



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Apoptose beim bullösen Pemphigoid und Pemphigus vulgaris

Autor: Steffen Kratochwill
Institut / Klinik: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Doktorvater: Prof. Dr. B. Rzany M.Sc.

Bullöses Pemphigoid (BP) und Pemphigus vulgaris (PV) gehören zu den bullösen Autoimmundermatosen, die gehäuft im Erwachsenenalter auftreten. Beim BP lagern sich die im Blut zirkulierenden Antikörper entlang der Basalmembranzzone der Epidermis ab und reagieren mit dem 180 kD BP Antigen (BPAG2) und dem 230 kD BP Antigen (BPAG1), die Bestandteile der Hemidesmosomen sind. Die Gruppe der Pemphiguserkrankungen ist durch einen intraepidermalen Adhäsionsverlust (Akantholyse) charakterisiert, der durch pathogenetische Autoantikörper gegen desmosomale Adhäsionsmoleküle (Desmoglein1 und Desmoglein 3) verursacht wird. Klinisch sind BP und PV durch eine teils ausgedehnte sub- bzw. intraepidermale Blasenbildung charakterisiert. Der klinische Verlauf variiert dabei zwischen selbst limitierenden und spontanen Remissionen bis hin zu chronischen Verläufen mit Rezidiven.

Die Behandlung des BP wird vom Ausmaß der Hautbeteiligung und der Krankheitsprogression bestimmt. Eine essentielle Säule im Behandlungskonzept ist die Verwendung von Glukokortikoiden, ihr wesentliches Wirkprinzip ist die Induktion einer T-Zell-Apoptose. Prädiktive Parameter, die Aussagen über den klinischen Verlauf der Erkrankung ermöglichen würden, sind daher wünschenswert.

Ziel dieser Arbeit ist deshalb die Bestimmung des Anteils apoptotischer T- Lymphozyten (CD4+ und CD8+) bei Patienten mit BP sowie gesunden Kontrollpersonen, die Veränderung der Apoptoserate unter Therapie mit Glukokortikoiden sowie der mögliche Einfluss von Konfoundern wie dem Alter.

Für die Immunphänotypisierung der Lymphozyten ist die Durchflusszytometrie heute die Methode der Wahl. Zur Untersuchung der verschiedenen Zellpopulationen werden die Zellen mit monoklonalen Antikörpern markiert, die gegen bestimmte, die Zelle charakterisierende Oberflächenantigene, gerichtet sind. Apoptotische Zellen unterscheiden sich von nekrotischen Zellen durch die Intaktheit ihrer Membranen. Die Messung der Apoptose erfolgte durch Anfärbung von Phosphatidylserin auf der Membranaußenseite apoptotischer Zellen mit Annexin-V-FITC und Gegenfärbung toter Zellen mit 7-Aminoactinomycin D. Anschließend erfolgte die Analyse im Durchflusszytometer.

Insgesamt wurde bei 28 Patienten mit bullösem Pemphigoid (BP), 6 Patienten mit Pemphigus vulgaris (PV), 12 Kontrollpatienten mit anderen dermatologischen Erkrankungen sowie 8 gesunden Kontrollpersonen in einen Zeitraum von 24 Monaten die Apoptoserate von CD4+ und CD8+ Zellen bestimmt.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte bei BP-Patienten ein signifikant höherer Anteil an apoptotischen Zellen im peripheren Blut verglichen mit den Werten des Kontrollkollektivs nachgewiesen werden. Die Apoptoserate war dabei sowohl für die CD4+ als auch für die CD8+ Zellen erhöht und nur beim Vergleich der unstimulierten CD4+ Zellen nicht signifikant. Während bei den CD4+ Zellen die Apoptoserate unter Stimulation mit Dexamethason anstieg, wurde der programmierte Zelltod der CD8+ Zellen *in vitro* gehemmt. Diese Reaktion war sowohl bei den Patienten als auch beim Kontrollkollektiv zu sehen.

In einem weiteren Schritt wurden Parameter wie die Krankheitsaktivität (Maß hier die Hautbeteiligung), die Therapie der Patienten sowie das Alter in die Analyse der Apoptoseraten miteinbezogen.

Hier konnte gezeigt werden, dass der Prozentsatz apoptotischer T-Zellen im peripheren Blut bei Patienten mit einer Hautbeteiligung signifikant höher ist als bei Patienten ohne Hautbeteiligung und der Kontrollgruppe. Zusammenfassend fanden wir eine Korrelation zwischen erhöhter Apoptoserate und Krankheitsaktivität (hier Hautbeteiligung).

Die Frage des Einflusses der Therapie innerhalb der Patientengruppe ergab keinen signifikanten Unterschied in den Ergebnissen. Unter der Therapie mit Glukokortikoiden oder anderen Immunsuppressiva wäre an sich eine deutlich erhöhte Apoptoserate der CD4+ Zellen und eine niedrigere Apoptoserate der CD8+ Zellen zu erwarten gewesen. Gründe für die Diskrepanz sind

möglicherweise in der Zuordnung der Patienten sowie in dem relativ kleinen Stichprobenumfang zu suchen.

Ein möglicher Einfluss des Alters auf die Apoptoserate konnte nicht gezeigt werden.

Zusammenfassend bestätigen die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit die wichtige Rolle der Apoptose in der aktiven Phase der bullösen Autoimmunerkrankungen und unterstützen die Bedeutung von Glukokortikoiden in der Therapie des BP. Die Induktion einer T-Zellapoptose ist möglicherweise der wichtigste therapeutische Effekt der Glukokortikoiden. Zu überlegen wäre, ob die T-Zell-Apoptoserate als Marker für das Ansprechen der Erkrankung auf Glukokortikoiden dienen könnte. Diese Fragestellung bliebe jedoch einer weiteren Studie vorbehalten.