

1. Einleitung

1.1. Epidemiologie von unerwünschten Arzneimittelwirkungen

Die unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) werden von der WHO (world health organisation) als unbeabsichtigte und potentiell schädigende Reaktionen des Organismus auf ein Medikament in einer prophylaktischen, diagnostischen oder therapeutischen Dosis beschrieben [Schönemann et al. 1998]. In der Literatur gibt es zahlreiche, auch ältere Berichte über UAW [Smith et al. 1966]. Bei den heute verfügbaren, breiten pharmakotherapeutischen Möglichkeiten sind sie kein seltenes Ereignis.

Die Erfassung von UAW im ambulant-medizinischen Bereich ist mit mehreren Problemen verbunden (fehlender Arztbesuch bei milder Ausprägung, Schwierigkeiten bei der Diagnosestellung, nicht vorhandene Beobachtungsmöglichkeiten etc). Somit variieren die Angaben in verschiedenen Studien von 2% bis 40% [Ives et al. 1992, Bork 2000].

Bei Erwachsenen stellen UAW den Aufnahmegrund für 1,7-7,9% aller stationären Behandlungen dar, bei Kindern ca. 2%. Ausgenommen seien hier Neugeborene - ca. 0,2% und krebskranke Kinder - ca. 22% [Mitchell et al. 1987, Bork 2000, Babu et al. 2002]. In einer einjährigen, Mitte der 90er Jahre in Deutschland durchgeführten prospektiven Studie lagen UAW 3,3% aller stationären Aufnahmen zugrunde. Jeder fünfte Fall wurde dabei von dem einweisenden Arzt nicht erkannt und primär falsch diagnostiziert [Schönemann et al. 1998].

Während einer stationären Behandlung treten UAW bei ca. 2-5% der Kindern und 4,5%-25% der Erwachsenen auf [Knowles et al. 1997, Lazarou et al. 1998, Schönemann et al. 1998]. Einen schweren Verlauf nimmt ungefähr einer von 1000 Fällen [Babu et al. 2002]. Laut mancher Studien beträgt der Gesamtanteil der letalen Verläufe 0,32% [Vervloet et al. 1998, Bordet et al. 2001].

Die unerwünschten Arzneimittelwirkungen können sich an verschiedenen Organen und Organsystemen wie Gastrointestinaltrakt, zentrales Nervensystem, kardio-vaskuläres System etc. manifestieren. Die Haut und/oder die Schleimhäute sind mit 25-30% der

Fälle relativ oft betroffen, wobei das dermatologische Erscheinungsbild sehr vielfältig sein kann [Knowles et al. 1997, Barbaud et al. 1998, Babu et al. 2002]. Es scheint auch einen geschlechtsspezifischen Unterschied aufzuweisen. Die Inzidenz der kutanen UAW bei Frauen liegt höher als bei Männern (entsprechend 7,6 % und 2,5%). Diese Tendenz zeigt auch die generelle Inzidenz der unerwünschten Arzneimittelwirkungen [Hallas et al. 1992, Vervloet et al. 1998]. UAW manifestieren sich bei Erwachsenen meistens jenseits des 40. Lebensjahres, was auf den altersbedingten größeren Medikamentengebrauch zurückzuführen ist [Hallas et al. 1992].

Bei der Entstehung von UAW wird die genetische Prädisposition als einer der potentiellen Risikofaktoren angesehen. Von familiärer Häufung wurde z.B. bei TEN nach Antibiotikagabe berichtet [Babu et al. 2002]. Der HLA-Typ scheint bei der Unverträglichkeit von Acetylsalicylsäure eine Rolle zu spielen. Eine atopische Diathese wird als Kofaktor nur bei iodhaltigen Kontrastmitteln vermutet, sonst ist ihre Rolle umstritten [Pichler 1993, Vervloet et al. 1998].

Von Bedeutung für den Arzneimittelmetabolismus ist auch der individuelle Enzymstatus. Der langsame Acetylierungstyp prädisponiert z.B. für Sulfonamid-unverträglichkeit (insbesondere bei gleichzeitig vorliegender HIV-Infektion) sowie für ein höheres Neuropathierisiko unter Isoniazid-Therapie [Vervloet et al. 1998, Lowitt et al. 2001]. Manche Medikamente wie Antibiotika (β -Lactam-Antibiotika: Penicilline und Aminopenicilline, Sulfonamide, Trimethoprim), die Gruppe der nichtsteroidalen Antiphlogistika sowie Antikonvulsiva (Hydantoin und seine Derivate) sind dafür besonders bekannt, kutane UAW hervorzurufen. Ihr prozentualer Anteil an den Arzneimittelexanthemen beträgt ca. 50%, 15% und 10% für die jeweilige Medikamentengruppe [Sacerdoti et al. 1993, Mockenhaupt et al. 1998, Babu et al. 2002]

1.2. Klinik von unerwünschten kutanen Arzneimittelwirkungen

Das Erscheinungsbild der kutanen UAW ist sehr heterogen und umfasst ein breites Spektrum von lokalen und generalisierten Hautveränderungen. In vielen Fällen sind auch die Schleimhäute betroffen. Von der Morphe kann man in aller Regel nicht auf das auslösende Medikament schließen. Wegen der hämatogenen Auslösung ist die Verteilung meist symmetrisch und disseminiert (mit der Ausnahme des fixen

Arzneimittlexanthems). Bevorzugt werden dabei die Streckseiten befallen. Häufig werden ein starker Juckreiz und Bluteosinophilie beobachtet [Vervloet et al. 1998]. Werden auch die inneren Organe in Mitleidenschaft gezogen, sind die kutanen Veränderungen oft von Fieber, Zytopenie, Nieren-, Leber- oder Herzschaden begleitet. Das dermatologische Erscheinungsbild der Arzneimittelnebenwirkungen wird durch die Exantheme dominiert. In der ambulanten Betreuung machen sie ca. 51% der kutanen UAW aus, in der stationären wird von 76-93% berichtet [Ives et al. 1992, Mockenhaupt et al. 1996]. Die drei Hauptgruppen bilden das *makulopapulöse Exanthem* - 33-42%, das *urtikarielle Exanthem* - 18%-33% und das *fixe Exanthem* - ca. 13%. Mit abnehmender Inzidenz folgen das *vesikulöse* - ca. 11% und das *bullöse Exanthem (inkl. Stevens-Johnson Syndrom)* - ca. 9,4% [Hartmann et al. 1992, Ives et al. 1992, Prussick et al. 1994, Babu et al. 2002].

Unter *Arzneimittlexanthem* versteht man meist generalisierte Hautveränderungen, die als unerwünschte Nebenwirkung bei Verabfolgung von Medikamenten in gebräuchlicher, normalerweise nicht toxischer Dosierung auftreten, wenn diese hämatogen in die Haut gelangen nach peroraler Verabreichung, nach intrakutaner, subkutaner, intramuskulärer oder intravenöser Injektion bzw. nach Inhalation oder nach Arzneimittelresorption an der Haut oder Schleimhäuten (Augen-, Nasentropfen; Suppositorien; Vaginalkugeln etc.). Die Hautläsionen können auch mit Schleimhautveränderungen (Enanthem) einhergehen [nach Fitzpatrick].

1.3. Pathogenese von unerwünschten kutanen Arzneimittelwirkungen

Den vielfältigen klinischen Erscheinungsbildern von kutanen UAW liegt eine wahrscheinlich ebenso große Vielfalt an pathogenetischen Mechanismen zugrunde. Eine genaue Einordnung kann zusätzlich eine Überlappung der Reaktionen erschweren. Im Detail ist dieses Gebiet noch nicht hinreichend erforscht. In der Pathogenese werden verschiedene Prozesse angenommen [de Weck et al. 1991, Pichler 1993, Breathnach 1995, Barbaud et al. 1997, Bork 2000, Babu et al. 2002]:

- Die *klassische Medikamentenallergie*, bei der das aktivierte Immunsystem die entscheidende Rolle spielt. Man schätzt, dass allergische Prozesse ca. 17,6%-40% der

UAW zugrundeliegen können. Die Voraussetzung ist eine vorausgegangene Sensibilisierung bzw. während der Therapie entwickelte Überempfindlichkeit. Als Antigen kann das Arzneimittel selbst oder sein Metabolit wirksam sein. Häufig bekommen kleinmolekulare Medikamente erst nach Bindung an die körpereigene Proteine den Antigencharakter.

Bei der Einteilung der Allergien bedient man sich meistens des Schemas nach Gell und Coombs mit den vier Immunmechanismen (Tabelle 1).

Typ:	Reaktionsart:	Kutane Manifestationsform:	Beispiele für weitere Manifestationsformen:
Typ I	<u>Reaktion von Soforttyp</u> - IgE-vermittelt - Auftreten in Sekunden bis wenigen Stunden	Angioödem, Urtikaria kann z.B. durch Penicillin induziert werden	Allergische Konjunktivitis Asthma, allergische Rhinitis, anaphylaktische Reaktion
Typ II	<u>Zytotoxische Reaktion</u> - IgM-, IgG-vermittelt - Auftreten in wenigen Stunden	thrombozytopenische Purpura kann z.B. durch Heparin induziert werden	Thrombozytopenie
Typ III	<u>Immunkomplexreaktion</u> - IgG-, IgM-vermittelt - zirkulierende Immunkomplexe - Zeitintervall je nach Krankheitsbild unterschiedlich	Vaskulitis kann z.B. durch Allopurinol induziert werden	Arthus-Reaktion, Glomerulonephritis
Typ IV	<u>Zellvermittelte Reaktion</u> - Lymphozyten-vermittelt - Auftreten in Stunden bis wenigen Tagen	Allergisches Kontaktekzem kann z.B. durch Nickel, Duftstoffe, Wollwachs u.v.a. induziert werden	Transplantatabstoßung

Tabelle 1

- **Pseudoallergie (Intoleranzreaktion)** ist klinisch der Immunreaktion von Soforttyp gleich. Die Antikörper sind daran allerdings nicht beteiligt. Es handelt sich häufig um Unverträglichkeiten aufgrund von individuellen Unterschieden in der enzymatischen Ausstattung, was die Metabolisierung beeinflusst, oder um eine direkte, Antikörper-unabhängige Mediatorfreisetzung. Ein Beispiel dafür ist die Urtikaria bei Aspirin-intoleranz.

- **Autoimmunreaktionen** wie z.B. Lupus erythematoses oder hämolytische Anämie können durch Medikamente induziert werden. Die genetische Prädisposition scheint hierbei eine Rolle zu spielen. Die genaue Ätiologie und Pathogenese ist weitgehend unklar, es wird allerdings vermutet, dass das Medikament bzw. sein Metabolit an körpereigene, an bestimmten HLA-Komplexen vorhandene Peptide koppelt und so Antigencharakter gewinnt.
- Eine **Jarisch-Herxheimer-Reaktion** tritt akut nach Verabreichung eines Antibiotikums bei einer Infektionskrankheit auf. Der massive Erregeruntergang und die damit verbundene Freisetzung von größeren Mengen an Toxinen liegen diesem Erscheinungsbild zugrunde. Dabei kann ein Exanthem ausgelöst oder ein bereits bestehendes verstärkt werden. Typisches Beispiel für eine **Jarisch-Herxheimer-Reaktion** ist die Verschlechterung des Exanthems bei sekundärer Syphilis unter Gabe von Penicillin. Allgemeinsymptome wie Fieber oder Kopfschmerzen können das Krankheitsbild begleiten.
- **Kumulation** kann bei langdauernder Therapie auftreten. Die normalerweise nicht toxische Dosis wird aus dem Organismus nicht bzw. nicht schnell genug ausgeschieden (besonders bei vorliegender Niereninsuffizienz oder Leberschaden). Das Medikament reichert sich an, beeinträchtigt die zellulären Enzymsysteme und entwickelt nach einiger Zeit in der größeren Menge seine toxische Wirkung. Ein Beispiel dafür können Schwermetalle (Arsen, Gold), Vitamine (v.a. fettlösliche wie z.B. Vitamin A) oder Isoniazid sein.

1.4. Histologie / Immunhistologie

1.4.1. Makulopapulöse Arzneimittelexantheme

Die meisten histologischen Untersuchungen von kutanen Arzneimittelreaktionen beziehen sich auf die am häufigsten auftretenden makulopapulösen Exantheme (MPE). Histologische Untersuchungen der durch *Ampicillin* verursachten MPE ergaben in wenigen Fällen ein leichtes lymphozytäres Infiltrat epidermal. In der Dermis wurde ein mäßiges, perivaskulär lokalisiertes Infiltrat beobachtet [Barbaud et al. 1997]. Die Mehrheit der perivaskulären Infiltratzellen waren CD4+ T-Helfer-Zellen. Der Anteil

von CD8⁺ zytotoxischen/Suppressor-Zellen betrug ca.30%. Die Lymphozyten waren in 50% der Fälle HLA-DR⁺ (MHC-II-Antigen) und exprimierten keine IL-2-Rezeptoren (CD25 negativ).

Bezüglich Adhäsionsmoleküle zeigte das Infiltrat eine hohe Expression von LFA-1 (CD11a, β 2-Integrin) – was ein Hinweis auf die Aktivierung der Zellen darstellt. Relativ häufig wurde CD62L (L-Selektin) beobachtet. Expression von CD49d (VLA-4, β 1-Integrin) wurde dagegen bei keinem der MPE gefunden [Barbaud et al. 1998].

In allen Fällen der durch *β -Lactam-Antibiotika* verursachten makulopapulösen Exantheme wurden in der Dermis CD1a⁺ dendritische Zellen beobachtet. Bei den durch Pristinamycin, ein Peptid-Antibiotikum, ausgelösten Unverträglichkeitsreaktionen traten CD1a⁺ Zellen dermal in der Regel nicht auf [Barbaud et al. 1998]. Von Dascalu et al. wurde bei gleichem klinischen Krankheitsbild (medikamenteninduziertes, makulopapulöses Exanthem) eine im Vergleich zu gesunder Epidermis um 66% erhöhte Anzahl an CD6⁺ Langerhans Zellen beobachtet, die sehr prominente Dendriten aufwiesen. Das Medikamentenspektrum umfasste in dieser Studie folgende Gruppen: *Antibiotika* (Sulfonamide, Tetracycline, β -Lactam-Antibiotika), *NSAR*, *Diuretika*, *Antiarrhythmika*. Über dermale Beteiligung wurde in dieser Arbeit nicht berichtet.

Die Endothelzellen in den durch *Aminopenicilline* induzierten MPE zeigten eine sehr hohe Expression von CD62E (E-Selektin, ELAM), eine hohe Expression von CD54 (ICAM-1) sowie CD31 (PECAM-1) und eine relativ hohe von CD62P (P-Selektin = GMP 140), was auf ihren Aktivierungszustand hindeutet. Es wurde keine Expression von CD106 (VCAM-1) nachgewiesen [Barbaud et al. 1997, 1998].

Die Keratinozyten in MPE exprimierten gelegentlich in allen Epidermisschichten CD62L, L-Selektin, das ein Marker aktivierten Leukozyten darstellt. Der Befund konnte bei *Isoniazid* und einem Teil der *Pristinamycin*-Unverträglichkeitsfälle erhoben werden, nicht bei *β -Lactam-Antibiotika*. Regelmäßig wurde dafür bei den Keratinozyten HLA-DR (MHC-II-Antigen) und CD54 (ICAM-1) Expression beobachtet, was für ihre Aktivierung spricht [Hunyadi et al. 1993]. Bei der Expression der einzelnen Adhäsionsmoleküle konnte keine Korrelation festgestellt werden [Barbaud et al. 1998].

Das Expressionsmuster der Endothelien und Keratinozyten wurde dem Einfluss von IFN- γ und TNF- α zugeschrieben, Zytokinen, die von aktivierten T-Zellen (CD8⁺ und

CD4+-Th1-Zellen) und aktivierten Makrophagen sezerniert werden [Leneis et al. 1989, Radi et al. 2001].

Es liegen auch Berichte über makulopapulöse Exantheme vor, die nach Gabe von Zytokinen wie *GM-CSF* und *G-CSF* an Patienten mit Leukämie aufgetreten sind [Horn et al. 1991, Valks et al. 1998]. Mikroskopisch und immunhistochemisch wurde oberflächlich in der Dermis ein perivaskulär und interstitiell lokalisiertes Infiltrat beobachtet. Es bestand aus Eosinophilen, Neutrophilen und mononukleären Zellen. Die zwei letzten zeigten fokal die Tendenz, die Epidermis zu infiltrieren, in der auch ein interzelluläres Ödem zu sehen war. Die mononukleären Zellen wurden als CD3/CD4+ Zellen, sprich T-Helferzellen, identifiziert. Epidermal besaß die Mehrheit von Ihnen IL-2-Rezeptoren, dermal waren es ca. 50%. Alle waren LFA-1+. Endothelzellen und Keratinozyten der basalen und spinözellulären Schicht exprimierten ICAM-1 und HLA-DR-Rezeptor [Horn et al. 1991].

Die Anzahl und die Größe der Makrophagen in der oberen Dermis war deutlich erhöht. Sie stellten sich dar als vergrößerte, plumpe, zum Teil dendritische Zellen, in dessen Zytoplasma deutliche Mikrovakuolen enthalten waren. Die Zellen waren deutlich HAM-56+ und - weniger - CD-68+ (Marker der Monozyten-/Makrophagenreihe) [Valks et al. 1998].

Dieser Sachverhalt stimmt mit dem heutigen Wissenstand um die wichtige Rolle der Zytokine *GM-CSF* und *G-CSF* in der Differenzierung der Makrophagen und dendritischen Zellen überein, was in mehreren Studien beobachtet und bestätigt wurde [Reid et al. 1992, Santiago-Schwarz et al. 1992, Rutherford et al. 1992, Wiktor et al. 1992, Inaba et al. 1993]. Ähnliche Befunde (bes. die Makrophagen betreffend) beim gleichen klinischen Bild wurden allerdings auch bei Chemotherapiepatienten erhoben, denen keine Zytokine verabreicht wurden [Valks et al. 1998]. Die Veränderungen sind also wahrscheinlich nicht spezifisch für *G-CSF* und *GM-CSF*.

Makulopapulöse Arzneimittelxantheme	
Epidermis:	
Infiltrat:	- akzidentell leichtes lymphozytäres Infiltrat
Langerhans Zellen (LZ):	- 66% mehr LZ als in gesunder Epidermis vorhanden, sehr prominente Dendrite ¹
Keratinocyten:	- Expression von: HLA-DR (MHC-II-Ag) + CD54 (ICAM-I) + CD62L (L-Selektin) + ²
Dermis:	
Infiltrat:	- Infiltrat lymphozytär, mäßig, perivaskulär lokalisiert - CD4+ : CD8+ = 7 : 3 - Expression von: HLA-DR (MHC-II-Antigen) +/- bis + CD11a (LFA-1) + CD62L (L-Selektin) +/- bis + - keine Expression von: CD25 (IL-2-Rezeptor) CD49d (VLA-1)
Dendritische Zellen:	- CD1a+ dendritische Zellen bei allen β -Lactam-Antibiotika-MPE, kaum bei Pristinamycin-MPE
Endothelzellen:	- Expression von: CD62E (E-Selektin) ++ CD54 (ICAM-1) + CD31 (PECAM-1) + CD62P (P-Selektin) +/- bis + - keine Expression von CD106 (VCAM-1)

Tabelle 2 Expression von Oberflächenmarker im dermalen/epidermalen Infiltrat bei makulopapulösen, Antibiotika-induzierten Arzneimittelxanthenen (Abweichungen vermerkt)

1.4.2. Atopische Dermatitis

An der Immunreaktion bei der atopischen Dermatitis sind viele Zellen beteiligt, u.a. T-Zellen und Makrophagen. Eine Schlüsselrolle scheinen die CLA⁺-Lymphozyten zu spielen. Das kutane, lymphozyten-assoziierte Antigen (cutaneous-lymphocyte-associated antigen, CLA) ermöglicht den T-Zellen Extravasation und Auswanderung in die Haut

¹ Medikamentenspektrum breiter: Antibiotika (Sulfonamide, Tetracykline, β -Lactam-Antibiotika), NSAR, Diuretika, Antiarrhythmika

² ausschließlich bei Isoniazid und z.T. bei Pristinamycin

[Fuhlbridge et al. 1997, Rudikoff et Lebwohl 1998]. Der Prozess wird durch die Bindung von CLA an den vom aktivierten Gefäßendothel CD62E-Rezeptor (E-Selektin) unterstützt. Weitere bekannte Wege stellen die Rezeptorinteraktionen LFA-1-ICAM-1 und VLA-4-VCAM-1 dar [Akdis et al. 2000].

Leung et al. berichteten von Differenzen in den immunhistochemischen Befunden zwischen den akuten und chronischen Läsionen bei atopischer Dermatitis.

In beiden Fällen wurden in der Epidermis und perivaskulären Dermis Infiltrate aus mononukleären Zellen gefunden. Die meisten von ihnen waren CD4⁺ T-Helfer-Zellen. CD8⁺ T-Zellen vom zytotoxischen/Suppressor-Typ bildeten jeweils eine eindeutige Minderheit, wobei das Verhältnis CD4⁺ zu CD8⁺ Zellen zwischen 2:1 bzw. 4.5:1 lag.

Bei den akuten Läsionen waren die lymphozytären Infiltrate stark ausgeprägt, besonders in der Epidermis. Die Infiltrate bei den chronischen Läsionen waren im Vergleich mäßig, hatten dagegen eine deutlichere Monozyten/Makrophagen-Komponente. Dendritische Zellen waren in der oberen Dermis und an der Grenze zu der unteren Dermis verstreut, häufig als fokale Ansammlungen beobachtet und schienen sich in direkter Nachbarschaft zu den T-Helfer Zellen zu befinden. Sie machten ca.10% des Infiltrates aus.

Rocha et al. berichteten kontrovers von einer Mehrheit der CD8⁺-T-Zellen bei chronischen Läsionen, lokalisiert in der oberen Dermis mit leichter Tendenz zur Infiltration von der Basalzellschicht der Epidermis. Die CD4⁺ Zellen wurden mehr beim akuten Geschehen, perivaskulär in der unteren Dermis beobachtet .

In beiden Arbeiten zeigten die Makrophagen einen ähnlichen Anteil an dem Infiltrat und auch ein ähnliches Verteilungsmuster. Eine erhöhte Anzahl an Langerhans Zellen wurde vor allem in den chronischen Läsionen gefunden. Sie waren in allen Schichten der Epidermis lokalisiert, wobei in manchen Fällen auch im Übergang von der Epidermis in die Dermis inbegriffen oder - vereinzelt - die Dermis infiltrierend.

Ein neues Konzept für die Rolle der Langerhans Zellen bei den pathogenetischen Vorgängen bei dem atopischen Ekzem wurde von Jürgens et al. 1995 vorgeschlagen. Angesichts der Entdeckung hoher Anzahl an IgE-Rezeptoren auf den LZ in der atopischen Haut, vermutet man, dass es durch Interaktion der mit Antigen beladenen IgE-Immunglobulinen und der antigenpräsentierenden Zellen zu einer Aktivierung des

Immunsystems kommen kann, im Sinne von einer IgE-vermittelten Reaktion vom verzögerten Typ. Über den Mechanismus erhofft man sich einen neuen therapeutischen Ansatz bei atopischer Dermatitis zu finden [Akdis et al. 2000]. In Hinblick auf den Gesamt-IgE-Spiegel bei Patienten mit atopischer Dermatitis postulieren Novak et al. einen uneinheitlichen Pathomechanismus bei der Erkrankung, je nach Beteiligung der IgE-Antikörper und IgE-Rezeptor tragenden Makrophagen.

Ohki et al. untersuchten Biopsien aus AD auf die Expression von CD86 (= B7-2/B70, ein CD28-Ligand), verantwortlich für Th2-Reaktion und CD80 (= B7-1/B7, auch ein CD28-Ligand), vermutlich für Th1-Reaktion (mit)verantwortlich [Kuchroo et al. 1995]. Dabei wurden in der Epidermis CD86+ und einige, jedoch wesentlich weniger, CD80+ dendritische Zellen gefunden, die sich bei Doppelfärbung mit CD1a-Antikörper als positiv und damit als Langerhans Zellen erwiesen haben.

In der Dermis waren nicht alle CD80+ bzw. CD86+ Zellen auch CD1a+, wobei die Expression der zwei ersten Moleküle stärker als in der Epidermis war. Die Anzahl der CD86+ Zellen lag auch hier höher als der CD80+, sogar deutlicher als in der Epidermis. Die CD1a-negativen und CD80+ bzw. CD86+ Zellen in der Dermis können aktivierte T- oder B-Zellen gewesen sein, da sie beide Marker exprimieren konnten. Diese Befunde sind eine immunhistologische Bestätigung, dass AD eine Th2-dominante Immunreaktion darstellt.

Die letzten Untersuchungen zeigen, dass eine erhöhte Apoptoserate der Th1-Zellen bei AD die Ursache für das gestörte lymphozytäre Gleichgewicht bei der Erkrankung sein kann [Akdis et al. 2003].

1.4.3. Akute Kontaktdermatitis

Nickelkontakt führt bei einer vorliegenden Sensibilisierung zu einer akuten Kontaktdermatitis (AKD). Es ist ein Modell für die allergische Reaktion von verzögertem Typ (Typ IV) [Kapsenberg et al. 1991]. Bei diesem Prozess spielen die Langerhans Zellen und T-Lymphozyten eine zentrale Rolle. Die involvierten T-Zellen gehören sowohl der CD4+ als auch CD8+ Zellreihe [Kalish 1991, Narvaez et al. 1996, Büdinger et Hertl 2000].

Die licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen ergaben ein Infiltrat aus mononukleären Zellen, das aus T-Lymphozyten und Makrophagen bestand. Es war

perivaskulär und um die Follikel in der oberen Dermis lokalisiert und nahm mit dem Zeitintervall nach der Allergenexposition an Stärke zu.

Davon war auch die Epidermis betroffen, mit einem leichten Infiltrat nach 4-8 h und deutlicher Zunahme nach 48 h. Es wurde weiter auch Interzellulärödem und Vesikelbildung beobachtet [Ranki et al. 1983, Gawkrödger et al. 1986, 1987, Hindsen et Christensen 1992, Brasch et al. 1992, Trautmann et al. 2001].

Während in gesunder Epidermis normalerweise keine Lymphozyten zu finden sind, hat man bei einer Nickel-induzierten Kontaktdermatitis T-Helferzellen in der Epidermis festgestellt, mit 1,5:1 Verhältnis zu den zytotoxischen/Suppressor-Zellen. Auch in der Dermis waren die CD4+ Zellen in Überzahl. Das Verhältnis variierte mit der Beobachtungszeit; anfänglich ging die Einwanderung der T-Helferzellen schneller voran. Nach 48 bzw. 72h war die zelluläre Antwort noch ausgeprägter. Dabei stieg die Anzahl der T-Lymphozyten dem immer stärker werdenden Infiltrat proportional an. Darunter waren sowohl T-Helfer-Zellen als auch zytotoxische/Suppressor-Zellen, im Verhältnis 4,9:1. Nach 8 h verdoppelte sich das Infiltrat und vervierfachte nach weiteren 48 h. Die Anzahl der Makrophagen, in der gesunden Epidermis gar nicht und in der gesunden Dermis nur vereinzelt zu finden, war nach 48h in der Dermis etwa 3-fach erhöht. Die Infiltration der Epidermis war sogar ein wenig stärker [Gawkrödger et al. 1986, 1987, Barsch et al. 1992, Trautmann et al. 2001].

Die Anzahl der Langerhans Zellen war bei AKD im Vergleich zu gesunder Haut erhöht. Der dermale Anteil war durchschnittlich doppelt so hoch wie in der gesunden Haut. Epidermal wird sowohl von einem kontinuierlichen Anstieg (bis 50% mehr als beim Gesunden) als auch von erniedrigter LZ-Dichte berichtet [Ranki et al. 1983, Gawkrödger et al. 1986, Barsch et al. 1992, Narvaez et al. 1996].

Es wurde auch beobachtet, dass Nickelionen die Expression der Adhäsionsmoleküle an den Endothelien beeinflussen können. Am kultivierten Endothel aus der Nabelschnurvene zeigte sich nach der Allergenzufuhr Induktion von ICAM-1, ELAM-1 und VCAM-1, die als Vermittler von Leukozytenextravasation bekannt sind [Goebeler et al. 1993].

1.5. Immunsystem

1.5.1. Allgemeines

Das Immunsystem des Menschen ist eine komplexe funktionelle Einheit, dessen Aufgabe ist, den Organismus gegen schädigende Einwirkungen zu schützen (lat. immunis: unberührt, frei, verschont). Es sollen sowohl exogene (Mikroorganismen und ihre Toxine, Viren) als auch endogene (entartete Zellen, Autoantigene) Noxen abgewehrt werden. Der Organismus verfügt dafür über verschiedene Mechanismen, deren Zusammenarbeit die Immunantwort ergibt.

Eine Fehlregulation im Sinne einer überschießenden Immunantwort gegen - meistens harmlose - äußere Noxen führt zu Allergie. Kann der Organismus nicht zwischen „eigen“ und „fremd“ unterscheiden, resultiert eine Immunantwort gegen körpereigene Strukturen – eine Autoimmunkrankheit. Ein Immundefekt lässt den Körper dagegen partiell, in schweren Fällen beinahe total ungeschützt.

Man gliedert das Immunsystem in das angeborene, unspezifische, weitgehend durch genetische Faktoren bestimmte System und das erworbene, spezifische System. Innerhalb jeder Struktur unterscheidet man weiter einen zellulären und einen humoralen (extrazellulären) Anteil. Alle sind eng miteinander verzahnt.

Der *humorale Anteil* des *unspezifischen* Immunsystems umfasst u.a. Lysozym, Acute-Phase- und Heat-Shock-Proteine sowie das Komplement. Den *zellulären Anteil* des *unspezifischen* Immunsystems machen die Mastzellen, Thrombozyten und die meisten Zellreihen der Leukozyten (bzw. ihre Abkömmlinge) aus: Granulozyten, mononukleäre Makrophagen (Monozyten, Makrophagen), dendritische Zellen und natürliche Killerzellen.

Die erworbene, *spezifische* Immunität setzt vorherige Auseinandersetzung des Organismus mit dem Auslöser der Immunantwort voraus. Das primäre „Kennenlernen“ des Antigens ist Bedingung für die spätere Spezifität der Reaktion. Die *humoralen* Abwehrmechanismen beruhen hierbei auf den Antikörpern (Immunglobulinen). Sie werden von B-Lymphozyten nach ihrer Aktivierung durch ein Antigen sezerniert.

Träger der *zellvermittelten spezifischen* Immunität sind die T-Lymphozyten. Sie machen ca. 75% der im Blut zirkulierenden Lymphozyten aus, befinden sich aber nach ihrer Ausdifferenzierung größtenteils in den sekundären Organen des lymphatischen Systems (Milz und Lymphknoten). Die T-Lymphozyten werden aufgrund von zwei für sie charakteristischen Zelloberflächenrezeptoren in die CD4+ und CD8+ Zellen unterteilt. Innerhalb dieser Gruppen werden weiter aufgrund des typischen Zytokinsekretionsmusters und charakteristischen Zytokinrezeptoren unterschieden:

- bei CD4+ Zellen:

- T-Helferzellen Typ 1 (Th1), die vor allem für eine (lokale) Entzündungsreaktion und die Abwehr von intrazellulären Pathogenen verantwortlich sind,
- T-Helferzellen 2 (Th2), die vor allem Proliferation, Wachstum und Differenzierung der B-Zellen sowie die Produktion von spezifischen Antikörpern fordern,
- T-Helferzellen 0 (Th0), die Eigenschaften der beiden Populationen aufweisen und sich nicht eindeutig zuordnen lassen,

- bei CD8+ Zellen:

- zytotoxische Zellen, deren Hauptaufgabe die Elimination von körperfremden (z.B. inkompatiblen Transplantaten) oder veränderten körpereigenen Zellen (z.B. virusinfizierten oder Tumorzellen) ist,
- T-Suppressorzellen, die als Gegenpart zu den T-Helferzellen die Immunantwort herunterregulieren sollen, deren Existenz jedoch umstritten ist [Gajewski et al. 1994, Fitch et al. 1995, Birk et al. 2001, Apostolou et al. 2002].

1.5.2. T-Helferzellen. Th1- / Th2-Reaktion

Ihren Namen verdanken die T-Helferzellen der Eigenschaft, andere Zellen des Immunsystems bei der Ausübung ihrer Funktionen unterstützen zu können. Ihre Aufgaben dabei sind sehr vielfältig. Sie kommen zum Einsatz bei der Anregung der Proliferation und Differenzierung von B-Lymphozyten in antikörperbildende Plasmazellen, bei der Differenzierung von Vorläuferzellen in zytotoxische T-Zellen und bei der Makrophagenaktivierung und Steigerung ihrer Fähigkeit zur Antigenpräsentation.

Der physiologische Status der Zielzellen wird durch T-Helferzellen mit Hilfe der Zytokine beeinflusst. Es sind induzierbare, wasserlösliche Proteinmediatoren, die über Rezeptoren auf der Zellmembran ihre Wirkung ausüben und von verschiedenen Körperzellen produziert werden [Birk et al. 2001, Smits et al. 2002].

Bei gesunden Menschen sind die T-Helferzellen bezüglich ihrer Zytokinsekretion relativ homogen. Bei Kranken - in Situation, wo das Immunsystem aktiviert wird - konnte man dagegen zwei Haupttypen der Sekretion unterscheiden [Paul et al. 1994, Modolell et al. 1995, Kalinski et al. 1999]. Sie erlauben eine Unterteilung dieser Lymphozytengruppe in zwei Populationen: Th-1 und Th-2. T-Helferzellen, die Eigenschaften beider Gruppen aufweisen, werden Th-0 genannt.

Beiden Zelltypen ist die Sekretion von IL-3, GM-CSF und TNF- α gemeinsam. Th-1-Helferzellen können weiter IL-2, IFN- γ und TNF- β bilden, zeigen dagegen keine bzw. nur geringe Sekretion von IL-4 und IL-5. Sie tragen zur Hochregulierung des Immunsystems bei und steigern damit die Entzündungsreaktion. Sie werden auch für die Überempfindlichkeit von verzögertem Typ verantwortlich gemacht [Lingnau et al. 1998, Fuccao et al. 2000].

Darüber hinaus können sie auch zytolytisch auf autologe B-Zellen sowie antigen-präsentierende Zellen wirken, was nur bei wenigen Th-2-Zellen der Fall ist. Die für bakterielle Antigene intrazellulärer Erreger spezifischer Klone der T-Helferzellen zeigen meistens ein Th1-Sekretionsmuster [Del Prete et al. 1992]. Die meisten Infektionen mit extrazellulären Erregern sind dagegen nicht eindeutig Th1 oder Th2 geprägt und präsentieren einen gemischten Sekretionstyp [Kapsenberg et al. 1999].

Th-2-Helferzellen sezernieren kaum IL-2 oder IFN- γ , dafür IL-4, IL-5, IL-6 und IL-10. Diese Zellpopulation regt die Antikörperproduktion durch die B-Zellen (Plasmazellen) an, besonders der Antikörper der IgE-Klasse [Mosmann 1991, Modolell et al. 1995].

Das Th-2-Sekretionsmuster scheint eine entscheidende Rolle bei der Atopie zu spielen. Man findet es bei den meisten für Allergene und Wurmantigene spezifischen T-Helferzellen. Das von ihnen sezernierte IL-4 induziert die IgE-Produktion, IL-5 aktiviert die Eosinophile, steigert ihre Proliferation und Differenzierung. IL-3 und IL-4 sind synergistische Aktivierungsstimuli für die Mastzellen.

Das Gleichgewicht zwischen der Th-1- und Th-2-Zellen und ihre Differenzierung wird über verschiedene Mechanismen beeinflusst. Der wichtigste scheint die reziproke Wirkung von den sezernierten Zytokinen der beiden Zellpopulationen zu sein. Sie wirken als eigene Wachstumsfaktoren und gleichzeitig als Inhibitoren des jeweils anderen Th-Zelltyps. IFN- γ , das von Th-1 sezerniert wird, hemmt die Proliferation der Th-2-Zellen. Die von den Th-2-Zellen sezernierten IL-10 und IL-4 haben dagegen einen inhibitorischen Einfluss auf die Zytokinsynthese der Th-1-Zellen [Enk et al. 1994]. IFN- γ stimuliert weiter die Differenzierung der Vorläuferzellen in Th1-Zellen, IL-4 fördert Wachstum der Th2-Zellen [Coffman et al. 1991, Paul et al. 1994, Birk et al. 2001].

Andere Faktoren, die diesen Vorgang wahrscheinlich mitzubeeinflussen vermögen, sind: MHC-Genotyp, Hormone, Antigenepitope, Menge des anfallenden Antigens [Williams et al. 1991, Del Prete et al. 1992, Kapsenberg et al. 1999].

Eine große Rolle spielen dabei auch die antigenpräsentierenden Zellen des Immunsystems (antigen presenting cells, APZ): dendritische Zellen und Makrophagen. Sie sind unabdingbar zur Einleitung einer T-Zell-Antwort. Die Reaktion wird angestoßen, wenn die T-Zellen ein von den APZ prozessiertes und zusammen mit einem MHC-Rezeptor präsentiertes Antigen erkennen. Die Bindung des T-Zell-Rezeptors an das Antigen bildet das *Signal 1* auf ihrem Aktivierungsweg.

Um eine effiziente Immunantwort zu gewährleisten, wird im weiteren Verlauf die Bindung der Kostimulationsmoleküle an ihre Liganden benötigt, z.B. LFA-1 an CD54 (*Signal 2*). Die Bindung von lymphozytärem Rezeptor CD28 an seine makrophagen-spezifischen Liganden: B7-1 bzw. B7-2 scheint entsprechend eine Th1- bzw. eine Th2-Antwort generieren zu können [Chen et al. 1994, Thompson et al. 1995, Moser 2001]. Weiterhin wird die Polarisierung der T-Zell-Reaktion durch die Zytokine der Antigenpräsentierenden Zellen (APZ) beeinflusst (*Signal 3*). Dabei sind IL-6 und PGE2 (Prostaglandin E2) von besonderer Bedeutung für die Stimulierung der Th-2-Zellen, IL-12 für die Th-1-Zellen.

„Naive“, noch nicht geprägte Th-Zellen sind empfänglich gegen Polarisierungssignale. Eine polarisierte Th-Reaktion ist dagegen relativ stabil. Man vermutet, dass die nacheinanderfolgenden Zellsignale in Laufe einer Aktivierung zu einem partiellen Rezeptorverlust bei den Th-Zellen führen. Die Mediatoren finden dadurch keine

Bindungsstellen und ihr Einfluss auf den T-Zell-Zustand – im Sinne einer eventuellen Änderung der Immunreaktion – bleibt aus [Kapsenberg et al. 1999].

1.5.3. Antigenpräsentierende Zellen: Monozyten/Makrophagen, dendritische Zellen. Das APZ-System

Mononukleäre Phagozyten (Monozyten und Makrophagen) sowie dendritische Zellen gehören der unspezifischen zellulären Immunabwehr. Sie stammen, wie die Granulozyten, von den pluripotenten, hämatopoetischen Stammzellen im Knochenmark ab [Goerdts et al. 1996].

Makrophagen sind mehr oder weniger mobile, von den Monozyten abstammende Zellen mit der Fähigkeit zur Phagozytose. Sie können die Aktivierung, Proliferation und Differenzierung sowohl der B- als auch der T-Zellen anregen. Sie verfügen über ein sekretorisches Potential und besitzen auf ihrer Zellmembran Rezeptoren u.a. für Fc-Fragmente der Immunglobuline und Komplementfaktoren.

Dendritische Zellen verdanken ihren Namen den charakteristischen verzweigten Ausläufern. Es sind ortständige Zellen, deren Aufgabe in Antigenpräsentation für die B-Zellen bzw. T-Helferzellen in lymphatischen Organen besteht. Eine besondere Untergruppe bilden hier die Langerhans Zellen. Es sind epidermale, dendritische Zellen, die nach Antigenaufnahme und –prozessierung die T-Lymphozyten stimulieren können. Dafür können sie die Epidermis verlassen und in die regionalen Lymphknoten auswandern [Narvaez et al. 1996, Bancherau et Steinmann 1998, Birk et al. 2001].

Die Differenzierung der Makrophagen und dendritischen Zellen als *antigenpräsentierenden Zellen (APZ)* wird durch Zytokine beeinflusst, wobei verschiedene Kombinationen unterschiedliche Klone innerhalb einer Gruppe generieren können [Rutherford et al. 1993]. So fördert z.B. die gleichzeitige Stimulation mit GM-CSF und TNF- α die Differenzierung der dendritischen Zellen, während die Kombination von GM-CSF mit IL-1 oder PDGF die der Makrophagen [Reid et al. 1992, Santiago-Schwarz et al. 1992, Goerdts et Orfanos 1999].

Dabei können auch ausdifferenzierte Zellen einer Umwandlung ineinander unterliegen, z.B. zeigen Monozyten/Makrophagen im peripheren Blut unter Einfluss von GM-CSF und IL-4 typische Morphologie der dendritischen Zellen [Sallusto et al. 1994].

Die Zusammenfassung in einer Gruppe der APZ verdanken sie ihrer Fähigkeit, Antigene zu verarbeiten. Sie phagozytieren das Fremdmaterial über den Mechanismus der Makropinozytose und bieten es in prozessierter Form über bestimmte Membranrezeptoren (Mannoserezeptoren) anderen Zellen des Immunsystems an [Goerdts et al. 1996].

Ihre Rolle im Immungeschehen beschränkt sich allerdings nicht nur auf die Präsentation. Sie verfügen auch über ein sekretorisches Potential und können durch Enzyme (Lysozym, Hydrolasen etc.), Zytokine (TNF- α , IL-1, IFN- α etc.) und andere Substanzen die Immunantwort modulieren.

APZ sind in vielfacher Weise an der Aktivierung der T-Lymphozyten beteiligt [Birk et al. 2001]. Das erste spezifische Signal bildet die Bindung des T-Zellrezeptors an das mit dem Antigen beladene MHC-Komplex. Das zweite Signal kommt durch die von den APZ exprimierten Kostimulationsmoleküle [Kuchroo et al. 1995]. Die Familie der B7-Proteine scheint unter ihnen die größte Potenz zu haben. Bekannt und relativ gut untersucht sind hier zwei Moleküle: B7-1 (CD80) und B7-2 (CD86). Für beide gelten T-Zellrezeptoren, CD28 und CTLA-4, als Liganden [Azuma et al. 1993, Baskar et al. 1995, Gratschev et al. 2001].

Das B7-1 Molekül scheint für die Induktion der Th-1-Zellen ein ausschlaggebender Faktor zu sein. Seine Blockierung während der Aktivierung der T-Lymphozyten führt eine Inaktivierung dieser Zellen herbei, mit dem Ergebnis der Unterempfindlichkeit bzw. Anergie. Anti-B7-1 verursacht weiter einen Anstieg der IL-4-Produktion und induziert Differenzierung der Th-2-Reihe. Aktivierung und Differenzierung dieser Reihe scheint über B7-2 zu verlaufen. Anti-B7-2 steigert die Produktion von IFN- γ , was wiederum eine Hemmung der Th-2-Zellen bewirkt [Kuchroo et al. 1995].

Dabei tragen auch die APZ selbst auf ihrer Zellmembran Rezeptoren (z.B. für Immunglobuline: IL-1, IL-2, IL-4, Transferrin etc.), über die ihre Funktion durch andere Zellen beeinflusst werden kann [Inaba et al. 1993]. So ergibt z.B. ein hoher IFN- γ -Spiegel während ihrer Aktivierung die große Mengen an IL-12 produzierenden APZ (APZ1), die für die Th1-Prägung der T-Helfer-Zellen verantwortlich sind. Hoher Spiegel an PGE₂ bei der Aktivierung dagegen verschiebt das Gleichgewicht in Richtung APZ2, Zellen ohne IL-12-Sekretion, die die Th2-Prägung bewirken [Becker et

Daniel 1990, Kapsenberg et al. 2000]. IFN- γ und PGE2 werden unter Einwirkung von Noxen von einer Reihe von Zellen sezerniert. Der Ausmaß hängt von dem einwirkenden Pathogen und der involvierten Gewebeart. Auf dem Weg kann der Organismus seine Abwehrreaktion je nach Bedingungen sinnvoll modulieren.

Wegen der ontogenetischen und funktionellen Gemeinsamkeiten der APZ sowie ihrer Fähigkeit, sich ineinander umzuwandeln, schlugen Goerdts et al. 1996 vor, Monozyten/Makrophagen und dendritische Zellen in ein Kustozytensystem mit drei Untergruppen aufzunehmen (custos: lat. Wache, Wachposten).

Kustozyten I sollen vor allem Funktionen der Antigenpräsentation ausüben und die Immunantwort (Allergie) vom verzögerten Typ (delayed type hypersensitivity) modulieren. Zu ihnen gehören z.B. die Langerhans Zellen der Epidermis.

Kustozyten II wurde hauptsächlich Effektorfunktion und eine wichtige Rolle bei Wundheilung und Auseinandersetzung mit Pathogenen zugeschrieben. Diesen Zelltyp findet man, im Verhältnis 1:1 zu dem Kustozytentyp-I, perivaskulär in der Dermis.

Kustozyten III sollen eine Bipolarität zeigen und während ihrer Differenzierung Typ-I- und Typ-II-Phasen durchlaufen. Solche Zellen sollen z.B. die Mikroglia im Gehirn darstellen [Goerdts et al. 1996, Birk et al. 2001].

1.5.4. Klassische und alternative Aktivierung des APZ-Systems

Im nichtentzündeten Gewebe werden Monozyten/Makrophagen als residente (ruhende) Zellen bezeichnet. Ihre Fähigkeit zur Antigenprozessierung und -präsentation ist in dem Fall begrenzt, ihre Hauptaufgabe besteht in der Entfernung der vor Ort untergegangener Zellen.

Bekannt sind zwei Aktivierungswege von Zellen des APZ-Systems [Stein et al. 1992]. Der eine wird als *klassisch* bezeichnet und kommt durch Aktivierung der Zellen durch IFN- γ , TNF- α , Lipopolysaccharid sowie GM-CSF. Diese Mediatoren spielen eine proinflammatorische Rolle und unterhalten die entzündlichen Prozesse [Goerdts et al. 1996]. *Alternative* Aktivierung kann durch IL-4, PGE2 (Prostaglandin E2) bzw. Glukokortikoide herbeigeführt werden. Ähnliche Effekte beobachtet man auch unter Einfluss von IL-10, IL-13 und TGF- β . Sie hemmen die Zytokinsekretion des klassischen Aktivierungsweges [Strassman et al. 1994, Beissert et al. 1995, Birk et al. 2001].

Die klassische und alternative Aktivierung der Makrophagen werden hauptsächlich über IFN- γ versus IL-4 reguliert. Ihre gegenseitige reziproke Beeinflussung wurde in vielen Fällen beobachtet [Denis 1991, Mosser et Handman 1992, Goerdts et Orfanos 1999].

Die alternativ aktivierten Makrophagen (aaM) unterscheiden sich von den klassisch aktivierten (kaM) hinsichtlich der phänotypischen Eigenschaften (s.Tab.4.) [Goerdts et Orfanos 1999, Birk et al. 2001].

	Klassische Aktivierung	Alternative Aktivierung
Sezernierte Zytokine	IL-1 IL-6 IL-12 TNF- α	Anti-IL-1 IL-10
Exprimierte Immunrezeptoren	Fc γ RIII (CD16) Fc γ RII (CD32) Fc γ RI (CD64)	Fc ϵ RII (CD23s) Mph-Mannose-R Scavenger RI CD163 (RM3/1) MS1 25F9
Killer-Moleküle	Arginase	NO, O ₂
Angiogenetisches Potential	niedrig	hoch

Tabelle 3 [modifiziert nach Goerdts et al. 1999]

Sie exprimieren andere Rezeptoren – u.a. in hohem Maße den Mannoserezeptor – und zeigen eine verstärkte, endozytotische Aktivität. Im Gegensatz zu kaM besitzen sie ein großes angiogenetisches Potential. Die an aaM reiche Hautläsionen zeigen höheren Vaskularisationsgrad als bei kaM [Kodelja et al. 1997]. Auf die Th-1-Zellen üben aaM eine hemmende Wirkung aus [Villanueva et al. 1994].

Auf dem klassischen und alternativen Aktivierungsweg stützt sich die aktuelle Einteilung der antigenpräsentierenden Zellen in APZ1 und APZ2. Die *APZ1-Gruppe* bilden die klassisch aktivierten Makrophagen und die CD11c⁺, reifen myeloischen dendritischen Zellen, mit dem für den Aktivierungsmodus charakteristischem Sekretionsmuster und Eigenschaften (u.a. Prägung der Th1-Reaktion). Zu der *APZ2-Gruppe* gehören die alternativ aktivierten Makrophagen und die CD11c-negativen lymphatischen dendritischen Zellen [Gratschev et al. 2001, Kapsenberg et al. 2000].

1.6. Adhäsionsmoleküle

Adhäsionsmoleküle sind Protein-, Glycoprotein- bzw. Kohlenhydratreste, die als Zelloberflächenrezeptoren dienen. Sie interagieren über genau festgelegte Bereiche (sog. Domänen) ihres extrazellulären Teils mit bestimmten Liganden, d.h. Molekülen, die sich an der Zellmembran anderer Zellen bzw. in der extrazellulären Matrix befinden. Dadurch kommt eine dauerhafte Anheftung der Zelle oder eine vorübergehende Kontaktbildung mit den benachbarten Strukturen zustande.

Der ersten Eigenschaft kommt eine große Bedeutung bei der Embryo- und Histogenese sowie bei der Aufrechterhaltung der Gewebestrukturen im adulten Organismus zu. Die zweite spielt eine wichtige Rolle bei den physiologischen Vorgängen, die eine dynamische Interaktion von Zellen voraussetzen, u.a. bei der Wundheilung oder dem Einwandern von Zellen im Rahmen der Immunantwort [Klein 1994, Lawley et al. 1994].

Sie können sich allerdings auch am pathologischen Geschehen beteiligen, wie z.B. an der Entstehung von Tumormetastasen oder Entzündungsprozessen [Osborn 1990, Groves et al. 1991, Goebeler et al. 1993, Weyl et al. 1996].

Die Adhäsionsmoleküle werden in sechs Familien unterteilt:

- Integrine
- Cadherine
- Immunglobulinsuperfamilie
- Selektine
- Addressine
- Zelloberflächenproteoglykane

Sie unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Struktur, Funktion und Expressionsortes. Die Mechanismen, die ihre Expression regulieren und deren Beeinflussung durch verschiedene Zytokine sind auch z.T. verschieden [Goebeler et al. 1993, Klein 1994, Kaburagi et al. 2002]. Über ihre Präsenz bei makulopapulösen Arzneimittellexanthen wurde vereinzelt berichtet, genauer wurde ihre Beteiligung an den immunologischen Prozessen bis heute nicht erforscht [Barbaud et al. 1997, Yawalkar et Pichler 2001].

1.6.1. Integrine

Integrine bilden eine große Familie der Rezeptormoleküle, deren mindestens ein Mitglied auf allen Zellen des Säugetierorganismus (Erythrozyten ausgenommen), also auch des Menschen, vorhanden ist.

Sie können sowohl Zell-Zell- als auch Zell-Matrix-Kontakte herstellen. Biochemisch gehören sie zu den Glycoproteinen. Molekularbiologisch stellen sie transmembranöse Heterodimere dar, die aus zwei nicht-kovalent gebundenen Einheiten, einer α - und einer β -Proteinkette, bestehen.

Für die Ligandenbindung benötigen Integrine bivalente Kationen. Hierbei sind Ca^{++} -, Mg^{++} - und Mn^{++} - Ionen von Bedeutung. Daraus ergibt sich die wechselnde Affinität der Rezeptoren für ihre Liganden, die auf die unterschiedliche Aktivierungsgrade (=Konformationsänderungen) zurückzuführen ist. Die Änderungen des Konzentrationsgradienten betreffender Ionen können also die Integrinfunktion beeinflussen [Klein 1994, Lawley et al. 1994, Radi et al. 2001].

Bis heute wurden 8 verschiedene β -Ketten und 18 α -Ketten beschrieben, wobei nur bestimmte Kombinationen einen funktionierenden Rezeptor ergeben. Seine Spezifität wird zum größten Teil durch die α -Kette bestimmt, die Einteilung der Familie in Untergruppen erfolgt allerdings - geschichtlich bedingt - nach den β -Ketten. Es sind 24 verschiedene Integrine bekannt [Lawley et al. 1994, Grabbe et al. 2002, Hynes 2002].

Fast alle Mitglieder der ***$\beta 1$ -Unterfamilie*** tragen in ihrem Namen die Bezeichnung VLA, was für "very late antigen" steht und auf die Tatsache zurückzuführen ist, dass die Moleküle nach der Stimulation mit Mito- bzw. Antigen mit Verzögerung auf den Lymphozyten exprimiert werden.

Sie sind allerdings auch auf anderen Zellen anzutreffen, wie z.B. das $\alpha 2\beta 1$ (VLA-2) und das $\alpha 3\beta 1$ (VLA-3) auf den basalen Keratinozyten in gesunder Epidermis bzw. das $\alpha 5\beta 1$ (VLA-5) auf Makrophagen, Fibroblasten und Endothelzellen [Klein 1994, Kumasaka et al. 1996].

Sie bestehen aus einer allen $\beta 1$ -Integrinen gemeinsamen $\beta 1$ -Untereinheit (=CD29) und unterschiedlichen α -Ketten (=CD49a bis CD49f).

Bis auf das Integrin $\alpha 4\beta 1$ (VLA-4) vermitteln $\beta 1$ -Integrine hauptsächlich Zell-Matrix-Kontakte (mit Kollagen, Fibronectin, Vitronectin, Laminin etc.). Ihr zytoplasmatischer

Teil weist Verbindung zu den Aktinfilamenten des Leukozytenzytoskelets auf und lässt sie bei der Leukopese mitwirken [Radi et al. 2001].

Der Rezeptor $\alpha 4\beta 1$, auch als CD49d bekannt, wird von B- und T-Lymphozyten, Baso- und Eosinophilen sowie Makrophagen und Monozyten exprimiert. Es kann auch Zell-Matrix-Kontakte herstellen, ist aber primär für die Zell-Zell-Adhärenz zuständig. Es fungiert als Ligand des von Endothelzellen exprimierten Oberflächenglykoproteins VCAM-1 (=CD106) aus der Immunglobulinsuperfamilie. Über verstärkte Expression von VLA-4 auf dem Kapillarenendothel wurde bei chronischen, veneninsuffizienzbedingten Beinulcera berichtet (38% positiv markierten Schlingen im Vergleich zu 10% beim Gesunden) [Weyl et. al. 1996].

Die Familie der ***$\beta 2$ -Integrinen*** bilden außer $\alpha\beta 2$ (=CD11d) drei Moleküle: LFA-1 (=CD11a, leukozyten-assoziiertes Antigen-1), Mac-1 (=CD11b) und p150/95 (=CD11c). Sie wurden viel früher entdeckt und beschrieben als die Integrinfamilie selbst und tragen deshalb verschiedene Namen. Sie bestehen aus einer allen gemeinsam $\beta 2$ -Kette (=CD18) und verschiedenen α -Untereinheiten (CD11a-CD11d).

Es handelt sich dabei um Rezeptoren, die hauptsächlich für die Herstellung interzellulärer Kontakte zuständig sind. Sie werden nur von weißen Blutzellen exprimiert, ihre Liganden von anderen Leukozyten, Endothelien und Zellen im entzündeten Gewebe [Osborn 1990, Klein 1994, Kumasaka et al. 1996, Grabbe et al. 2002].

Sie spielen eine wichtige Rolle bei den Entzündungsprozessen, beginnend bei der Anheftung der Entzündungszellen an das Endothel - Voraussetzung für die Extravasation. Dabei findet ihre Interaktion nachfolgend auf die von Selektinen vermittelte lockere Adhäsion statt. Bei dem Vorgang sind die Endothelrezeptoren ICAM-1 und ICAM-2 aus der Immunglobulinsuperfamilie als Liganden für das LFA-1 wichtig [Martin et al. 2002, Hynes 2002].

LFA-1 wird von allen T-Zellen exprimiert, jedoch besonders stark von den T-Gedächtniszellen. Es spielt eine große Rolle bei dem "trafficking" von Lymphozyten sowie organ-unspezifischen Befestigung der Adhäsion [Shimizu et al. 1992, Radi et al. 2001].

Weiterhin vermitteln die $\beta 2$ -Integrine auch die Zytotoxizität der NK-Zellen, der Granulo- und Monozytenreihe sowie die T-Helfer-Zellfunktion [Kaufmann et al. 1990, Mizgerd et al. 1999].

Es wird auch berichtet, dass die LFA-1-Induktion auf den unreifen Th-Zellen unter bestimmten Bedingungen ihre Polarisierung in Richtung Th1-Zellreihe bewirken kann [Smits et al. 2002]. Unter Einfluß von IL-12 bzw. IL-4 kam der Effekt nicht mehr zur Geltung. Ob LFA-1 auch in Anwesenheit von antigenpräsentierenden Zellen eine Wirkung im Sinne von Th1-Prägung auf unreife Th-Zellen hat (in der Studie wurden keine APZ-Zellen mituntersucht), wurde nicht geprüft. Insofern bedarf die Relevanz dieser Beobachtung für Reaktionen *in vivo* weiteren Untersuchungen.

1.6.2. Selektine

Zu dieser Familie gehören die hochglykosylierten, transmembranösen Proteine: P-Selektin, E-Selektin und L-Selektin. Alle besitzen drei unterschiedliche Domänen für Ligandenbindung, von denen eine Ca^{++} -abhängig ist [Klein 1994].

Anders als die Adhäsionsmoleküle der Immunglobulinsuperfamilie bzw. die Integrine vermitteln die Selektine ausschließlich Leukozyten-Endothel-Adhäsion. Ihre Aufgabe besteht in der Initiation der Extravasation der Entzündungszellen ins betroffene Gewebe, die der von Integrinen vermittelten festen Adhäsion vorausgeht [Detmar 1992, Radi et al. 2001].

Die von Selektinen hergestellte Anheftung ist zwar spezifisch, aber nicht fest. Der Vorgang ist als schnell aufeinander folgenden Ad- und Deadhäsionen zu verstehen, was ein Entlangrollen der Leukozyten an der Gefäßwand ("rolling") ergibt [Shimizu et al. 1992, Klein 1994, Tedder et al. 1995].

Das bei Entzündungsprozessen am frühesten exprimierte Selektin ist das P-Selektin. Es wird in den Endothelzellen in präformierter Form gespeichert und erscheint auf dem Endothel innerhalb Minuten nach Stimulation mit Entzündungsmediatoren wie Lipopolysaccharid, Histamin und Thrombin sowie Interleukin- 1α , Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) und Interferon- γ (IFN- γ). Seine Präsenz ist jedoch kurzfristig. P-Selektin verschwindet bald wieder von der Endotheloberfläche, um dem E-Selektin Platz zu machen [Lawley et al. 1994, Vestweber et al. 1999].

Das E-Selektin (auch ELAM-1, endothelium-leukocytes-adhesion-molecule-1, genannt) ist normalerweise auf den Endothelzellen nicht vorhanden. Seine Expression kann allerdings durch proinflammatorische Zytokine z.B. TNF- α oder IL-1 bzw. bakterielles Lipopolysaccharid induziert werden (IFN- γ scheint dagegen keinen Einfluss darauf zu haben). Sie erreicht den Höhepunkt 4-6 Stunden nach der Stimulation und sinkt nach 24-48 Stunden auf das Basalniveau zurück.

Die Liganden von E-Selektin findet man auf Neutrophilen und Makrophagen sowie auf den CD4+ T-Gedächtnis-Zellen [Shimizu et al. 1992, Lawley et al. 1994, Radi et al. 2001]. Hierbei ist z.B. das kutane lymphozyten-assoziierte Antigen (CLA) bekannt, das bei gesunden Menschen von 5-15% der zirkulierenden Lymphozyten exprimiert wird (mit einer leichter CD4+ Prävalenz) und hochspezifisch an E-Selectin bindet. Es fungiert als lymphozytäres „skin homing“ Rezeptor. Im Vergleich zu 5-10% CLA+ Lymphozyten in gesunder Dermis, notierte man 80-95% CLA+ Zellen bei chronischen kutanen Entzündungsprozessen. Die Hochregulierung des Rezeptors auf den T-Lymphozyten im peripheren Blut wurde u.a. bei atopischer Dermatitis, Kontaktallergie auf Nickel bzw. Arzneimittelunverträglichkeitsreaktionen beobachtet [Gonzalez et al. 1998].

Eine stark erhöhte Expression von E-Selektin wurde bei solchen kutanen Entzündungsprozessen wie Kontaktallergie oder atopische Dermatitis gefunden. Bei der atopischen Dermatitis war um die positiv markierten Gefäße dichtes lymphohistiozytäres Infiltrat zu sehen, was bei der Kontaktallergie nicht immer, besonders in den Papillen, der Fall war [Groves et al. 1991, Lasky 1992, Little et al. 1998].

Das letzte Mitglied dieser Familie, das L-Selektin, ist vor allem als ein „homing“-Rezeptor der Lymphozyten, d.h. ein Mediator des Einwandern dieser Zellen in die periphere Lymphknoten bekannt [Berg et Robinson 1991, Bevilacqua et al. 1993]. Darüber hinaus ist es auch für die Adhäsion der Neutrophilen und der Lymphozyten an das aktivierte Endothel von Bedeutung und kann als Ligand für das P- und E-Selektin fungieren [Groves et al. 1991, Spertini et al. 1991, Klein 1994, Radi et al. 2001].

1.6.3. Immunglobulinsuperfamilie

Die Mitglieder dieser Familie verdanken den Namen einem Strukturmerkmal, einer Immunglobulin-ähnlichen, über Disulfidbrücken stabilisierten Domäne. Sie sind von

großer Bedeutung für die embryonale und fetale Entwicklung sowie für die Regulation der Immunantwort.

Die evolutionsälteren Adhäsionsmoleküle, die dieser Gruppe angehören, weisen nur eine ungepaarte Proteinkette auf. Die im Laufe der Entwicklung später entstandene Moleküle, wie Immunglobuline bzw. Major-Histocompatibility-Complex-Moleküle (MHC-Moleküle) bestehen aus zwei Ketten [Klein 1994, Van de Stolpe et al. 1996].

Die Adhäsine der Immunglobulinsuperfamilie werden von einem breitem Spektrum von Zellen (Endothelien, Leukozyten, Keratinozyten) exprimiert, z.T. konstitutiv, z.T. induziert. Sie dienen als Gegenrezeptoren für die leukozytären Integrine, Intercellular-Adhesion-Molecule-1 (ICAM-1) für LFA-1 (und andere β 1-Intergrine) und Vascular-Cell-Adhesion-Molecule-1 (VCAM-1) für VLA-4 [Lawley et al. 1994, Radi et al. 2001]. Sie vermitteln unter anderem die Leukozyten-Endothel-Bindung.

Die erhöhte Expression von *ICAM-1* ist eines der ersten Zeichen bei kutanen Entzündungsprozessen. Seine Expression steigt ca. 4 Stunden nach Stimulation und bleibt 24 Stunden später immer noch hoch [Detmar 1992, Radi et al. 2001]. Es führt die lockere initiale Adhäsion der Entzündungszellen an das Endothel, die durch Selektine zustandekommt, in einen festen Zellkontakt über. Damit wird ein weiterer Schritt für die Extravasation getan.

Der konstitutive Expressionsmuster von ICAM-1 ist dem der MHC-Klasse-II-Moleküle sehr ähnlich. Das Transmembranprotein ist auf den weißen Blutzellen, wenn auch in unterschiedlicher Ausprägung, zu finden. Vorhanden ist es aber auch z.B. auf den Schwann-Zellen.

Von ruhendem Endothel wird es konstitutiv in nur geringem Ausmaß exprimiert. Es kann jedoch unter Einfluss proinflammatorischen Zytokine (IFN- γ , IL-1, IL-8, TNF- α , nicht aber GM-CSF oder IL-6) stark induziert werden [Shimizu et al. 1991, Antonelli et al. 2001, Radi et al. 2001]. Die Induktion ist auch bei Zellen möglich, die normalerweise gar kein ICAM-1 exprimieren, wie z.B. Keratinozyten [Lawley et al. 1994].

Dabei ist interessant, dass das Molekül nicht aktivierbar ist, d.h. in einem immer inaktivierten Zustand vorliegt. Es bedeutet u.a. Unabhängigkeit von Konzentrationsgradienten, was bei anderen Adhäsionsmolekülen der Fall ist [Klein 1994].

VCAM-1 ist ein epithelialer Gegenrezeptor für das von Leukozyten exprimierte VLA-4. Es vermittelt somit die Adhäsion von Lympho-, Mono- und Granulozyten an die Gefäßwand. Darüber hinaus ist es auch an Zell-Zell-Interaktionen zwischen Lymphozyten und dendritischen Zellen beteiligt [Klein 1994, Dupperay et Mantovani 1995]. Es wird von ruhenden Endothelien überhaupt nicht exprimiert, kann aber - wie ICAM-1 - von IL-1, TNF- α und IFN- γ induziert werden [Shimizu et al. 1992, Antonelli et al. 2001]. *VCAM-1* erscheint ca. 4 Stunden nach der Stimulation auf der Zelloberfläche und erreicht seine maximale Konzentration nach 12-18 Stunden [Fries et al. 1993, Radi et al. 2001].

Dabei erscheint es nur auf der luminalen Oberfläche der Endothelzellen, im Gegensatz zu ICAM-1, das auf den Endothelzellen überall zu finden ist sowie auf dem adhäsiven Pol der zur Diapedese fähigen Zellen [Hogg 1992].

1.7. Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit

Die Pathogenese von kutanen Arzneimittelreaktionen ist bis heute nicht vollständig geklärt. Das breite Spektrum der klinischen Erscheinungsbildern lässt vermuten, dass der Mechanismus nicht einheitlich ist. Im Falle des makulopapulösen Arzneimittel-exanthems (MPE), insbesondere durch β -Lactam-Antibiotika induziert, legen die bisher *in vivo* und *in vitro* durchgeführten Untersuchungen die Vermutung nahe, dass es sich dabei um eine allergische Reaktion von verzögertem Typ (DTH-Reaktion) handeln könnte [Barbaud et al. 1997]. Die genaue Rolle des Immunsystems bei MPE ist allerdings noch nicht erforscht.

DTH-Reaktionen werden durch CD4-positive T-Helferzellen (Lymphozyten) geprägt, die durch antigenpräsentierende Makrophagen stimuliert werden. Bekannt sind zwei T-Helferzellenpopulationen (Th-1 und Th-2), die sich durch unterschiedliche Zytokinsekretionsmuster und damit ihre immunmodulatorische Wirkung unterscheiden sowie zwei Makrophagenpopulationen, deren Eigenschaften auf einen unterschiedlichen Aktivierungsweg, klassisch versus alternativ, zurückzuführen ist.

Ziel dieser Arbeit war es, die zelluläre Immunantwort bei den makulopapulösen Arzneimittel-exanthemen zu untersuchen. Besonderes Interesse galt dabei den Makrophagen und ihrem Aktivierungsweg. Untersucht wurde das Expressionsmuster von

Makrophagenmarkern, Langerhans Zellen-Markern und Adhäsionsmolekülen (Integrinen, Selektinen, Adhäsinen der Immunglobulinsuperfamilie) sowie die Verteilung des zellulären Infiltrates. Bei den Makrophagen wurden besonders die Marker berücksichtigt, die für die klassische bzw. für die alternative Aktivierung spezifisch sind.

Parallel dazu wurde die Expression derselben Rezeptoren bei der akuten Kontaktdermatitis auf Nickel und bei atopischer Dermatitis untersucht, die ein Beispiel einer entsprechend Th-1- bzw. Th-2-geprägten Reaktion darstellen. Dadurch sollte ein Vergleich mit makulopapulösen Arzneimittelexanthenen und eventuell deren Zuordnung in die etablierten pathogenetischen Modelle ermöglicht werden.