

1. Problemdarstellung und gegenwärtiger Stand der Forschung

Akute und chronische Entzündungen der Nasenschleimhäute und Nasennebenhöhlen sind Erkrankungen mit hoher und offenbar steigender Prävalenz. So wurde in Deutschland im Zeitraum eines Jahres (7/2000 - 6/2001) 6,3 Millionen mal die Diagnose einer akuten Sinusitis und 2,6 Millionen mal die Diagnose einer chronischen Sinusitis gestellt. Die Anzahl der Diagnosen "Polyposis nasi" betrug immerhin ca. 221.000 (Angaben IMS HEALTH 2001, Frankfurt). Auch wenn keine zuverlässigen epidemiologischen Studien zur Häufigkeit der Sinusitis in Deutschland vorliegen, kann aus den genannten Zahlen geschlossen werden, dass diese Erkrankung ein erhebliches sozioökonomisches Problem darstellt (10).

Aus den USA werden ähnliche Daten berichtet. So betrug dort die Prävalenz der Sinusitis 1997 ca. 15%, wobei im letzten Jahrzehnt ein Anstieg der Häufigkeit um ca. 18% zu verzeichnen war. Die wirtschaftliche Bedeutung der Sinusitis in den USA ist immens und wird durch folgende Zahlen belegt: Für das Jahr 1992 wurden die Gesamtkosten einschließlich der Folgekosten durch Arbeitsausfall etc. für die USA auf über 6 Milliarden Dollar geschätzt. Im Zeitraum von 1985 - 1992 stieg die Zahl der Antibiotikaverschreibungen mit der Indikation Sinusitis um 7,2 Millionen auf 13 Millionen (72, 73, 162).

Neben den bereits erwähnten erheblichen sozioökonomischen Folgen stehen für den Patienten mit einer chronischen Sinusitis Symptome wie nasale Obstruktion und Sekretion, die Beeinträchtigung des Geruchssinns sowie Kopf- oder Gesichtsschmerzen im Vordergrund, die die Lebensqualität und die Leistungsfähigkeit deutlich beeinträchtigen können (37, 100). Zusätzlich birgt diese Erkrankung das Risiko des Auftretens orbitaler und intrakranieller Komplikationen. Eine effiziente und zielgerichtete Diagnose und Therapie nach heutigem Kenntnisstand sind deshalb notwendig und entsprechende evidenzbasierte Richtlinien unverzichtbar (142).

Bis vor einigen Jahren konzentrierte sich die Forschung vor allem auf mikrobiologische, morphologische und funktionelle Aspekte. Dabei entstanden nicht nur neue Konzepte zum Verständnis der Pathophysiologie sondern auch neue operative Techniken in der Nasennebenhöhlenchirurgie. Dennoch werden wir heute mit Rezidiverkrankungen, insbesondere bei Patienten mit einer chronischen eosinophilen Sinusitis und Polyposis nasi, konfrontiert, die auf unsere bisherigen therapeutischen Strategien nicht ansprechen. Neue therapeutische Ansätze erfordern eine bessere Einsicht in die zugrundeliegenden immunologischen Prozesse. Deshalb fand in den letzten Jahren eine Fokussierung auf molekularbiologische Techniken statt, die es ermöglichen kleinste Mengen von Proteinen, ihre Struktur sowie die Information

ihrer Synthese tragenden Gene aufzuklären. Dadurch konnten verschiedene Zytokine, Wachstumsfaktoren und Chemokine nachgewiesen und erste pathogenetische Zusammenhänge offengelegt werden (2, 7, 8, 13, 29, 30, 55, 57, 58-61, 87, 101, 102, 138-141). In Zukunft werden diese Untersuchungen helfen, verschiedene Nasennebenhöhlenerkrankungen besser zu differenzieren und pathophysiologisch einzuordnen. Mit der Aufklärung der Pathomechanismen können neue therapeutische Ziele identifiziert werden, die bereits heute zu ersten Ansätzen zukunftsweisender Therapiemodalitäten geführt haben (17, 30, 46, 47, 102, 135).

1.1. Pathophysiologie der chronischen eosinophilen Sinusitis und der Polyposis nasi

Die Sinusitis ist ein entzündlicher Prozess, der die Schleimhäute einer oder mehrerer Nasennebenhöhlen (NNH) involviert. Aufgrund der regelmäßigen Mitbeteiligung der Nasenhaupthöhle wird sie besser als Rhinosinusitis bezeichnet. Nach klinischen Gesichtspunkten unterscheidet man die akute von der akut rezidivierenden und der chronischen Sinusitis (Tab.1.1.). Die chronische Sinusitis ist durch eine über 8 Wochen andauernde Symptomatik bzw. mindestens 4 Episoden einer rezidivierenden akuten Sinusitis mit jeweils im CT persistierenden Befunden gekennzeichnet. Sie lässt sich in eine neutrophil- und eine eosinophil-dominierte Form unterteilen, wobei vor allem die eosinophile Form mit einer Polypenbildung einhergeht (Polyposis nasi)(Tab.1.2.).

Für die Entstehung der chronischen Sinusitis wird eine allmähliche Obstruktion durch vermehrte Gewebepildung im ostiomeatalen Komplex angenommen (94). Dabei wird die Bedeutung physikalischer Behinderungen, die durch morphologisch-anatomische Varianten des Nasennebenhöhlensystems und des Nasenseptums entstehen, kontrovers diskutiert, da zwar etwa 40% der Erkrankten diese Varianten aufweisen, sie in der gleichen Anzahl der Fälle aber auch bei nicht Erkrankten festgestellt werden (19). Die zur Chronifizierung der Sinusitis führenden Pathomechanismen wurden bislang durch eine Störung der mukoziliären Funktion, Mukostase, einer konsekutiv einsetzenden Hypoxie und der Ausschüttung von mikrobiellen Produkten erklärt (5, 99). Die Bedeutung von bakteriellen wie auch viralen Infekten für die Entstehung der chronischen Sinusitis ist bis heute unklar, da die Pathogenität dieser Erreger bei dem Erkrankungsbild der chronischen Sinusitis weitestgehend unbekannt ist (94, 168, 183). In den letzten Jahren kommt neben den physikalischen Überlegungen den Entzündungsmechanismen der Nasen- und Nasennebenhöhlenschleimhäute eine bedeutende Rolle für das pathophysiologische Verständnis zu (8).

Unter dem Begriff Polyposis nasi werden klinisch alle Arten von Nasenpolypen zusammengefasst, die als blass-grau gestielte Ausstülpungen aus dem Siebbeinbereich, mittleren Nasengang und der mittleren Muschel imponieren. Als Ursprungslokalisation wurde von Larsen (85, 86) und Stammberger (164) die Schleimhaut der mittleren Nasenmuschel sowie des mittleren Nasengangs identifiziert, während die untere Muschel nicht zur Polypenbildung neigt. Nasenpolypen sind histologisch durch ein Ödem und/oder Fibrose, eine verminderte Vaskularisation sowie eine verminderte Anzahl der Drüsen und Nervenendigungen bei oftmals geschädigtem Epithel gekennzeichnet (35, 85). Die histologische Untersuchung der Polypen ermöglicht eine Unterteilung in eosinophile Polypen, die ungefähr 65 - 90% des Krankenguts ausmachen und neutrophile Polypen (62, 165).

Klinisch geht die durch eine Eosinophilen-Entzündung gekennzeichnete Polyposis nasi bis zu 25% mit einer Acetylsalicylsäure (ASS)-Intoleranz einher, bei der eine Verschiebung des Arachidonsäure-Metabolismus (Hemmung der Zykllooxygenase) mit vermehrter Produktion von Leukotrienen bei vermindertem Prostaglandingehalt im Gewebe festgestellt wurde (56, 81, 109). Bis zu 40% der Polyposis nasi ist mit einem intrinsischen Asthma assoziiert. Als Samters Trias wird die Polyposis nasi bezeichnet, die mit einem kortikosteroidsensiblen Asthma bronchiale und einer Aspirinsensitivität vergesellschaftet ist. Gesicherte Assoziationen werden auch zwischen der eosinophilen Polyposis nasi und dem Churg-Strauss Syndrom, einer eosinophilen Immunvaskulitis, beschrieben (155). Für die Entstehung der Nasenpolypen, die mit der zystischen Fibrose, dem Young- (155) und dem Kartagener-Syndrom assoziiert sind, steht hingegen der neutrophile Granulozyt im Vordergrund.

Als ein weiterer möglicher Pathomechanismus bei beidseitiger eosinophiler Polyposis nasi mit assoziiertem Asthma und Aspirinsensitivität wurde auch eine Kolonisation mit enterotoxinbildenden Staphylokokken beschrieben, deren Produkte als Superantigene wirken und eine polyklonale lokale IgE-Bildung verursachen (9). Die Präsenz enterotoxinspezifischer IgE-Antikörper im Gewebe geht mit einer schwereren eosinophilen Entzündung einher. Die Bedeutung dieser Enterotoxine für die klinische Ausprägung der Erkrankung muss jedoch noch in weitergehenden Studien untersucht werden.

Neuerdings wurden auch Pilzinfektionen für die Mehrzahl aller Erkrankungen der NNH verantwortlich gemacht, wobei bislang allerdings weder die kausale Verkettung pathophysiologischer Mechanismen noch der positive Effekt einer antimykotischen Behandlung dargestellt werden konnten (132). Dahingegen ist die ursächliche Bedeutung von Pilzinfektionen bei der endemisch auftretenden, z.T. allergischen Nasennebenhöhlenmykose gesichert.

Auch die Rolle einer Allergie gegen inhalative Allergene bei der Entstehung der Polyposis nasi ist umstritten. Die allergische Rhinitis ist eine der häufigsten Atemwegserkrankungen und die häufigste immunologische Erkrankung überhaupt (52). Gegen die fördernde Rolle einer Allergie gegen inhalative Allergene bei der Entstehung der Polyposis nasi spricht das seltene Auftreten von Nasenpolypen bei Allergikern. Im allgemeinen wird die Prävalenz von Nasenpolypen bei Allergikern unter 5% angegeben, während die Prävalenz in der Gesamtbevölkerung bei ca. 15% liegt (194). Jedoch fanden Hilka et al. (63) und Stoop et al. (167) eine deutlich erhöhte Rezidivrate bei Polyposispatienten mit Atemwegsallergien und konnten die Verhinderung von Polyposisrezidiven bei adäquater Allergiebehandlung nachweisen.

Die Pathogenese der chronisch eosinophilen Sinusitis mit Polyposis nasi ist somit bis heute weitgehend unbekannt und kann nicht alleine auf infektiöse Ursachen zurückgeführt werden. Vielmehr muss hier offenbar von einem entzündlichen Geschehen vergleichbar etwa dem Pathomechanismus des Asthma oder der Aspirinsensitivität ausgegangen werden (115, 140, 180). Möglicherweise können verschiedenen ätiologischen Faktoren die Formation von Nasenpolypen induzieren und die Polyposis nasi darf daher nicht als solitäres Krankheitsbild verstanden werden.

| | Erwachsene | Kinder |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| Akute Sinusitis | Symptomatik < 8 Wochen oder < 4 Episoden pro Jahr | Symptomatik < 12 Wochen oder < 6 Episoden pro Jahr |
| Akut rezidivierende Sinusitis | > 4 Episoden pro Jahr mit vollständiger Rückbildung der Symptomatik | Wiederkehrende Episoden mit voll- ständiger Rückbildung der Sympto- matik |
| Chronische Sinusitis | Symptomatik > 8 Wochen oder > 4 Episoden pro Jahr mit Restsymptomatik | Symptomatik > 12 Wochen oder > 6 Episoden pro Jahr mit Rest- symptomatik |

Tab.1.1. Einteilung der Sinusitis bei Erwachsenen und Kindern. Modifiziert nach Lund (94).

| Einteilung von Nasenpolypen |
|--------------------------------------------------------------------------|
| - Antrochoanal-Polyp |
| - Unilaterale Polypen |
| - Bilaterale (eosinophile) Polyposis ggf. mit Asthma und ASS- Intoleranz |
| - Polyposis bei Grunderkrankung (Zystische Fibrose, Ziliendyskinesie) |

Tab. 1.2. Einteilung von Nasenpolypen nach Bachert (10).

1.2. Physiologische und pathologische Reaktionsabläufe an der Nasenschleimhaut- die Rolle der Tonsille bei der Generierung der Immunantwort

Das Immunsystem des Menschen erkennt mit Hilfe spezialisierter immunkompetenter Zellen ein weites Spektrum an Fremdartigenen, bereitet sie auf und setzt eine humorale oder zelluläre Immunreaktion in Gang. Für diese Fähigkeit des Immunsystems ist Voraussetzung, dass die entsprechenden Immunzellen zum richtigen Zeitpunkt am richtigen Ort im Körper sind. Diese adäquate Verteilung ist ein ständig ablaufender Vorgang, der die Wanderungsfähigkeit und vor allem eine zielgerichtete Migration der Immunzellen voraussetzt. Während die Maus in ihrer Schleimhaut über regelrechte Lymphfollikel verfügt, in denen alle zu einer Immunreaktion notwendigen Zellen unterhalb eines spezialisierten Epithels versammelt sind, kommen beim Menschen solche Lymphfollikel in der gesunden Schleimhaut nicht vor. Dagegen verfügen wir über einen Ring lymphatischer Organe im Nasenrachen und Oropharynx sowie eine reiche Lymphknotenversorgung, die diese Funktionen erfüllen (21-24, 129). Durch ihre exponierte Lage am Eingang zum Respirations- und Gastrointestinaltrakt kommt den Tonsillen als sekundäres lymphatisches Organ eine Schlüsselrolle bei der Generierung der Immunantwort zu (21, 24, 129, 118). So finden sich in den Tonsillen unreife B-Lymphozyten mit einer hohen Proliferationsrate, die erkennbar an Oberflächenrezeptoren zur terminalen Differenzierung gebracht werden (22, 97, 98). Entsprechende Zwischenstufen der B-Lymphozytenentwicklung finden sich in der Nasenschleimhaut nicht (26). Die IgA-synthetisierenden Plasmazellen stellen die stärkste Population unter den Plasmazellen der Nasenschleimhaut dar (16, 20, 23). Ig-A-Dimere werden über eine sogenannte Joint-Kette verknüpft und mittels des „secretory piece“ (Sekretorische Komponente) aktiv durch das Drüsenepithel in das Sekret geschleust. Das sekretorische IgA spielt eine zentrale Rolle bei der Immunabwehr der Nasenschleimhaut (24). In der Nasenschleimhaut synthetisieren 75-90% der Plasmazellen IgA1, während z.B. im Darm die IgA2- Zellen überwiegen. In der Tonsille sind - korrespondierend zur Dominanz dieses Isotypen in der Nasenschleimhaut 95% der IgA⁺ Plasmazellen vom IgA1-Isotyp. Es ist daher anzunehmen, dass von den antigenpräsentierenden Zellen der Nasenschleimhaut aufgenommenes Fremdmaterial u.a. zu den Tonsillen transportiert wird, um in diesen spezialisierten lymphatischen Geweben eine humorale Immunantwort zu generieren (16, 20, 24). Die stimulierten Plasmazellen, im Falle der Nasenschleimhaut IgA1- produzierende, wandern dann zu dem Ort zurück, an dem das Antigen aufgenommen wurde. Auf diese Weise wird gesichert, dass die lokale Immunantwort

optimal auf das eindringende Antigen abgestimmt ist (16, 20-24, 128, 129). Die Induktion von spezifischem sekretorischem IgA nach Antigenexposition der Tonsille konnte im Tierversuch bei Ratten nachgewiesen werden. (22, 24, 67).

Damit kommt der Tonsille als Teil des mukosa-assoziierten lymphatischen Gewebes (MALT) auch im Rahmen der Immunabwehr der Nasenschleimhaut eine wichtige Rolle zu.

Unserer Arbeitsgruppe gelang bereits der Nachweis Betv1 (*Betula verrucosa*) spezifischer Plasmazellen in der Tonsille von Patienten mit einer Birkenpollenallergie (92). Die IgE - vermittelte Freisetzung von Mediatoren gilt als immunopathologische Grundlage für die Typ I Reaktion beim Allergiker. Über die Rolle Allergen- spezifischer Antworten anderer Immunglobulin Isotypen wie beispielsweise IgA ist aus immunhistochemischen Untersuchungen nur wenig bekannt (91). Die Tonsillen sind als gut zu erreichendes lymphatisches Organ und wegen der Häufigkeit des Eingriffs für immunologische Studien besonders geeignet. Bislang ist jedoch wenig über die spezifische allergische Immunantwort und ihren Einfluß auf die Immunglobulinsynthese und die Zusammensetzung der Sekundärfollikel in humanen Gaumentonsillen bekannt. Ein Teilziel der Studie bestand darin, den Einfluss der Betv1 spezifischen Immunantwort auf die Zellkomposition der Sekundärfollikel und die Immunglobulinsynthese in humanen Tonsillen zu untersuchen.

In der Nasenschleimhaut finden sich zwar keine Lymphfollikel, jedoch verfügt sie als extralymphatisches Erfolgsorgan über alle zur spezifischen Auslösung einer immunologischen Reaktion erforderlichen immunkompetenten Zellen. Hierzu zählen antigenpräsentierende Zellen (APZ) wie z.B. Makrophagen, B-Zellen und dendritische Zellen, die Antigene prozessieren und den T-Lymphozyten präsentieren. Eine immunologische Reaktion wird ausgelöst, wenn Antigene die Nasenschleimhaut penetrieren. Der Kontakt der antigenpräsentierenden Zelle mit dem T-Zell-Rezeptor führt zur Aktivierung der CD4⁺ T- Helfer-Zelle. Die T-Zell-Population in der Nasenschleimhaut besteht überwiegend aus CD4⁺ T-Helfer-Zellen und einigen CD8⁺ regulatorischen T-Zellen (166). Plasmazellen sind als Produktionsstätte der Immunglobuline identifiziert.

Bei einer chronischen Entzündungsreaktion ist die Anzahl der antigenpräsentierenden Zellen (Makrophagen und dendritische Zellen z.T. auch Epithelzellen) erhöht, auch das Epithel selbst wird teilweise MHC- Klasse-II positiv und funktioniert dann als antigenpräsentierender Zellverband. Das Verhältnis der CD8⁺- zu den CD4⁺ Lymphozyten, das in der normalen Nasenschleimhaut ein deutliches Überwiegen der CD4⁺ Lymphozyten zeigt, ist in Polypen vor allem zum Epithel hin umgekehrt (50, 90, 133, 166). Somit liegt offensichtlich auch eine Störung der T-Zellregulation vor. Neben den Interaktionen zwischen den Zellen spielt auch die

Ausschüttung von Mediatoren eine wichtige Rolle für die chronische Entzündungsreaktion, auch diese können eine Immunmodulation bewirken.

Zum typischen Bild nasaler Polypen gehört eine ausgeprägte Gewebeeosinophilie. Zu den nicht-oxidativen Effektorsubstanzen eosinophiler Granulozyten zählen die für diese Zellart einzigartige Ausstattung an basischen Proteinen wie major basic protein (MBP), eosinophil cationic protein (ECP) und eosinophil-derived neurotoxin (EDN), das auch als eosinophil-protein X (EPX) bezeichnet wird (36, 135, 137). Zu den oxidativen Effektorsubstanzen gehören die reaktiven Sauerstoffspezies, bei denen die NADPH-Oxidase ein Schlüsselenzym darstellt und durch verschiedene Stimuli aktiviert werden kann (46, 47, 49, 200) Diese Mediatoren verursachen neben der Gewebsschädigung auch die anhaltende Entzündungsreaktion.

1. 3. Zytokine, Chemokine, Chemokinrezeptoren und die chronische eosinophile Sinusitis

1. 3. 1. Eochemotaxis

Das Wesen jeder Entzündungsreaktion wie auch der eosinophilen Entzündung ist die Rekrutierung der jeweiligen Entzündungszellen ins Gewebe. Die transendotheliale Migration eosinophiler Effektorzellen ist ein komplexregulierter, fein aufeinander abgestimmter Vorgang, der eine Vielzahl von Zytokinen, Chemokinen, Chemokinrezeptoren und Adhäsionsmolekülen involviert (1).

Eosinophile Granulozyten spielen nicht nur in der Pathogenese der Polyposis nasi sondern auch beim Asthma bronchiale allergicum, der Rhinokonjunktivitis, der Rhinitis allergica und der atopischen Dermatitis eine wichtige Rolle. Außerdem findet man eine ausgeprägte Blut-respektive Gewebeeosinophilie bei zahlreichen anderen Erkrankungen, wie Arzneimittelunverträglichkeiten, bullösen Dermatosen, Autoimmunerkrankungen und T-Zell-Lymphomen. Gemeinsames Charakteristikum dieser Erkrankungen ist die erhöhte Anzahl eosinophiler Granulozyten im peripheren Blut oder im Gewebe (46).

Im Verlauf einer eosinophilen Entzündungsreaktion kommt es zunächst im Knochenmark unter dem Einfluss von IL- 5 und Eotaxin zu einer vermehrten Ausreifung von eosinophilen Granulozyten und dann zu deren Übertritt in die Zirkulation (84, 152). Die selektive Rekrutierung der Entzündungszellen in das entsprechende Gewebe umfasst mehrere Schritte, wobei sowohl die lokalen Gefäßwände als auch der Mediatorgehalt in der Mikroumgebung der Entzündung relevant sind. Im Blut zirkulierende eosinophile Granulozyten treten dabei über eine leichte Anbindung (tethering) mit Endothelzellen in Kontakt. Dadurch kommt es im weiteren Verlauf zu der Margination oder rolling der

eosinophilen Granulozyten entlang des Kapillarendothels (160, 185). Im Anschluss erfolgt die Diapedese durch das Kapillarendothel (38). Neben dem verstärkten Einstrom ins Gewebe wird als weitere Ursache für die Akkumulation eosinophiler Granulozyten eine verlängerte Überlebenszeit diskutiert. In-vitro-Untersuchungen an eosinophilen Granulozyten haben gezeigt, dass die Zytokine IL-3, IL-5 und GM-CSF über die Hemmung der Apoptose oder des programmierten Zelltods zu einer verlängerten Überlebenszeit führten (140, 188, 195).

Sind die Entzündungszellen in das Gewebe gewandert, können sie dort mit ihren gefüllten Granula zunächst verharren oder aktiviert werden. Die Aktivierung eosinophiler Granulozyten erfolgt durch unterschiedliche Mediatoren. Zu den wichtigsten Vertretern zählen die Anaphylatoxine C3a und C5a, die Zytokine IL-3, IL-5, GM-CSF und TNF- α (45, 46, 49, 201). Diese Mediatoren sind aber durch ihre relativ pleiotrope Wirkung auf viele Entzündungszellen charakterisiert. Eine Schlüsselrolle spielt wiederum IL-5, wesentliche Stimuli sind auch Rezeptoren für Immunglobuline, speziell für sekretorisches IgA (113) und IgG (77). Sind die eosinophilen Granulozyten aktiviert, können sie ihre schädliche Wirkung durch die Freisetzung toxischer reaktiver Sauerstoffspezies, basischer Proteine und zahlreicher proinflammatorischer Mediatoren entfalten. Dies verursacht neben der Gewebeschädigung eine anhaltende Entzündungsreaktion. Zusätzlich zu ihrer Effektorfunktion scheinen eosinophile Granulozyten durch die Freisetzung zahlreicher Zytokine und anderer Mediatoren zudem selbst eine wichtige Rolle in der Propagation der Entzündungsreaktion zu spielen (47, 192).

1. 3. 2. Zytokine, Chemokine und Chemokinrezeptoren

Im letzten Absatz wurde bereits auf die Bedeutung verschiedener Zytokine und Chemokine für die Entstehung einer Gewebeseosinophilie hingewiesen. Im Folgenden sollen einige grundsätzliche Aussagen über Zytokine, Chemokine und ihre Rezeptoren zusammengefasst werden.

Zytokine sind Zellbotenstoffe, die praktisch von jeder Zelle synthetisiert und freigesetzt werden können und ihre biologischen Effekte überwiegend auf kurzer Distanz - oftmals nur zwischen zwei Zellen - entfalten. Sie sind an der Regulation jeder Immunantwort, an der Wundheilung und an der Hämatopoese beteiligt und spielen daher eine wesentliche Rolle im Körper. Zytokine können die Syntheseleistung von Zielzellen steigern oder herabsetzen, die Lebenszeit verlängern oder verkürzen und die Migration regulieren. Ihre Wirkungen sind redundant, pleiotrop und synergistisch. Schließlich sind diese Effekte noch natürlichen Regulationssystemen durch Antagonisten und lösliche Zytokinrezeptoren unterworfen.

Auf den Arbeiten von Mosmann und Coffmann (110) an klonierten T-Zellen im Maus-Modell basiert die Einteilung der CD4⁺ T-Zellen in Abhängigkeit von ihrer Interleukinproduktion in T-Helfer-1-Zellen (TH1) und Helfer-2-Zellen (TH2). Ein TH1-geprägtes Zytokinmuster repräsentiert vor allem die Immunantwort auf bakterielle oder virale Reize und umfasst die Zytokine IL-2, IFN- γ , TNF- β , GM-CSF. Die Immunantwort auf Allergene ist mit einer TH2-Aktivierung und damit einer erhöhten Produktion von IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 verbunden. Obwohl dieses Konzept allgemein akzeptiert ist, stellt es eine starke Vereinfachung dar und wird im Allgemeinen nur aus didaktischen Gründen verwendet.

Chemokine wurden ursprünglich ebenfalls den Zytokinen zugerechnet, werden aber heute als separate Gruppe abgetrennt. Sie weisen eine spezifischere Eigenschaft bezüglich der Aktivierung der Zielzellen auf als die Zytokine, sind entscheidend an der gerichteten Migration von Zellen beteiligt und haben zellselektierende und aktivierende Eigenschaften. Chemokine werden in Abhängigkeit ihrer konservierten Zysteine im aminoterminalen Ende in 4 Unterfamilien unterteilt: CXC-Chemokine, CC-Chemokine, C-Chemokine und CXXXC-Chemokine. CC-Chemokine, hierzu zählen die Eotaxine, RANTES, MCP-2, MCP-3 und MCP-4 können vor allem eosinophile und basophile Granulozyten, Monozyten oder Lymphozyten aktivieren und so die chronische Entzündung regulieren. Während die meisten Chemokine mehrere Zellen aktivieren, gibt es eine Untergruppe der CC-Chemokine, die Eotaxinfamilie, die ausschließlich an den CC-Chemokinrezeptor CCR3 (41, 46, 47, 51, 79, 157) bindet und so überwiegend eosinophile Granulozyten aktiviert.

Chemokinrezeptoren gehören zur Gruppe der Gi-proteingekoppelten Rezeptoren und besitzen typischerweise sieben transmembranöse Helices, die abwechselnd über extra- und intrazelluläre Schleifen miteinander verbunden sind. Als CC-Chemokinrezeptoren (CCR) sind bislang CCR1 - CCR11 beschrieben, als CXC-Rezeptoren (CXCR) sind die Rezeptoren CXCR1 - CXCR5 bekannt (11, 95). Obwohl bisher mehr als 40 Chemokine identifiziert worden sind, ist die Anzahl ihrer Rezeptoren geringer. Die bisher klonierten Chemokinrezeptoren sind unterschiedlich auf den Zellen und im Gewebe exprimiert. Darüber hinaus binden gleiche Chemokine an unterschiedlichen Chemokinrezeptoren. Die bisher bekannten CC-Chemokinrezeptoren scheinen überlappende Eigenschaften hinsichtlich der Bindung bei jedoch unterschiedlicher Affinität gleicher Chemokine zu haben. Zahlreiche CC-Chemokine binden somit an mehrere Chemokinrezeptoren. So bindet RANTES an die Rezeptoren CCR1, CCR3 und CCR5. Zu den CCR3-Liganden zählen neben Eotaxin und RANTES die Chemokine MCP-2, MCP-3, MCP-4, die jeweils mit unterschiedlicher Affinität an den Rezeptor binden (11, 41, 95, 198). Die besonderen Eigenschaften der Eotaxinfamilie ergeben

sich aus der ausschließlichen Interaktion mit dem CCR3-Rezeptor und der relativ selektiven Expression dieses Rezeptors auf eosinophilen Granulozyten (79, 157).

1. 3. 3. Zytokine, Chemokine und Chemokinrezeptoren bei der chronischen Sinusitis

In den letzten Jahren stehen zunehmend Erkenntnisse über Zytokine, Chemokine und Chemokinrezeptoren aus verschiedenen in-vitro- und in-vivo-Studien über entzündliche Mechanismen zur Verfügung. Um Fragestellungen zu den pathophysiologischen Reaktionsabläufen in der Nasenschleimhaut zu beantworten, wurden verschiedene Techniken wie die in-situ-Hybridisierung, die Immunhistochemie, die Messung des Proteingehalts oder biofunktionelle Modelle eingesetzt. So wurden vor allem in den letzten 5 Jahren neue Erkenntnisse zur akuten viralen und allergischen Rhinitis sowie zur chronischen Sinusitis und Polyposis nasi gewonnen (2, 7, 8, 13, 29, 30, 57, 58-61, 69, 87, 101, 102, 105, 106, 120, 138-140). Neue Erkenntnisse in der Polyposisforschung werden vor allem durch die intensive Untersuchung des Zytokin- Chemokin- Netzwerks und der an der Produktion beteiligten Zellpopulationen erwartet. Untersuchungen zum Nachweis der mRNA oder des Proteins verschiedener Zytokine Wachstumsfaktoren und Chemokine haben erste pathogenetische Zusammenhänge offengelegt. Dabei ergeben sich durchaus kontroverse Befunde, die einerseits auf eine relativ kleine Anzahl zur Verfügung stehender Daten und andererseits auf unterschiedliche Untersuchungstechniken, mangelnde Charakterisierung des selektierten Patientengutes und Unterschiede in der Definition der Erkrankungsbilder zurückzuführen sind. Im nächsten Abschnitt werden die bislang vorliegenden Erkenntnisse über Zytokine, Chemokine und Chemokinrezeptoren für die pathophysiologischen Reaktionsabläufe in der Nasenschleimhaut bei der chronischen eosinophilen Sinusitis zusammengefasst. Dabei werden vornehmlich die Befunde dargestellt, die auf Untersuchungen bei der eosinophilen Polyposis nasi basieren, da ca. 80-90% der diffusen Polyposis nasi durch diesen eosinophilen Entzündungstyp gekennzeichnet sind. In verschiedenen Studien wurde mit der Technik der in-situ-Hybridisierung die Expression der mRNA von Zytokinen in Nasenpolypen untersucht und bislang mRNA für IL-1 α , IL-1 β , IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, GM-CSF, TNF α - und TGF- β gefunden (6, 58, 59, 61, 87, 123, 124). Für die chronische Sinusitis sind vor allem folgende Zytokine von Bedeutung, die hier kurz in Gruppen zusammengefasst dargestellt sind:

1. unspezifisch proinflammatorische Zytokine wie IL-1, IL-6 und TNF- α
2. für eosinophile Granulozyten bedeutsame Zytokine wie GM-CSF, IL-3 und IL-5
3. für atopische Erkrankungen bedeutsame Zytokine wie IL-4 und IFN- γ
4. für fibrotische Umbauprozesse bedeutsame Zytokine wie TGF- β .

Unspezifisch proinflammatorische Zytokine (IL-1, IL-6, TNF- α)

Hamaguchi et al. (57) konnten das proinflammatorische Zytokin IL-1 β immunhistochemisch in mononukleären Zellen von Nasenpolypen lokalisieren. Liu et al. (89) separierten mononukleäre Zellen und polymorphnukleäre Fraktionen aus Polypen und zeigten, dass vor allem die mononukleären Leukozyten IL-1 synthetisierten. In weiteren Studien war IL-1 β sowohl in der Normalschleimhaut als auch im Polypengewebe gleichermaßen nachweisbar. Reduziert war allerdings die Konzentration des in vielfachem Überschuss vorkommenden Interleukin-1-Rezeptorantagonisten, was darauf hinweist, dass in dem gestörten Gleichgewicht zwischen IL-1 und IL-1 Ra infolge des verminderten Antagonismus ein pathogenetischer Faktor bestehen könnte (6). Nach Costa et al. (34) kommen als Quelle für TNF- α in Nasenpolypen vor allem eosinophile Granulozyten in Frage. In weiteren Untersuchungen wurde der Gehalt an Zytokinen in Nasenpolypen und normaler Schleimhaut untersucht (6, 140). Dabei war in dieser Studie die Proteinkonzentrationen von IL-6, IL-8, TNF- α in beiden Kollektiven vergleichbar.

Für eosinophile Granulozyten bedeutsame Zytokine (GM-CSF, IL-3, IL-5)

Ohno et al. detektierten primär das Protein GM-CSF in Polypenüberständen und zeigten, dass etwa 30% der Eosinophilen mRNA für GM-CSF exprimieren (123). Auch die Epithelzellen des oberen Respirationstraktes sind in der Lage, GM-CSF freizusetzen. Gerade die chronisch-entzündlich veränderte Epithelschicht von Nasenpolypen zeichnet sich durch eine erhöhte Synthese von GM-CSF aus (184). Hamilos et al. (58) untersuchten mittels in-situ-Hybridisierung den Gehalt an mRNA für GM-CSF und fanden eine deutliche Signalvermehrung in Polypen verglichen mit Normalgewebe. Ebenso war die Zahl der Zellen mit mRNA für IL-3 deutlich erhöht. Die Autoren fanden eine positive Korrelation zwischen der Anzahl der aktivierten EG⁺-Eosinophilen und dem Nachweis der GM-CSF⁺- oder IL-3⁺-Zellen.

Zytokine wie IL-3, IL-5, GM-CSF und IFN- γ erhöhen die Vitalität eosinophiler Granulozyten durch Inhibierung der Apoptose in vitro. Auch für die in-vivo-Situation scheint dieses zutreffend zu sein. Simon et al. (158, 159) etablierten ein Kulturmodell, bei dem die Apoptose durch die Detektion der DNA-Fragmentierung im Gewebe gemessen wurde. Apoptotische Veränderungen wurden am Tag 8 bis 12 in Polypengewebe, bereits am Tag 2 bis 5 in der Kontrollschleimhaut und nach 24 Stunden bei aus dem Blut gereinigten Eosinophilen festgestellt. Wenn das Polypengewebe mit neutralisierenden Antikörpern gegen IL-5 behandelt wurde, erhöhte sich die Apoptoserate der Eosinophilen signifikant, während Antikörper gegen IL-3 und GM-CSF keine Wirkung zeigten. Folglich kommt dem IL-5 offenbar

eine entscheidende Bedeutung für die Unterhaltung der Gewebeseosinophilie zu. In weiteren Untersuchungen wurde der Gehalt an IL-5 in Nasenpolypen und normaler Schleimhaut untersucht (7). Dabei konnte nur im Polypengewebe, nicht aber in der Normalschleimhaut IL-5-Protein detektiert werden. Lee et al. (87) zeigten analog dazu, dass nur im Polypengewebe jedoch nicht in Nasenmuscheln von Kontrollpersonen IL-5mRNA nachweisbar war. Durch immunhistochemische Untersuchungen an Gefrierschnitten konnten Eosinophile als zelluläre Produktionsstätte für IL-5 detektiert werden. Es fand sich eine erhöhte Anzahl IL-5 positiver Zellen, die bei serieller Schnitttechnik auch positiv waren für MBP und gespaltenes ECP (EG2): Mehr als 50% der Eosinophilen waren positiv für IL-5, die insgesamt 70% der IL-5 positiven Zellen repräsentierten (140). Die Zytokine GM-CSF und IL-3 vor allem aber IL-5 dürften damit wesentlich an der Ausprägung der Gewebeseosinophilie von Nasenpolypen beteiligt sein.

Für atopische Erkrankungen bedeutsame Zytokine (IL-4 und IFN- γ)

Hamilos et al. (59) postulierten einen TH2-regulierten Pathomechanismus zur Entstehung der Eosinophilie in Nasenpolypen bei Patienten, die an einer Allergie leiden. Danach sollten allergische Polypen Zytokine enthalten, die von TH2-Lymphozyten produziert werden, während nicht allergische Polypen ein TH1-Typ Profil aufweisen. Ihre Ergebnisse sprachen dafür, dass die Eosinophilie in Nasenpolypen teilweise unabhängig von IL-4 und IL-5 entsteht, aber mit dem Vorkommen von IFN- γ vergesellschaftet ist. Diese Vorstellung wird durch andere Studienergebnisse, die mittels in-situ-Hybridisierung, Proteinmessungen, Immunhistochemie und neutralisierenden Antikörpern erstellt wurden, inzwischen kontrovers diskutiert (7, 139, 140, 158). In verschiedenen Studien wurden IL-4 und IL-5 bei der Polyposis nasi als erhöht exprimiert angegeben. So konnten Lee et al. (87) ebenfalls eine erhöhte Expression dieser beiden Zytokine in Nasenpolypen im Vergleich zu Kontrollgewebe aus der unteren Nasenmuschel nachweisen. In einer anderen Studie wurden nur in einigen Polypenproben niedrige Konzentrationen des Proteins festgestellt (138, 139), das in ähnlichem Konzentrationsbereich auch in den Proben der unteren Muschel von Kontrollpersonen zu messen war. Neuerlich wurde der Nachweis erbracht, dass 80% der Eosinophilen in Nasenpolypen IL-4 mRNA exprimieren (119). Lee et al. (87) konnten eine IFN- γ Expression bei allen (n=14) untersuchten Nasenpolypen, jedoch bei nur 4 von 6 Patienten einer Kontrollgruppe nachweisen.

Für fibrotische Umbauprozesse bedeutsame Zytokine (TGF- β).

Eosinophile sollen auch die Hauptquelle für TGF, einem an der Fibrose der Schleimhaut beteiligten Zytokin, in Nasenpolypen darstellen. Ohno et al. konnten zeigen, dass etwa 50% der

Eosinophilen in Polypen mRNA für TGF- β 1 exprimieren, während TGF- β in der Normalschleimhaut -allerdings bei fehlender eosinophiler Infiltration nicht nachweisbar war. Die biologische Wirkung der TGF besteht in einer strukturellen Veränderung des Gewebes wie der Stromafibrose und der Basalmembranverdickung (124).

Chemokine und Chemokinrezeptoren

Die Bedeutung der Zytokine und Chemokine bei der Migration immunkompetenter Zellen in entzündetes Gewebe wurde bereits mehrfach nachgewiesen. Die Anhäufung eosinophiler Granulozyten in Polypengewebe wird dabei auf einen selektiven Migrationsmechanismus zurückgeführt. Anhand von Erkenntnissen über spezifische eosinophile chemotaktische Faktoren haben verschiedene Autoren selektive Rekrutierungsmechanismen für die in- vivo-Situation erarbeitet (42-44, 70, 75, 131, 134, 147, 151, 181, 187). Eine chemotaktische Potenz wurde neben den Zytokinen IL-1, IL-4, IL-5, IL-8 vor allem den Chemokinen Eotaxin und RANTES zugeschrieben. In verschiedenen Studien wurde insbesondere die Rolle dieser beiden CCR3-Liganden in Nasenpolypen untersucht und beschrieben.

Für Eotaxin ergeben sich hier aus der Literatur übereinstimmende Untersuchungsergebnisse, die eine erhöhte Eotaxin mRNA-Expression und Proteinkonzentration in eosinophilen Nasenpolypen belegen (13, 106, 130, 156). Über die in den letzten Jahren entdeckten neuen Mitglieder der Eotaxinfamilie Eotaxin-2 und Eotaxin 3 ist hinsichtlich ihrer Rolle in der Pathogenese der Polyposis nasi jedoch wenig bekannt. Während es für Eotaxin 2 Untersuchungen gibt, die auch für dieses Chemokin eine erhöhte mRNA-Expression und Proteinkonzentration in Nasenpolypen belegen (29, 130), ist nach heutigem Kenntnisstand Eotaxin-3 bislang weder auf Protein- noch auf mRNA –Ebene im Gewebe von Nasenpolypen nachgewiesen worden.

Dagegen gibt es vielfältige Untersuchungen zur Bedeutung von RANTES in der Pathogenese der Polyposis nasi. Dabei sind die in der Literatur angegebenen Ergebnisse durchaus widersprüchlich. Einige Autoren beschrieben eine erhöhte RANTES mRNA-Expression in eosinophilen Nasenpolypen (13) und konnten auch immunhistochemisch vermehrt RANTES Protein in Nasenpolypen im Vergleich zu Kontrollpersonen nachweisen (61). Andere Autoren hingegen fanden keinen erhöhten Proteingehalt für RANTES in Nasenpolypen und auch keinen Unterschied in der Expression zwischen Nasenpolypen und gesunden Kontrollen aus der Concha inferior für dieses Chemokin. (29, 140,156).

Für die ebenfalls an den Chemokinrezeptor 3 bindenden Chemokine MCP-2, MCP-3 und MCP-4 (monocyte chemotactic protein) gibt es bislang nur vereinzelt Studienergebnisse hinsichtlich ihrer Rolle bei der chronischen Sinusitis und Polyposis nasi. Auch hier sind die

Ergebnisse teilweise kontrovers. Während bei Patienten mit einer allergisch und nicht-allergisch-assoziierten chronischen Sinusitis eine erhöhte mRNA- Expression für MCP-3 und MCP-4 verglichen mit einer Kontrollgruppe nachgewiesen wurde (193), konnten Bartels et al. (13) keine MCP-3 mRNA-Expression in Nasenpolypen bzw. der Concha inferior einer Kontrollgruppe ausmachen.

Während insbesondere die Expression der CCR3 Liganden Eotaxin und RANTES in Nasenpolypen in mehrfachen Studien untersucht und beschrieben wurde, gibt es bislang keine Untersuchungen zur mRNA-Expression des CCR3- Rezeptors in Nasenmuscheln oder Nasenpolypen. Bei verschiedenen anderen eosinophildominierten Erkrankungen wie z. B. beim Asthma bronchiale (18, 198) und der atopischen Dermatitis (196) wurde die mRNA-Expression des Chemokinrezeptors CCR3 im Gewebe bereits untersucht und die CCR3/ Eotaxin Interaktionen als wichtiger pathogenetischer Faktor herausgestellt. Es gibt in der Literatur bislang keine Studie, bei der die mRNA-Expression von CCR3 und Eotaxin in Nasenpolypen simultan untersucht wurde.

Insgesamt hat die Untersuchung von Zytokinen, Chemokinen und Chemokinrezeptoren in den letzten Jahren zu einer rasanten Entwicklung unseres Verständnisses von Entzündungsreaktionen geführt. So wurden vor allem in den letzten 5 Jahren neue Erkenntnisse zur akuten viralen und allergischen Rhinitis sowie zur chronischen Sinusitis und Polyposis nasi gewonnen. Für die Polyposis nasi konnten bestimmte Zytokine und Chemokine definiert werden, die offenbar am Pathomechanismus der Erkrankung zentralen Anteil haben. Aus der hier kurz umrissenen Übersicht der diversen Studien ergeben sich z.T. kontroverse Befunde, die einerseits auf eine relativ kleine Anzahl zur Verfügung stehender Daten aber auch auf eine mangelnde Charakterisierung des selektierten Patientengutes und Unterschiede in der Definition der Erkrankungsbilder zurückzuführen sind.

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung des Chemokinrezeptors CCR3, sowie verschiedener für die Polyposis nasi relevanter Chemokine und Zytokine anhand eines klar charakterisierten und damit vergleichbaren Patientengutes unter besonderer Berücksichtigung möglicherweise zugrundeliegender Ätiologien, wie einer Allergie oder ASS-Intoleranz. Die Bestimmung von Zytokin- und Chemokinmustern ermöglicht uns eine bessere Einsicht in immunologische Prozesse, deren Erkenntnisse wiederum zielsetzend für neue therapeutische Ansätze sein könnten.