Zytokinen selten vorkommt (Dinarello 1999). Interleukin-18 wird zunächst als 24 kDa Vorläufermolekül, bestehend aus 192 Aminosäuren, gebildet, um anschließend in die aktive Form (157 Aminosäuren) gespalten zu werden (Okamura et al. 1995). Diese besitzt ein Molekulargewicht von 18 kDa. Das dafür benötigte IL-1 β -converting enzyme (ICE = Caspase-1) ist das gleiche, das auch IL-1 β in seine aktive Form spaltet (Dinarello 1999).

Der IL-18-Rezeptorkomplex ist ein Heterodimer. Er besteht aus einer Bindungskette (IL-18R α), die übereinstimmt mit dem sogenannten IL-1-receptor-related protein, welches zur IL-1-Rezeptorfamilie gehört. Die nicht bindende Signalkette IL-18R β hat Ähnlichkeit mit dem IL-1 receptor accessory protein und wird auch als accessory protein like (AcPL) bezeichnet. Sie bindet an den Komplex aus IL-18 und IL-18R α und bewirkt die Signalweiterleitung. Dieser komplizierte Rezeptorkomplex gewährleistet eine hohe Affinität zwischen Ligand und Rezeptor (Dinarello 1999). Die Signalübertragung erfolgt als Kaskade: die Formation aus

Ligand und IL-18-Rezeptorkomplex rekrutiert die IL-1R activating kinase (IRAK), die mit Hilfe des intrazellulären Adaptermoleküls MyD88 phosphoryliert wird, sich von dem gebildeten Komplex ablöst und über weitere Zwischenstufen den Transkriptionsfaktor NF κ B aktiviert. Dieser kann durch Poren in den Kern eindringen und dort die Transkription beeinflussen (O'Neill und Greene 1998).

Bei der beschriebenen strukturellen Ähnlichkeit zwischen IL-18, IL-1 α und IL-1 β ist es nicht verwunderlich, dass diese Zytokine auch ähnlich wirken. Der Signalweg ist weitgehend übereinstimmend, wenn auch nicht derselbe: alle induzieren IFN- γ (gemeinsam mit IL-2 oder IL-12), die Wirksamkeit von IL-18 ist jedoch 5- bis 10fach so stark wie die der anderen beiden Zytokine.

IL-18 wird von Monozyten, Makrophagen, Synovialfibroblasten, Kupfferschen Sternzellen, Dendritischen Zellen, Keratinozyten, Chondrozyten und Osteoblasten gebildet. Das ausgeschüttete IL-18 bewirkt synergistisch mit IL-12 die IFN- γ -Bildung durch T-Zellen und Natürliche Killerzellen. IL-12 ist ein von Makrophagen gebildeter IFN- γ -induzierender Faktor, der aber nur zusammen mit IL-18 IFN- γ induzieren kann. Dabei wird der IL-18-Rezeptor α durch IL-12 hochreguliert, dann kann IL-18 wirksam werden (Dinarello 1999). IL-12-defiziente Mäuse produzieren kein IFN- γ . IL-18-defiziente Mäuse haben zwar einen normalen IL-12-Spiegel aber nur 1/5 des zu erwartenden IFN- γ -Spiegel (Takeda et al. 1998).

Abgesehen von seiner dominanten Funktion, IFN- γ zu induzieren, hat IL-18 auch andere Wirkungen auf T-Zellen: unter Einwirkung von IL-18 schütten sie in höherem Maße IL-2, GM-CSF (Granulozyten-Makrophagen-colony-stimulating factor) und TNF- α aus. IL-2 wirkt wachstumsfördernd auf T-Zellen, GM-CSF verstärkt die Myelopoese im Knochenmark und TNF- α hat lokal eine starke inflammatorische Wirkung. Jedoch ist der Effekt immer abhängig von den Zielzellen, auf die IL-18 einwirkt. PBMCs (Peripher blood mononuclear cells), die 24 Stunden mit IL-18 stimuliert werden, produzieren vermehrt IL-1 β , TNF- α und das Neutrophilen-Chemokin IL-8 (Puren et al. 1998). Chondrozyten, die mit IL-18 stimuliert werden, exprimieren verstärkt mRNA von Stromelysin (Matrixmetalloproteinase 3 = MMP-3), was zu einer erhöhten Matrixdegradation führen kann (Olee et al. 1999). Weiterhin ist IL-18 in der Lage, die Expression des Fas-Liganden zu verstärken und so die Apoptose in Fas-exprimierenden Zellen zu induzieren. Das wurde an einer humanen myelomonozytären Zelllinie (KG-1-Zellen) nachgewiesen (Ohtsuki und Kicallef 1997).

Die Stimulation von IL-18 erfolgt über Lipopolysaccharide (LPS), Exotoxine grampositiver Bakterien und eine Vielzahl bakterieller Abbauprodukte. Humane Gelenkchondrozyten, die mit IL-1 α stimuliert werden, produzieren IL-18-Protein (Olee et al. 1999). Interessanterweise wird in Zellen von gesunden Spendern eine konstitutive IL-18 mRNA-Expression angetroffen. Dieses wurde nachgewiesen in frisch gewonnenen humanen PBMCs (die darüber hinaus auch das pro-IL-18-Protein besaßen), in murinen Splenozyten und murinen Keratinozyten (Dinarello 1999), außerdem in Chondrozyten (Olee et al. 1999).

IL-18 ist nicht in der Lage, die Entwicklung naiver T-Helferzellen in reife Th1-Zellen zu steuern, ganz im Gegensatz zu IL-12. So konnte nachgewiesen werden, dass sich naive T-Helferzellen IL-18-defizienter Mäuse durch das alleinige Einwirken von IL-12 zu reifen Th1-Zellen entwickeln (Takeda et al. 1998). Auf Th2-Zellen hat IL-18 dagegen keine Wirkung. Zusammen mit IL-12 hat IL-18 die gleiche Wirkung auf B-Zellen wie auf T-Zellen: auch sie werden zu IFN- γ -sekretierenden Zellen. Jedoch hemmt IL-18, wiederum zusammen mit IL-12, die Produktion von Immunglobulinen durch B-Zellen. Die Hemmung erfolgt über IFN- γ , welches als wichtiges Th1-Zytokin die zelluläre Immunantwort fördert, darüber hinaus aber auch die humorale Immunantwort hemmt. Deutlich wird das beispielsweise bei Allergien: durch Unterdrückung der IgE-Produktion hat IL-18 dabei einen protektiven Effekt (Dayer 1999).

Die Rolle von IL-18 bei der Abwehr von Infektionen wurde an BALB/c-Mäusestämmen untersucht, die anfällig für eine Infektion mit Mykobakterien sind. Im Vergleich zu dem resistenten Stamm DBA/2 exprimieren sie wenig IL-18 und IFN- γ (Dinarello 1999). Mäusestämme mit Resistenz gegen *Yersinia enterocolica* (C57BL/6) exprimieren die vierfache Menge an IL-18 mRNA im Vergleich zu BALB/c-Mäusen. Salmonelleninfizierte Mäuse, denen anti-IL-18-Antikörper verabreicht werden, zeigen einen plötzlichen Krankheitsausbruch und verminderte IFN- γ -Produktion auf mRNA- und Proteinebene. Eine Verabreichung von IL-18 schützt die Mäuse vor dem Krankheitsausbruch. Dies ist jedoch bei IFN- γ -Rezeptor-defizienten Mäusen nicht der Fall (Dinarello 1999). Das weist darauf hin, dass IL-18 seine protektive Wirkung durch IFN- γ entfaltet. In den genannten Modellen ist die Wirkung von IL-18 protektiv. Ebenso gut ist es jedoch möglich, dass durch eine vermehrte Bildung überschießende Entzündungssymptome entstehen, die dem Heilungsprozess entgegenstehen. Untersuchungen mit IL-18 Knockout-Mäusen und Wildstämmen zeigen, dass die Mutanten nach Infektion mit dem intrazellulären Parasiten *Leishmania major* eine hohe Infektanfälligkeit im Vergleich zu den resistenten Wildtypen aufweisen. Sie bilden weniger

IFN- γ und vermehrt IL-4, was auf eine verstärkte Th2-Antwort hinweist. IL-12 ist nach 40 Tagen deutlich erhöht, eventuell deshalb, weil es nicht durch IL-18 rückkoppelnd gehemmt wird. Wie schon erwähnt, ist es allein jedoch nicht in der Lage, die Th1-Antwort zu induzieren. Nach einer Infektion mit dem extrazellulären, grampositiven Bakterium *Staphylococcus aureus* haben die Mutanten weniger IFN- γ und TNF- α , daraus folgend eine geringer ausgeprägte Septikämie, dafür aber eine hochgradige septische Arthritis im Vergleich zu normalen Mäusen. Auch hier ist IL-4 erhöht.

Die Rolle von IL-18 bei der Rheumatoiden Arthritis wurde bereits untersucht. Mit Hilfe der RT-PCR wurde im Synovialgewebe von Patienten mit Rheumatoider Arthritis eine konstitutive IL-18 mRNA-Expression nachgewiesen, 2/3 der Patienten hatten eine hohe IL-18-Proteinexpression in der Synovia (mediane Konzentration: 342 pg/ml), eine Korrelation zu IL-12 war nicht nachzuweisen. Die dazugehörigen Seren enthielten dagegen nur geringe Mengen an IL-18. Als Vergleichsgruppe dienten Osteoarthritis-Patienten, die ebenfalls IL-18 mRNA konstitutiv exprimierten. Immunhistochemisch konnte IL-18 in RA-Synovialgewebe gut angefärbt werden. Besonders hervortretend war es in und benachbart zu Lymphozytenaggregaten. Der Großteil der angefärbten Zellen waren CD68-positive Makrophagen, außerdem wenige IL-18-positive und CD68-negative Zellen (Fibroblasten). CD3-positive Lymphozyten (T-Zellen) waren immer negativ. Im Gegensatz dazu waren an Osteoarthritis-Synovialmembranen nur geringe IL-18-Proteinmengen nachzuweisen. Auch IL-18R α mRNA wurde in den untersuchten RA-Synovialmembranen detektiert. Per FACS-Analyse (fluorescence-activated cell sorter) wurden CD3-positive Synovia-Lymphozyten sowie CD-14-positive Makrophagen als Träger des IL-18 Rezeptors identifiziert.

In vitro wurde die IFN- γ -Induktion durch IL-18, zusammen mit IL-12 oder IL-15, im Synovialgewebe festgestellt. IL-10+TGF- β (Transformierender Wachstumsfaktor) hemmten die durch IL-18 induzierte IFN- γ -Synthese (antiinflammatorische Wirkung). Eine Induktion von TNF- α und GM-CSF in vitro bestätigte sich. Darüber hinaus induzierte IL-18 Stickstoffmonoxid (NO) in den untersuchten Synovialmembranen (Gracie et al. 1999). Das ist insofern interessant, als NO, welches ein Merkmal von entzündetem Synovialgewebe ist, an einer Regulation der Th1-Antwort beteiligt sein kann (McInnes und Liew 1998). Ein natürlicher Antagonist von IL-18, das IL-18 binding protein (IL-18BP), welches sich vom IL-18 Rezeptor unterscheidet, kann IL-18 mit hoher Affinität binden und dadurch seine Effektorfunktionen neutralisieren (McInnes 2000).

Diese Untersuchungen weisen daraufhin, dass IL-18 bei Arthritis und überschießenden Entzündungen eine entscheidende Rolle spielt und damit auch bei der Borreliose ein wichtiger Pathogenitätsfaktor sein kann.

2.4 Metalloproteinasen

Matrix Metalloproteinasen (MMP), auch Matrixine genannt, sind eine Gruppe von über 20 Enzymen, die die Fähigkeit besitzen, die Extrazellulärmatrix und die Basallamina zu degradieren (Curran und Murray 2000). Sie gehören zu den Endopeptidasen und haben als essentiellen Bestandteil ein Metallion, nämlich Zink. Es gibt lösliche MMPs und membrangebundene MMPs (MT-MMPs), auf welche hier jedoch nicht näher eingegangen werden soll. Zu den wichtigsten Vertretern der löslichen MMPs gehören Kollagenase (MMP-1), die Gelatinasen (MMP-2 und 9) sowie Stromelysin-1 (MMP-3). Die Einteilung erfolgt nach der Domänenstruktur. Substrate, die durch MMPs abgebaut werden, sind beispielsweise Proteoglykane, verschiedene Kollagentypen, Fibronectin und Laminin.

Funktionell sind diese Enzyme in eine Reihe von physiologischen und pathologischen Prozessen involviert. So spielen sie zum Beispiel eine Rolle in der Embryonalentwicklung, bei der Implantation der Blastozyste, der Ovulation, der Morphogenese von Organen, dem Auf- und Abbau von Gewebe sowie der Vaskularisation beim Wundheilungsprozess. Sie sind ein wichtiger Faktor bei der Metastasierung von Tumoren, in der Pathogenese der Multiplen Sklerose sowie bei Ulzerationen und werden in Zusammenhang mit Läsionen der Blut-Hirn-Schranke genannt (Kirchner et al. 2000). Sie wirken gewebedestruktiv bei der Rheumatoiden Arthritis (Gebbia et al. 2001). So konnte nachgewiesen werden, dass MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8 und MMP-9 in Synovialflüssigkeiten von Patienten mit Rheumatoider Arthritis im Vergleich zu denen von Osteoarthritispatienten signifikant erhöht sind (Yoshihara et al. 2000). Eine Überexpression von MMPs tritt charakteristischerweise bei den meisten malignen Tumoren auf, teilweise hat das Auftreten erhöhter Mengen von spezifischen MMPs prognostischen Wert (Curran und Murray 2000).

Die Expression von Metalloproteinasen wird durch Wachstumsfaktoren, Hormone, Zytokine und Entzündungsmediatoren (NO, IL-1 β und TNF- α) (Kirchner et al. 2000) sowie zelluläre Transformationen, zum Beispiel bei der Tumorentstehung, reguliert. Als suppressive Faktoren wirken beispielsweise TGF- β , Retinol und Glukokortikoide (Nagase 1996). Die

Metalloproteinasen werden als inaktive Zymogene synthetisiert. Für ihre Aktivierung ist es notwendig, dass die N-terminale Propeptiddomäne von der katalytischen Domäne abgespalten wird. Die Propeptiddomäne hat eine einheitliche Sequenz, die Cystein enthält, an welches wiederum ein Zinkion ligiert ist. Bei der Aktivierung wird diese Bindung aufgelöst (sogenannter Cystein-switch) und danach die Propeptiddomäne schrittweise entfernt. Dieses geschieht *in vivo* durch die Einwirkung körpereigener Gewebe- oder Plasmaproteinasen oder durch bakterielle Proteinasen. MMP-1 wird beispielsweise *in vivo* durch Plasmin und MMP-3 aktiviert. *In vitro* sind MMPs durch Aminophenylmerkursäure (APMA) aktivierbar. Die Inhibition erfolgt über α -Makroglobuline und die sogenannten Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs), von denen es vier homologe Typen gibt (Nagase 1996). Im physiologischen Umfeld besteht ein ständiges Gleichgewicht zwischen Enzymen und Inhibitoren; dieses kann im Krankheitsprozess zu einer Seite verschoben werden, so dass das Gleichgewicht instabil wird. Das Verhältnis von MMPs zu TIMPs ist in Synovialflüssigkeiten von Patienten mit Rheumatoider Arthritis mehr als 5fach erhöht, verglichen mit den Werten in der Synovia von Osteoarthritispatienten (Yoshihara et al. 2000).

Bei der Lyme-Borreliose wurden die MMPs bisher kaum untersucht. So gibt es bisher nur eine Untersuchung von TIMPs und MMPs in der Zerebrospinalflüssigkeit von Neuroborreliosepatienten. Mit Hilfe der Zymographie zeigt sich bei 84 % der Proben eine Aktivität von MMP-9 und bei 45 % eine geringgradige Aktivität von MMP-3. Bei nichtinflammatorischen neurologischen Erkrankungen kann keine Aktivität nachgewiesen werden. Der MMP-9-Antagonist TIMP-1 ist im Vergleich zur Kontrollgruppe zweifach erhöht. MMP-2 hat in beiden Gruppen einen Aktivitätslevel, was eine konstitutive Ausschüttung vermuten lässt (Kirchner et al. 2000). Diese Werte bestätigen *in-vitro*-Versuche an Neuralkulturen: *B. burgdorferi* induziert dort MMP-9, hat jedoch keinen Effekt auf MMP-2 (Perides et al. 1999). Bei Neuroborreliose besteht meistens eine mäßige Störung der Blut-Hirn-Schranke (Burmester und Krause 2000), was durch die Mitwirkung von MMPs hervorgerufen werden könnte.

Zwei erst kürzlich veröffentlichte Artikel beschäftigen sich mit Metalloproteinasen in Verbindung mit der Lyme-Arthritis (Hu et al. 2001; Lin et al. 2001). Eine Arbeitsgruppe zeigte, dass MMP-2, MMP-3 und MMP-9 in Synovialflüssigkeiten von 10 Lyme-Arthritis-Patienten erhöht war und Knorpelimplantate ebenfalls nach Infektion mit *B. burgdorferi* höhere MMP-Level aufwiesen (Hu et al. 2001). Unbehandelte Lyme-Arthritis-Patienten haben nach Lin et al. erhöhte MMP-1- und MMP-3-Konzentrationen in Synovialflüssigkeiten,

während therapieresistente Lyme-Arthritis-Patienten mehr MMP-8 und MMP-9 aufweisen. *B. burgdorferi* induzierte in Chondrozytenkulturen MMP-1 und MMP-3, jedoch nicht MMP-8 und MMP-9 (Lin et al. 2001).

2.5 Interaktion zwischen Borrelien und Synoviozyten

2.5.1 Histologie der Synovialmembran

Die Gelenkkapsel besteht aus der äußeren Membrana fibrosa und der inneren Membrana synovialis. Der Aufbau der inneren Schicht soll an dieser Stelle Erwähnung finden, da bei einer Gelenkmanifestation der Lyme-Borreliose eine Veränderung dieser Membran deutlich zu erkennen ist. Die Membrana synovialis ragt mit ihren Synovialzotten in die Gelenkhöhle hinein. Ihre Zellen produzieren und absorbieren die Gelenkflüssigkeit und nehmen Stoffe durch Endozytose aus der Gelenkhöhle auf. Sie besteht, von innen nach außen betrachtet, aus 1–4 Lagen von Synoviozyten, den sog. "lining cells", und einer Subsynovialis. Die Synoviozyten sind modifizierte Bindegewebszellen, die eine lückenhaltige Deckzellschicht bilden, was bedeutet, dass die weiter außen liegenden Zellen mit der Synovialflüssigkeit in Verbindung treten können. Man unterscheidet zwei Arten von Synoviozyten: A-Zellen sind makrophagenähnliche Zellen, die Phagozytoseeigenschaft haben und dem Mononukleären Phagozytosesystem (MPS) zugerechnet werden. Sie liegen eher gelenkhöhlenwärts. B-Zellen sind fibroblastenähnlich und sezernieren die sie umgebenden Kollagenfibrillen und Matrixbestandteile. Die Extrazellulärmatrix besteht aus Proteinen, Proteoglykanen, Elektrolyten und Wasser, außerdem Kollagen vom Typ I und III. Die Subsynovialis enthält lockeres Bindegewebe aus Kollagenfibrillen und elastischen Fasern, Fibroblasten, Fettzellen, Makrophagen und Mastzellen. Lymphozyten sind im gesunden Gelenk nicht anzutreffen. Die Membrana synovialis enthält reichlich Blutgefäße, die in den Synovialzotten häufig als aufgeknaulte Schlingenkapillaren vorkommen (Rauber und Kopsch 1998).

Die Gelenkläsionen von Patienten mit chronischer Lyme-Arthritis ähneln denen anderer chronischer entzündlicher Gelenkerkrankungen. Die Histologie der Gelenkinnenhaut eines Lyme-Arthritis-Patienten zeigt eine Verdickung der Deckzellschicht und lymphoplasmazelluläre Infiltrate mit vorwiegend CD4-positiven T-Zellen, also Befunde, die von denen bei Rheumatoider Arthritis nicht zu unterscheiden sind.

2.5.2 Pathogenetische Aspekte der Lyme-Borreliose

Bei der Lyme-Borreliose findet man klinisch und histologisch starke lokale Entzündungsreaktionen, im Kontrast dazu jedoch nur eine geringe Erregeranzahl in den befallenen Regionen. *Borrelia burgdorferi* produziert im Gegensatz zu anderen Bakterien keine Toxine. Der Körper wehrt sich gegen die eingedrungenen Erreger mit Hilfe der humoralen Immunabwehr (Antikörper-Bildung), außerdem kommt es zur Aktivierung von T-Zellen und Makrophagen, die chemotaktisch an den Ort der Entzündung gelockt werden. Sprenger et al. konnten zeigen, dass *B. burgdorferi* die Ausschüttung von Chemokinen (IL-8, GRO- α , MCP-1, RANTES) durch humane Monozyten induziert, selbst aber keine chemotaktischen Stoffe produziert (Sprenger et al. 1997). Die angelockten Makrophagen sind in der Lage, neben der konventionellen Phagozytose Spirochäten mit Hilfe der sogenannten „Coiling Phagozytose“ zu bekämpfen (Rittig et al. 1992). Dabei windet sich eine Ausstülpung der Zellmembran (Pseudopodium) um den zu phagozytierenden Partikel und rollt die Spirochäte der Länge nach auf. Es kommt nicht zur Bildung eines Phagolysosoms, die Borrelie wird vielmehr auf nicht-lysosomalem Weg durch einen bis jetzt unbekanntem Mechanismus intrazytoplasmatisch abgebaut (Rittig et al. 1996). Bei der konventionellen Phagozytose fusionieren Phagosom und Lysosom, im Phagolysosom wird die Spirochäte verdaut. Aufgrund der länglichen Borrelienform ist das Phagolysosom jedoch nicht geschlossen, so dass lysosomale Enzyme und Borreliensegmente in den Extrazellulärraum gelangen können.

Der genaue Mechanismus der Ausbreitung der Borrelien und die Überwindung von Gewebebarrieren ist bis heute Gegenstand der Forschung. Borrelien sind in der Lage, wirtseigenes Plasminogen an ihr Oberflächenprotein OspA zu binden und in die aktive Form Plasmin zu überführen (Fuchs et al. 1994). Die Fähigkeit, Plasminogen zu binden und in aktives Plasmin zu überführen, ist bei einer Reihe von Bakterien bekannt (Lottenberg et al. 1994). Plasmin kann Fibrin, Bestandteile der Extrazellulärmatrix (Fibronectin) und Basalmembranen abbauen, außerdem Kollagenasen aktivieren. Grab et al. zeigten, dass *B. burgdorferi* Gelatinase- und Kollagenase-Aktivität besitzt. Sie stellten die Hypothese auf, dass diese proteolytische Fähigkeit gemeinsam mit der Plasminaktivität zur Ausbreitung von Borrelien in Haut, Endothel und Gelenk führen und dass die Freisetzung der sonst maskierten Kollagen-Typ II-Fasern zu Autoimmunitätsreaktionen führen könnten (Grab et al. 1996).

Etwa 10 % der Lyme-Arthritis-Patienten sprechen nicht auf eine antibiotische Therapie an. Für dieses Phänomen gibt es zwei Erklärungsansätze. Zum einen ist es möglich, dass der Erreger im Gelenk persistiert. So waren bei therapieresistenten Patienten Kultur und Borrelien-PCR der Synovialflüssigkeit negativ, in der Synovialmembran konnte dagegen Erreger-DNA mittels PCR nachgewiesen werden (Priem et al. 1998). Von mehreren Arbeitsgruppen wurde eine intrazelluläre Persistenz beschrieben (Girschick et al. 1996). Die zweite Möglichkeit besteht in der Annahme, dass die anhaltenden Entzündungssymptome durch Autoimmunitätsmechanismen aufgrund molekularer Mimikri zustande kommen. Untersuchungen zeigten, dass T-Zellen Therapie-resistenter Patienten eine auffällige Immunreaktion gegen OspA besaßen (Lengl-Janßen et al. 1994). Eine andere Arbeitsgruppe fand eine Homologie zwischen Epitopen des humanen Leukozyten-Funktions-assoziierten Antigens LFA-1 und OspA-Epitopen (Gross et al. 1998).

Einen verstärkenden Einfluss auf die Entzündungsreaktion haben proinflammatorische Zytokine. Hierzu gehört das hauptsächlich von Makrophagen gebildete TNF- α , das während einer Infektion mit Borrelien in erhöhten Konzentrationen ausgeschüttet wird (Defosse und Johnson 1992). TNF- α bewirkt lokal eine starke inflammatorische Reaktion, die jedoch in überschießendem Maße eine Heilung verhindert. Straubinger et al. konnten zeigen, dass IL-1 α , IL-1 β , TNF- α und das Chemokin IL-8 in mit Borrelien infizierten Synovialzellen hochreguliert werden (Straubinger et al. 1998). Unbestritten spielt auch das von Th1-Zellen gebildete IFN- γ als wichtigstes makrophagenaktivierendes Zytokin eine Rolle für die Pathogenese der Lyme-Borreliose (Yin et al. 1997). Inwieweit IL-18 als IFN- γ -stimulierendes Zytokin mitbeteiligt ist, wird in der vorliegenden Arbeit untersucht.

2.6 Ziel der Studie

Folgende Fragen liegen dieser Arbeit zugrunde:

1. Wie erfolgt die Ausbreitung von *B. burgdorferi* im Wirt? Spielen MMPs bei der Lyme-Arthritis eine Rolle, indem *B. burgdorferi* wirtseigenen Enzyme aktiviert und dadurch die Einwanderung in die Synovialmembran ermöglicht wird?
2. Spielt IL-18 als IFN- γ -aktivierender Faktor eine Rolle in der Pathogenese der Lyme-Borreliose? Ist dieses Interleukin mitverantwortlich an der Th1-dominierenden Immunantwort bei der Lyme-Borreliose?

Beides soll *in vivo* anhand der Seren von Lyme-Arthritis-Patienten mittels ELISA untersucht werden. Als Vergleichsgruppen werden Patienten mit anderen Manifestationsformen der Lyme-Borreliose (u.a. Erythema migrans, Acrodermatitis chronica atrophicans), Rheumatoider Arthritis und Normalspender herangezogen. *In vitro* erfolgt die Untersuchung anhand eines dreidimensionalen Zellkulturmodells. Dabei wird ein operativ gewonnener Gewebekblock aus Synovialzellen in Kultur mit Borrelien infiziert und der Überstand mittels ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) auf die in der Fragestellung erwähnten Proteine untersucht. Um zu beurteilen, ob Borrelien die mRNA-Expression von IL-18 und MMPs beeinflussen, soll aus dem Gewebe selbst die RNA isoliert, in cDNA umgeschrieben und eine Realtime-PCR mit Primern für IL-18 und MMPs durchgeführt werden. Immunhistochemisch soll nachgewiesen werden, dass die Borrelien in das Gewebe eingewandert sind. Die Aktivität von verschiedenen MMPs im Überstand kann zymographisch bestimmt werden.