

Topische Immuntherapie mit Diphenylcyclopropenon
bei verschiedenen Typen der Alopecia areata:
Assoziation zu klinischen Parametern
und einem funktionellen
Genpolymorphismus des Interleukin-6-Promotors

Markus Stockmeier

Aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der
Universität München

Vorstand: Professor Dr. med. Dr. h.c. G. Plewig

Topische Immuntherapie mit Diphenylcyclopropenon
bei verschiedenen Typen der Alopecia areata:
Assoziation zu klinischen Parametern
und einem funktionellen
Genpolymorphismus des Interleukin-6-Promotors

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von

Markus Stockmeier

aus

Ingolstadt

2004

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. G. Messer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Endres
Priv. Doz. Dr. Chr. Klein

Dekan: Prof. Dr. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 06.10.2005

1.	Einleitung	Seite
1.1	Klinik der Alopecia areata	1
1.2	Pathophysiologie der Alopecia areata	3
1.3	Interleukin 6 und Alopecia areata	5
1.4	Therapiemöglichkeiten der Alopecia areata	7
1.5	Zielsetzung dieser Arbeit	9
2.	Material	11
2.1	Chemikalien und Lösungen	11
2.2	Pufferlösungen	12
2.3	Oligonukleotide	12
2.4	Enzyme	13
2.5	Technische Geräte	13
3.	Patienten und Methoden	14
3.1	Patienten mit Alopecia areata	14
3.2	Therapie der Alopecia areata mit Diphenylcyclopropenon	14
3.3	Isolierung von chromosomaler DNA aus Vollblut mittels Erythrozytenlysepuffer	15
3.4	Isolierung von chromosomaler DNA aus Vollblut mittels QIAamp Blood Kit	15
3.5	Polymerasenkettenreaktion von genomischer DNA	15
3.6	Enzymatische Spaltung der PCR-Amplifikate durch Restriktionsendonukleasen	17
3.7	Gelelektrophorese der Nukleinsäurefragmente	17
3.8	Statistische Methoden	18
3.8.1	χ^2 -Unabhängigkeitstest	18
3.8.2	Kruskal-Wallis-Test	18
3.8.3	t-Test	18

3.9	Standardisierte Dokumentation	19
3.9.1	Erhebung von Patientenvariablen	19
3.9.2	Dokumentation der Therapie	19
3.9.3	Einwilligungserklärung in die topische Immuntherapie	20
3.9.4	Einwilligungserklärung in die Untersuchung des IL-6-Promotor-Polymorphismus –174 G/C	20
4.	Ergebnisse	21
4.1	Patienten	21
4.1.1	Gesamtzahlen der eingeschlossenen Patienten	21
4.1.2	Altersverteilung der Patienten	21
4.1.3	Aufgrund von Einschlußkriterien festgelegte Patientenvariablen	21
4.1.4	Häufigkeit der einzelnen Verteilungstypen der Alopecia areata	22
4.1.5	Häufigkeit von Alopecia areata in der Familie	23
4.1.6	Häufigkeit von Spontanremission vor DCP-Therapie	23
4.1.7	Häufigkeit von Begleiterkrankungen aus dem atopischen Formenkreis und Autoimmunerkrankungen	23
4.1.8	Häufigkeit einer Nagelbeteiligung	25
4.1.9	Durchgeführte Therapien vor der topischen Immuntherapie	25
4.2	Überprüfung von Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und den einzelnen Patientenvariablen	27
4.2.1	Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und positiver Familienanamnese	27
4.2.2	Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und anamnestischer Spontanremission	27
4.2.3	Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und Thyreoiditis-Hashimoto	27
4.2.4	Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und Nagelveränderungen	28
4.2.5	Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und Erkrankungsalter	28
4.2.6	Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und Erkrankungsdauer	29
4.2.7	Abhängigkeit von Typ und Ausprägung des IL-6-Promotor-Polymorphismus	29
4.3	Evaluierung des Gesamterfolges mit DCP bei 86 Patienten mit Alopecia areata	31
4.4	Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und anamnestischen und klinischen Kriterien	33

4.4.1	Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und positiver Familienanamnese	33
4.4.2	Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und anamnestischer Spontanremission	33
4.4.3	Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Thyreoiditis-Hashimoto	33
4.4.4	Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Nagelveränderungen	33
4.4.5	Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Erkrankungsalter	34
4.4.6	Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Erkrankungsdauer	34
4.4.7	Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Typ der Alopecia areata	34
4.4.8	Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und IL-6-Promotor-Polymorphismus	35
4.5	Wahrscheinlichkeit von Erfolg der DCP-Therapie im Verlauf der Therapie	35
4.5.1	Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Behandlungsdauer	36
4.5.2	Abhängigkeit von Erfolgsverlauf der DCP-Therapie und Typ der Alopecia areata	37
4.6	Unerwünschte Wirkungen der DCP-Therapie	38
5.	Diskussion	40
5.1	Alopecia areata und Spontanremission	40
5.2	Alopecia areata und Begleiterkrankungen aus dem atopischen Formenkreis	41
5.3	Alopecia areata und assoziierte Autoimmunerkrankungen	41
5.4	Alopecia areata und Nagelbeteiligung	42
5.5	Alopecia areata und positive Familienanamnese	43
5.6	Alopecia areata und erfolglose Vorbehandlungen	43
5.7	Vergleich des Behandlungserfolges mit bereits veröffentlichten Berichten	46
5.8.1	Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Erkrankungsdauer	47
5.8.2	Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Behandlungsdauer	48
5.8.3	Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Typ der Alopecia areata	48
5.9	Langfristige Anwendung der DCP-Therapie	49
5.10	Pathophysiologie der Alopecia areata	50
5.10.1	Zytokine und Alopecia areata	51
5.10.2	Die Funktion von Interleukin-6 bei Alopecia areata	52
5.11	Polymorphismus -174 G/C in der Promotorregion von Interleukin-6	53

6.	Zusammenfassung	56
7.	Anhang	58
8.	Literaturverzeichnis	62
9.	Lebenslauf	70

1. Einleitung

1.1 Klinik der Alopecia areata

Die Alopecia areata ist erstmals von Celsus beschrieben worden. Im Kapitel „De areis at earum curationibus“ (57 n. Chr.) teilte dieser den kreisförmigen Haarausfall in zwei Formen ein: Ophiasis und kreisrunde haarlose Stellen bei Kindern (29).

Heute versteht man die Alopecia areata als eine Erkrankung, die in jedem Lebensalter auftreten kann, jedoch einen Erkrankungsgipfel im zweiten und dritten Lebensjahrzehnt aufweist (20).

Typischerweise entstehen am behaarten Kopf eine oder mehrere kreisrunde haarlose Areale ohne Zeichen einer Atrophie oder Vernarbung. Die Erkrankung beginnt mitunter mit einem isolierten Haarverlust an anderen behaarten Körperstellen wie Bartregion, Augenbrauen, Wimpern oder auch der weiteren Körperbehaarung (28). Kleinfleckiges Auftreten der Alopecia areata ist oftmals vorübergehend und wird gelegentlich nicht einmal bemerkt. Eine genaue Inzidenz der Erkrankung ist daher nur schwer zu berechnen. In einer Gemeinde ergab eine Analyse über einen Zeitraum von 14 Jahren hinweg, daß eine kumulative Inzidenz bis zum zwanzigsten Lebensjahr von etwa 0,3% besteht (54). Eine andere Studie beschreibt eine Inzidenz von etwa 2,5% bei über Jahre konstanter Zahl an Neuerkrankungen. Ein ausgewogenes Geschlechterverhältnis ohne Bevorzugung bestimmter ethnischer Gruppen wurde an den 736 Patienten zudem beobachtet (42).

Meist beginnt die Erkrankung kleinfleckig, sowohl Anzahl als auch Größe der haarlosen Areale können jedoch im Verlauf zunehmen. Bei Ausfall der gesamten Kopfbehaarung spricht man von Alopecia areata totalis, geschieht dies unvollständig, liegt eine Alopecia areata fere totalis vor. Bei Verlust aller Haare spricht man von einer Alopecia areata universalis, liegen noch wenige behaarte Restareale vor, handelt es sich um eine Alopecia areata fere universalis. Ein Auftreten im Bartbereich bezeichnet man als Alopecia areata barbae. Eine weitere seltene Erscheinungsform ist die bis heute beschriebene Alopecia areata ophiasis mit Haarverlust am Haaransatz des Nackens und der Retroaurikularregion. Als seltenen, diffusen Typ bezeichnet man eine Alopecia areata ohne deutlich abgegrenzte Kahlstellen. Im Verlauf fallen hier zum Teil nur die pigmentierten Haare aus, bei relativer Schonung jener Haarschäfte, die durch den Krankheitsprozeß ihr Pigment verloren haben, so daß es zum Phänomen des scheinbaren „plötzlichen Ergrauens“ kommen kann. Mit anderen

Worten: Plötzliches Ergrauen kann nichts anderes als eine akut einsetzende Alopecia areata sein.

Am Rande einer Kahlstelle sind oft die pathognomonischen Ausrufezeichenhaare oder Kommahaare vorhanden. Dies sind kurze abgebrochene Haare, die nach proximal hin dünner werden (28).

Die Diagnose Alopecia areata läßt sich fast immer klinisch stellen. Neben den schon beschriebenen Ausrufezeichenhaaren, lassen sich am Rande eines fortschreitenden Herdes Haare im Zupftest leicht herausziehen. Eine gleichzeitige Untersuchung der Nägel hat nicht nur diagnostischen Wert, sondern kann auch einen Hinweis auf die Stärke des Krankheitsschubes geben. Typisch sind kleine Grübchen oder Querrillen der Nagelplatte. Die Lunulae sind oft fleckig gerötet. Manchmal ist die Nagelplatte longitudinal aufgeraut und wird als Sandpapiernagel bezeichnet, sehr selten kommt es zum vollständigen Verlust der Nagelplatte.

In einzelnen Fällen muß eine Sicherung der Diagnose mittels Biopsie erfolgen.

Dermatohistopathologisch sind typischerweise im akuten Schub die Haarbulbi von einem lymphozytären Infiltrat umgeben, die Follikel oft verkleinert, bis hin zum Miniaturfollikel.

Bei ausgedehntem oder progressivem Haarausfall können die regionären Lymphknoten retroaurikulär, nuchal und entlang des Musculus sternocleidomastoideus vergrößert sein.

Die Hemmung des Haarwachstums bei Alopecia areata ist im Prinzip reversibel. Die Verläufe sind außerordentlich wechselhaft und im Einzelfall nicht voraussagbar. Die Minimalvariante der Erkrankung ist eine etwa münzgroße Kahlstelle, welche in wenigen Monaten die Behaarung wieder erlangt. Die Maximalvariante ist ein totaler Haarverlust, der über Jahrzehnte oder gar lebenslang anhalten kann. Bei etwa 5 bis 10% der Patienten entsteht aus dem kleinfleckigen Typ eine Alopecia areata totalis mit Verlust der gesamten Behaarung des Kapillitiums, bei etwa 1 bis 2% eine Alopecia areata universalis (29).

Als wichtige Differentialdiagnosen sollten die Trichotillomanie, ein zwanghaftes Auszupfen der Haare, sowie die vernarbenden Alopezien, bei Autoimmunerkrankungen wie dem diskoiden Lupus erythematoses, bei der Pseudopelade vom Typ Brocq und dem Lichen planopilaris und auch die Syphilis mit der Alopecia specifica bedacht werden.

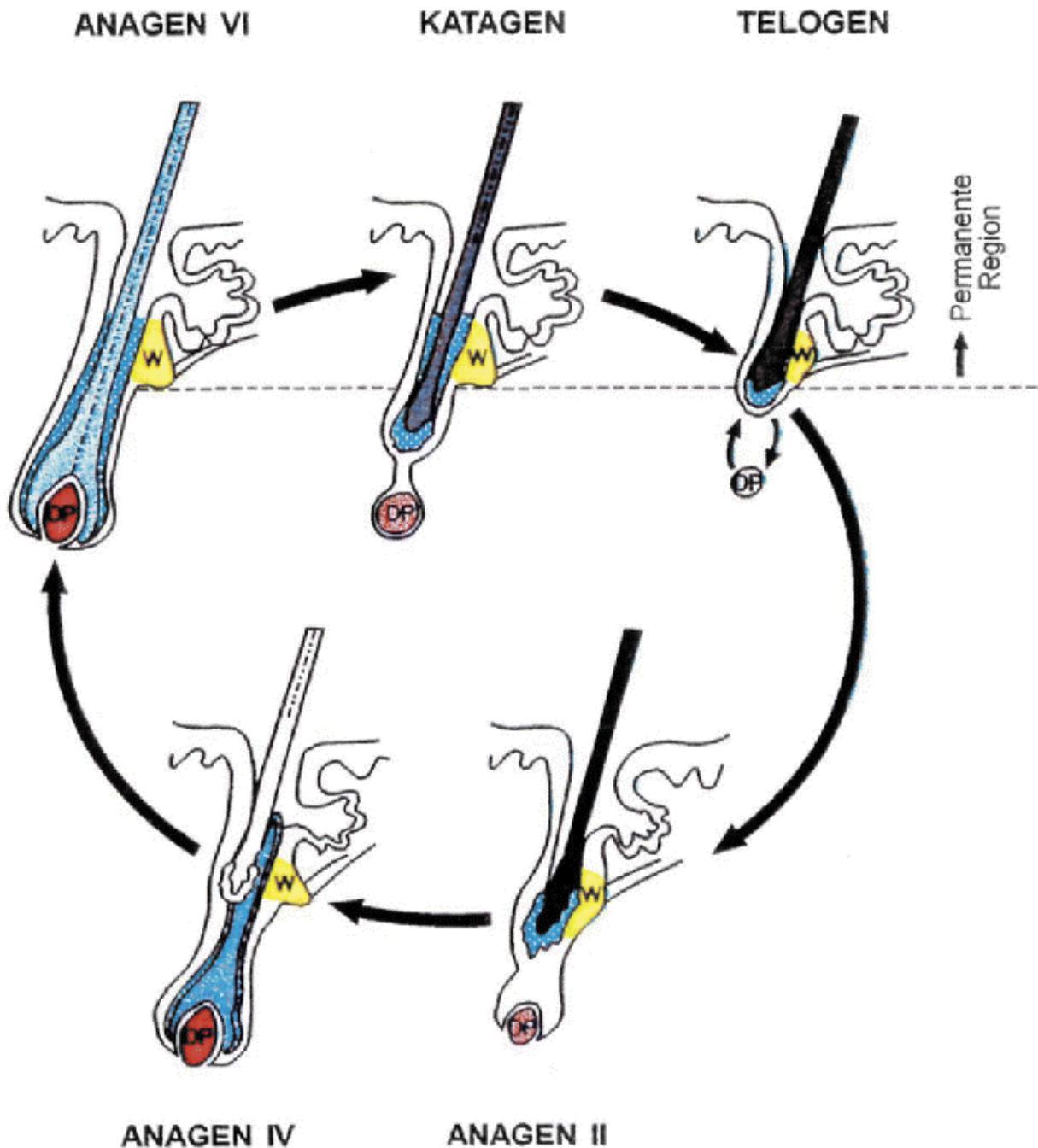
1.2 Pathophysiologie der Alopecia areata

Die Geschichte der Alopecia areata ist reich an Spekulationen über ihre Ursache. Rational begründete Erklärungen sollen kurz dargestellt werden. Es wurde oft vermutet, daß ein Zusammenhang zwischen „Streß“ und Auftreten einer Alopecia areata bestünde. Dies konnte bisher in keiner kontrollierten klinischen Studie statistisch signifikant nachgewiesen werden. Wenn auch ein psychogener Triggermechanismus bei der Entstehung der Alopecia areata theoretisch nicht ausgeschlossen werden kann, so hat sich keine reine Psychopathogenese bisher beweisen lassen (62). Umgekehrt jedoch können chronische, entstellende Verläufe der Alopecia areata Auswirkungen auf die Psyche haben und auch psychiatrische Erkrankungen auslösen (6). Beobachtungen, daß Umwelteinflüsse zur Manifestation von Alopecia areata führen könnten, haben sich bisher nicht bestätigen lassen. Zwar hat sich in Kopfhautbiopsien bei Alopecia areata Cytomegalieviren-DNS nachweisen lassen, jedoch konnten diese Ergebnisse nicht bestätigt werden, da aufgrund der hohen Durchseuchung der Bevölkerung mit Cytomegalieviren sich der Prozentsatz an antikörperpositiven Seren von Patienten mit Alopecia areata nicht von denen anderer Erkrankungen unterscheidet (29).

Erkenntnisse über Modulation von Immunantworten auf Interleukinebene haben dagegen neue Ansätze zum Verständnis der Pathogenese erbracht. Dazu ist das Verständnis des physiologischen Haarzyklus von zentraler Bedeutung. Jede Haarwurzel durchläuft wiederkehrend 3 Phasen: Wachstumsphase (Anagen), Übergangsphase (Katagen), Ruhephase (Telogen). Unter den molekularen Signalen, die den Übergang der Haarwurzel in die jeweils nächste Phase bestimmen, kann zwischen hemmenden und fördernden Wachstumsfaktoren unterschieden werden (Abbildung 1) (46).

Dermatohistopathologisch sind bei Alopecia areata die Haarbulbi von einem lymphozytären Infiltrat umgeben. Immunhistochemische Studien der Alopecia areata haben belegt, daß dieses peribulbäre Infiltrat hauptsächlich aus T-Lymphozyten besteht. Ausschließlich die Haarbulbi, die sich in der anagenen Phase befinden, werden negativ reguliert. Es findet ein sofortiger Übergang in eine dystrophische Katagenphase statt; im Anschluß daran folgt unmittelbar die Telogenphase. Dabei geht der Haarschaft des geschädigten, dystrophen Haarfollikels verloren. Die betroffenen Haarbulbi werden hierbei nicht irreversibel geschädigt, so daß ein Wiederwachstum von Haaren möglich ist (45). Neben den T-Lymphozyten finden sich Langerhans-Zellen und auch weitere immunologisch relevante Zellen im entzündlichen Infiltrat. Die Rekrutierung, Adhäsion und Aktivierung dieser Zellen wird maßgeblich moduliert durch Zytokine.

Abbildung 1: Der Haarfollikel-Zyklus



Zyklische Abfolge der verschiedenen Haarwachstumsphasen: Kontinuierliche epitheliomesenchymale Interaktion der auswachsenden epithelialen Zellen aus dem Bereich der Wulstregion (W) mit den epithelialen germinativen Zellen und den mesenchymalen Zellen der dermalen Papille (DP) (nach Vogt A, Blume-Peytavi U (2003) Die Biologie des menschlichen Haarfollikels. Hautarzt 54:692-698).

1.3 Interleukin 6 und Alopecia areata

Zytokine, einschließlich der Lymphokine und Interleukine, sind hormonähnliche Peptide oder Glykopeptide mit multifunktionaler Wirkung. Viele Zytokine wurden deshalb von verschiedenen Arbeitsgruppen unter unterschiedlichen Fragestellungen unabhängig voneinander untersucht. Die Einführung molekularbiologischer Methoden und Forschung an rekombinanten Zytokinen hat die Erkenntnisse über deren Funktion *in vitro* heute deutlich erweitert. Wenige Erkenntnisse liegen jedoch über die Situation *in vivo* vor. Die Gründe dafür sind vielgestaltig.

Zytokine wirken *in vivo* nicht solitär. Vielmehr kann jedes Zytokin als einzelnes Wort in einem Zytokin-Satz betrachtet werden. Jede beteiligte Zelle antwortet auf den ganzen Satz und auch entsprechend der Reihenfolge des Einwirkens der Wörter. Eine Kombination von Zytokinen kann eine Wirkung hervorrufen, welche ein einzelnes Zytokin nicht erreichen kann. Dabei sind sowohl synergistische als auch antagonistische Effekte maßgeblich.

Weiterhin können Zytokine *in vivo* auch inhibiert werden. Zytokine binden an spezifische Zytokinrezeptoren. Dabei kann ein Zytokin die Antwort der Zelle auf ein anderes auch abschalten, indem es an einem anderen Rezeptor bindet und dies wiederum intrazelluläre Signalwege modulartig beeinflusst.

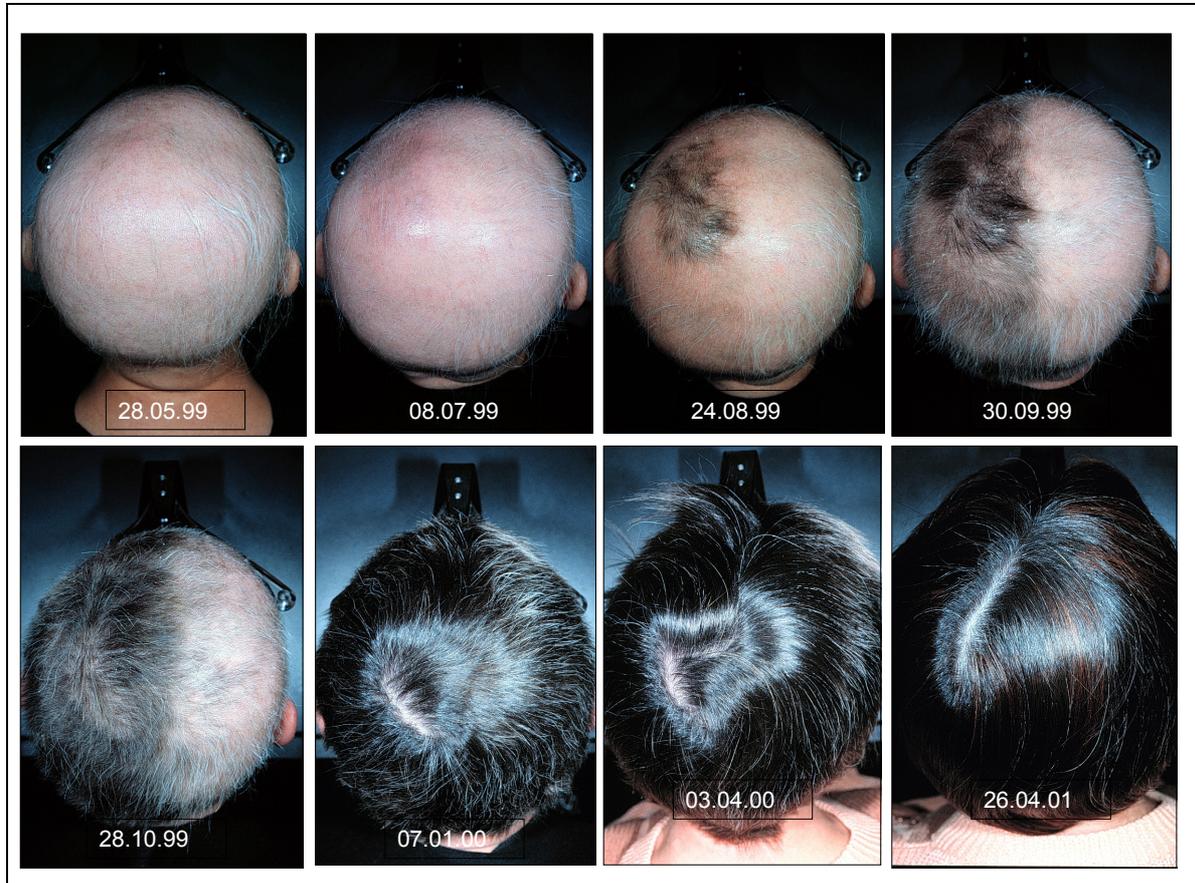
Untersuchungen der Zytokinmuster *in vivo* können zum Teil dazu beitragen, die jeweilige biologische Rolle des betreffenden Zytokins zu erhellen. Hierzu eignen sich insbesondere Tiermodelle. Zytokine können in Versuchstiere injiziert werden oder eine Injektion mit Anti-Zytokin-Antikörpern kann erfolgen, die das jeweilige Zytokin *in vivo* neutralisiert. Schließlich können transgene Versuchstiere geschaffen werden, die ein bestimmtes Zytokin überexprimieren, oder aber das für die Kodierung des bestimmten Zytokins notwendige Gen kann entfernt werden (knock-out). Gemeinsam sind allen diesen *in vivo* durchgeführten Versuchsanordnungen Schwierigkeiten in der Interpretation. Jeder beobachtete Effekt kann immer sekundär sein, also nicht auf dem verabreichten oder überexprimierten Zytokin, sondern weiteren Mediatorwegen beruhen (53).

Interleukin 6 ist ein pleiotropes Zytokin mit potenten biologischen Effekten, einschließlich Stimulation von B- und T-Lymphozyten, Induktion von Fieber und Synthese von Akut-Phase-Proteinen (5, 24, 25, 34, 60). IL-6 wird produziert von Monozyten, T-Zellen, B-Zellen, Keratinozyten, Endothelzellen und Fibroblasten (34). In Monozyten wird die IL-6 Synthese durch TNF und IL-1 stark gefördert (8), durch IL-4 und IL-13 gehemmt (25).

Als sehr wichtige Funktion von IL-6 gilt die Förderung der Differenzierung von B-Zellen zu Antikörper-produzierenden Zellen (65). Ferner ist IL-6 involviert in die Proliferation und Differenzierung von zytotoxischen T-Lymphozyten (66), aber auch in die Reifung von peripheren und Thymus T-Zellen (37). Interleukin 6 ist ein wichtiger Regulator der Akute-Phase-Antwort (24) und stimuliert Synthese und Freisetzung der damit zusammenhängenden Proteine wie C-reaktives Protein, Fibrinogen, alpha-1-Antitrypsin und Haptoglobin (25). Die systemische Konzentration von IL-6 wird hauptsächlich reguliert über das Ausmaß der Genexpression, da IL-6 rasch aus dem Plasma entfernt wird (5). Die Expression von IL-6 ist reguliert über eine Anzahl von Transkriptionsfaktoren, zum Beispiel Nuklear-Faktor IL-6, der an die IL-6-Promotor-Region bindet (1). Erst vor kurzem wurde an Position –174 Basenpaare der humanen IL-6-Promotor-Region innerhalb einer regulierenden Domäne ein Einzelnukleotid-Polymorphismus identifiziert, resultierend aus einer Substitution von Guanin zu Cytosin, der ebenfalls Einfluß auf die Genexpression nimmt (13, 56). Eine Vielzahl von Wachstumsfaktoren und Wachstumsfaktor-Rezeptoren sind auch für einen ungestörten Ablauf des Haarzyklus entscheidend. Zu den die Anagen-Phase hemmenden Zytokinen gehört neben IL-1 auch IL-6 (44, 46). Ein allen anderen Faktoren übergeordneter Wachstumsfaktor ist derzeit nicht postuliert (47).

1.4 Therapiemöglichkeiten der Alopecia areata

Abbildung 2: Verlauf einer topischen Immuntherapie bei Alopecia areata totalis



Zum Zeitpunkt des Therapiebeginns 46 Jahre alte Patientin mit Alopecia areata totalis. Zustand nach Sensibilisierung mit Erythem auf Sensibilisierungsareal (28.05.99), Flaumhaare auf Sensibilisierungsareal (08.07.99); Terminalhaare auf gesamtem Behandlungsareal links parietal (24.08.99); Halbseitenerfolg, Behandlungserweiterung auf rechts parietal (30.09.99); Flaumhaare rechts parietal (28.10.99); Terminalhaare rechts parietal (07.01.00); zunehmende Terminalbehaarung rechts parietal (03.04.00); Vollseitenerfolg (26.04.01).

Für die Behandlung der Alopecia areata stehen zahlreiche unterschiedliche Behandlungsmöglichkeiten zur Verfügung. Schon seit Ende der 1950er Jahre ist bekannt, daß sich bei Alopecia areata nach systemischer Gabe oder lokaler Injektion von Kortikosteroiden neues Haarwachstum beobachten läßt. Leider hat sich gezeigt, daß dieses Phänomen für die Praxis nahezu bedeutungslos ist, denn die notwendigen Dosen sind so hoch, daß die Therapie bei ausgeprägter Alopecia areata aufgrund der zu erwartenden unerwünschten Wirkungen in jedem Fall abgebrochen werden muß, bevor das neugewonnene Haar eine relevante Länge erreicht hat. Die ebenfalls immunsupprimierend wirkenden Substanzen Cyclosporin A und Methotrexat, die temporär zum Teil erneutes Haarwachstum induzieren können, werden ebenso aus Gründen von Risiko-Nutzen-Abwägung nicht für die Behandlung herangezogen. Eine weitere mögliche Therapie ist die Kombination aus ultravioletter Bestrahlung des A-Wellenlängenbereichs (UVA) und dem Photosensibilisator Psoralen (PUVA). Durch diese Therapie läßt sich ebenfalls neues Haarwachstum erreichen, jedoch kann mit einsetzendem Wiederwachstum der Haare die Kopfhaut nur mehr unzureichend bestrahlt werden, die Haare fallen alsbald wieder aus. Auch die PUVA-Turban-Therapie, bei der mittels Binden die wiederbehaarten Areale abgedeckt werden, um lediglich die noch haarlosen Areale bestrahlen zu können, kann diesen grundsätzlichen Nachteil nicht aufheben (10, 50, 58). Dapson gilt bei unbewiesener Wirksamkeit bei Alopecia areata aufgrund hoher Nebenwirkungsraten als ungeeignet. Tacrolimus unterdrückt T-Zell vermittelte Autoimmun-Erkrankungen durch verminderte Interleukin-2-Produktion (81). Im Tierversuch ist bei topischer Anwendung wiederholt die Wirksamkeit bei Alopecia areata berichtet worden, jedoch hat sich dies bisher nicht auf den Menschen übertragen lassen (14, 15, 39, 81). Eine verbesserte Penetration von Tacrolimus durch eine Liposomenhülle könnte in Zukunft zu einer besseren Wirksamkeit führen (15). Darüber hinaus gibt es noch weitere Therapieempfehlungen. Viele nicht kontrollierte Therapiestudien sind jedoch wertlos, da eine Spontanremission niemals ausgeschlossen werden konnte. Diese aber ist bei umschriebenen Formen der Alopecia areata geradezu die Regel.

Die topische Immuntherapie ist dagegen die einzige Therapie, bei der die Wirksamkeit im Halbseitenversuch belegt werden konnte. Drei obligate Kontaktallergene sind bisher verwendet worden: Dinitrochlorobenzol (DNCB), Diphenylcyclopropenon (DCP) und Quadratsäuredibutylester (Squaric acid dibutyl ester, SADBE). Dinitrochlorobenzol erwies sich im Ames-Test als mutagen und ist heute obsolet (64). Zunächst wurde später deshalb Diphenylcyclopropenon (DCP), später Quadratsäuredibutylester in die Behandlung der Alopecia areata eingeführt (29). Immer erfolgt das Auftragen des Allergens in wöchentlichen

Abständen. Das obligate Kontaktallergen DCP oder SADBE, auf das haarlose Areal aufgetragen, erzeugt ein Ekzem mit Erythem, entzündlichem Infiltrat, Schuppen und Juckreiz. Dies wird wiederholt, bis sich Wiederwachstum einstellt. Nach Erzielen vollständigen Wiederwachstums wird die Therapie ausschleichend beendet.

Faßt man alle Therapiemodalitäten zusammen und vergleicht deren Erfolgsraten in klinisch kontrollierten Studien, so ist die topische Immuntherapie mit Kontaktallergen trotz ihrer bekannten Begleiterscheinungen die erfolgreichste Behandlungsmethode (29).

1.5 Zielsetzung dieser Arbeit

Die Alopecia areata ist, obgleich häufig in der Bevölkerung auftretend, wenig verstanden. Weit verbreitete, auf klinischen Erfahrungen beruhende Ideen von anamnestischen und klinischen Faktoren und Zusammenhängen, die Rückschlüsse auf die Prognose zulassen sollen, sind kaum empirisch belegt. Gerade diese Fragestellung jedoch steht im Zentrum des Arzt-Patienten-Gesprächs bei Alopecia areata. Mit dem aufkommenden Verständnis als immunologische Fehlregulation und der möglichen Modulation der Immunantwort auf Zytokinebene sowie der Bedeutsamkeit von Polymorphismen im genetischen Bauplan von Zytokinen haben sich neue Möglichkeiten ergeben, die Pathophysiologie dieser Erkrankung zu untersuchen. Die zur Verfügung stehenden immunologisch eingreifenden Therapien erfordern hohe Compliance seitens des Patienten, sind jedoch bislang nicht ausreichend evaluiert worden. So konnten die Patienten kaum über Dauer der Therapie, Ansprechrate, Erfolgsrate oder Häufigkeit von unerwünschten Wirkungen zufriedenstellend aufgeklärt werden. Zu diesen Fragestellungen wird in dieser Arbeit eines der größten im deutschsprachigen Raum beschriebenen Kollektive bearbeitet.

Es sollen weiterhin Patientenvariablen in Abhängigkeit des Types der Alopecia areata untersucht und mit einem aus der klinischen Erfahrung stammenden Wissen über Assoziationen mit verschiedenen Erkrankungen und Stigmata verglichen werden. Die in der Medizin verbreiteten Ideen von Stigmata, anhand derer eine Aussage zur Prognose des Haarausfalls getroffen werden könnte, sind zudem kaum statistisch belegt. In dieser Arbeit sollen die vermuteten und darüber hinaus aus dem derzeitigen Verständnis der Pathophysiologie heraus naheliegenden Variablen, wie positive Familienanamnese, Häufigkeit von Spontanremission, assoziierte Autoimmunerkrankungen, Nagelveränderungen, Erkrankungsalter und Erkrankungsdauer untersucht werden.

Für die Therapie der Alopecia areata stehen verschiedene Optionen zur Auswahl, die mit bestimmten unerwünschten Wirkungen und Einschränkungen oder einer geringen oder nicht sicheren Wirkung verbunden sind, so daß es unabdingbar ist, genaue Daten über die jeweilige Therapieoption zu erhalten, um eine bestmögliche Therapie der Patienten sicherzustellen. In dieser Arbeit ist dies für die topische Immuntherapie mit DCP, als derzeit wirksamster Therapieansatz, untersucht worden.

IL-6 ist ein proinflammatorisches Zytokin, das in der Frühphase einer immunologischen Reaktion gebildet wird. IL-6 kann den Haarzyklus in der Anagen-Phase hemmen. Hieraus leitet sich ab, daß ein Polymorphismus, der die Expression von IL-6 beeinflusst, sowohl für den Verlauf der Erkrankung als auch für das Ansprechen auf die topische Immuntherapie mit DCP von Bedeutung sein könnte. Ein funktioneller Einzelnukleotid-Polymorphismus in Position -174 Basenpaare der Promotor-Region des humanen Interleukin-6-Gens wurde 1998 beschrieben. Die Variante mit Guanin hatte sowohl eine erhöhte spontane als auch induzierbare Expression von IL-6-Transkripten, verglichen mit dem Allel mit Cytosin. Zusätzlich ging das Guanin-Allel mit einem signifikant höheren Plasmaspiegel von Interleukin 6 bei gesunden Erwachsenen einher. Deshalb sollte auch untersucht werden, ob ein bestimmter IL-6-Promotor-Genotyp mit einem bestimmten Typ der Alopecia areata oder dem Ansprechen auf die DCP-Therapie assoziiert ist.

2. Material

2.1 Chemikalien und Lösungen

Agarose	Sigma, Deisenhofen
Bromphenolblau	Serva, Heidelberg
Bovines Serumalbumin	Sigma, Deisenhofen
dATP, dCTP, dGTP, dTTP	Pharmacia, Freiburg
Diphenylcyclopropenon 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,5, 2,0 %	PPR Diagnostics, Lincolnshire, England
Dithiothreitol	Sigma, Deisenhofen
EDTA	Sigma, Deisenhofen
Ethanol	Merck, Darmstadt
Ethidiumbromid (3,8-Diamino-6- -Ethyl-5-Phenylphenanthridium- -bromid)	Sigma, Deisenhofen
Ficoll	Sigma, Deisenhofen
Isopropanol	Merck, Darmstadt
K-Azetat	Merck, Darmstadt
Mg-Azetat	Merck, Darmstadt
MgCl ₂	Merck, Darmstadt
Molekulargewichtsstandard (kbc-Leiter)	Gibco, Karlsruhe
NaCl	Merck, Darmstadt
Orange G	Sigma, Deisenhofen
PCR-Nukleotid-Mix	Pharmacia, Freiburg
Salzsäure	Merck, Darmstadt
Tris-Azetat	Merck, Darmstadt

2.2 Pufferlösungen

Erythrozyten-Lysepuffer

155 mM NH₄-Cl
10 mM KHCO₃
1 mM Na₂-EDTA

N/aIII-Reaktionspuffer

50 mM K-Azetat
20 mM Tris-Azetat
10 mM Mg-Azetat
1mM Dithiothreitol
100 µg/ml BSA
0,05 U/µl N/aIII

TBE-Puffer pH 8,0 (10x)

890 mM Tris
890 mM Borsäure
20 mM Na₂-EDTA

Quiagen Puffer AL	Quiagen, Hilden
Quiagen Puffer AW1	Quiagen, Hilden
Quiagen Puffer AW2	Quiagen, Hilden
Quiagen Puffer AE	Quiagen, Hilden

2.3 Oligonukleotide

IL-6 (forward) 5'-TTG TCA AGA CAT GCC AAG TGC T-3'

IL-6 (reverse) 5'-GCC TCA GAG ACA TCT CCA GTC C-3'

2.4 Enzyme

Restriktionsendonuklease N/aIII	Boehringer, Mannheim
Taq-DNA-Polymerase	Quiagen, Hilden
Quiagen Protease	Quiagen, Hilden

2.5 Technische Geräte

Thermocycler GeneAmp 9700	Perkin Elmer, Heidelberg
---------------------------	--------------------------

3. Patienten und Methoden

3.1 Patienten mit Alopecia areata

Von Mai 1999 bis September 2002 wurden an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Ludwig-Maximilians-Universität München 97 Patienten mit Alopecia areata mit topischer Immuntherapie mit Diphenylcyclopropenon behandelt. Davon wurden 86 Patienten abschließend behandelt und für diese Untersuchung ausgewertet. 58 Patienten (67,4%) waren weiblich, 28 (32,6%) männlich.

3.2 Therapie der Alopecia areata mit Diphenylcyclopropenon

Das Prinzip der topischen Immuntherapie besteht in der intermittierenden Auslösung eines allergischen Kontaktekzems an der Kopfhaut. Dazu ist ein potentes Kontaktallergen nötig. DCP ist ein Allergen, das weder in der natürlichen noch technischen Umwelt des Menschen vorhanden ist. Aus naheliegenden Gründen ist es deshalb für diese Therapie favorisiert (29). Die Sensibilisierung erfolgte auf einem umschriebenen Areal von etwa 10 x 5 cm parietal paramedian links mit einer DCP 2%igen Lösung. Mit Hilfe eines Wattetupfers, der über die Kopfhaut gerieben wurde, wurde die Lösung auf die Kopfhaut aufgetragen. Nach einer Woche wurde halbseitig links eine 10^{-7} %ige Lösung aufgetragen. In wöchentlichen Abständen wurden halbseitig zunehmend höher konzentrierte Lösungen verwendet. Sobald diejenige Konzentration, die Erythem und Juckreiz für etwa 2 Tage mit zeitversetzter Schuppung verursachte, erreicht war, wurde diese Lösung weiter verwendet. Bei den wöchentlichen Wiedervorstellungen wurden die Patienten anhand eines standardisierten Bogens nach der Reaktion auf die zuletzt aufgetragene Lösung befragt. Anhand dieser Angaben wurden Konzentration, Druck des Auftragens und Anzahl der Wattetupfer variiert. Allein das halbseitige Auftragen des Kontaktallergens ermöglichte die Kontrolle zum Ausschluß einer möglichen Spontanremission. Erst nach Erreichen eines Halbseiteneffektes mit Wiederwachstum von Haaren, ausschließlich auf der behandelten Hälfte des Kapilitiums, wurde beidseitig behandelt. Sobald ein kosmetisch akzeptables Wiederwachstum erzielt worden war, wurden die Behandlungsintervalle verlängert.

3.3 Isolierung von chromosomaler DNS aus Vollblut mittels Erythrozytenlysepuffer

Zur Gewinnung von genomischer DNS aus Vollblut wurden die zellulären Bestandteile von 20 ml EDTA- oder Heparin-Blut durch Zentrifugieren bei 2000 g für 15 min sedimentiert, der Plasmaüberstand wurde verworfen. Nach Resuspension der Erythrozyten und Leukozyten mit bis zu 50 ml Erythrozytenlysepuffer (155 mM NH₄Cl, 10 mM KHCO₃, 1 mM Na₂-EDTA) erfolgte die Erythrozytenlyse bei Raumtemperatur auf einem Labormischrad für 30 min. Anschließend wurde das Leukozytenpellet durch erneutes Zentrifugieren (2000 g, 15 min) gewonnen. Nach Waschen mit PBS wurde das Präzipitat in 70%igem Ethanol zur Salzreduktion gewaschen und in TE-Puffer resuspendiert.

3.4 Isolierung von chromosomaler DNS aus Vollblut mittels QIAamp Blood Kit

200 µl EDTA- oder Heparin-Blut wurden mit 20 µl Protease und 200 µl Puffer AL gemischt und bei 56°C für 10 min inkubiert. Danach wurden 200µl Äthanol (96%) zugegeben und die Mischung wurde durch eine QIAamp-Säule zentrifugiert (1 min, 6.000 g). Danach wurde die Säule mit 500 µl Puffer AW1 bei 6.000 g für 1 min zentrifugiert, anschließend mit dem Puffer AW2 mit 20.000 g für 3 min zentrifugiert. Zuletzt wurde die Säule mit 200 µl Puffer AE bei 6.000g für 1 min zentrifugiert. Die eluierte DNS wurde bis zur weiteren Verwendung bei -20°C aufbewahrt.

3.5 Polymerasenkettreaktion von genomischer DNA

Durch die PCR (polymerase chain reaction) nach Saiki et al. 1988 (54) können Nukleotidsequenzen begrenzter Länge mittels einer DNS-Polymerase in nacheinander folgenden Zyklen exponentiell amplifiziert werden.

Die als Matrize verwendete DNS, ungefähr 0,5-1 µl genomische DNS, entsprechend etwa 300.000 Zielsträngen, wird zum Einzelstrang denaturiert, indem sie auf eine Temperatur von 94°C erhitzt wird, bei welcher sich die Wasserstoff-Brücken-Bindungen lösen. Nach Denaturierung der dsDNS-Matrize lagern sich die ausgewählten Oligonukleotidprimer bei Abkühlung spezifisch an die Matrize an (*annealing*). Die spezifische Bindung des im

Überschuß zugegebenen Oligonukleotidprimers erfolgt bei einer von der Sequenz des Primers abhängigen Temperatur, die sich aus der Bindungsaffinität der einzelnen Nukleotide ergibt. An diesen dsDNS-Anteilen beginnt die Synthese des Gegenstranges unter Verwendung der im Überschuß vorhandenen freien dNTPs, jeweils an dem komplementären Strang entlang (*elongation*). In diesem Schritt wird das Reaktionsgemisch auf die optimale Reaktionstemperatur der Taq-DNS-Polymerase von 72°C erwärmt. Der Zyklus von Denaturierung, Annealing und Elongation kann durch einen Wechsel der entsprechenden Temperaturen oft wiederholt werden, wobei die wachsende Anzahl der Elongations-Produkte am Ende des vorausgegangenen Zyklus als Vorlage des nächsten Annealing-Schrittes dient. Das Resultat ist eine exponentielle Anhäufung einer spezifischen DNS-Sequenz in Abhängigkeit zur Zyklenzahl. Die Reaktionszeiten der einzelnen Schritte sind von der Länge des gewünschten DNS-Fragments abhängig, wobei man bei einer DNS-Sequenz von ungefähr 750 bp Länge jeweils eine Dauer von einer Minute zur Elongation wählt. Um während dieser Reaktionszeit ein Verdampfen des Amplifikationsgemisches im Thermocycler zu verhindern, muß auf festen Sitz der Verschlusskappen der Gefäße geachtet werden.

Die Taq-DNS-Polymerase ist ein Enzym, das aus dem hitzebeständigen Bakterium *Thermus aquaticus* isoliert wurde und eine optimale Reaktionstemperatur von etwa 72°C hat. Es kann aber, ohne Schaden zu nehmen, ausreichend lange bis auf 94°C erhitzt werden und ist somit in den Amplifikationszyklen beständig.

Das Reaktionsgemisch pro 1 µl DNS enthielt 2 µl PCR-Nukleotid-Mix (40mM/Nukleotid), bestehend aus den Desoxytriphosphatnukleotiden dATP, dCTP, dGTP und dTTP, 2 µl 50mM MgCl₂, 2 µl 10fach konzentrierten Reaktionspuffer ohne Mg, Upstream- und Downstream-Primer jeweils 1,0 µl (10pmol/µl), Taq-DNS-Polymerase 0,1 µl (5U/µl) und 10,9 µl Aqua ad injectabile. Zuletzt wurden jeweils die Primer und Taq-DNS-Polymerase zugegeben. Diese Arbeitsschritte erfolgten jeweils unter Kühlung. Die PCR wurde in einem GeneAmp 9700 Thermocycler durchgeführt. Das Protokoll des Thermocyclers war wie folgt programmiert: 95°C für 5 min zur *Denaturierung*, 30 Zyklen von 95°C und 60°C für jeweils 30 sec im Wechsel für *Annealing* und *Extension*, dann 72°C für 10 min, schließlich 4°C bis zur Entnahme des Amplifikates aus dem Thermocycler.

3.6 Enzymatische Spaltung der PCR-Amplifikate durch Restriktionsendonukleasen

Zur spezifischen Spaltung von dsDNS wurden Typ-II-Restriktionsendonukleasen verwendet, welche je nach Spezifität eine charakteristische DNS-Erkennungssequenz spalten können. Die Aktivität der Restriktionsendonukleasen ist in der Einheit U (Unit) definiert: 1 U verdaut 1 µg DNS innerhalb einer Stunde. Die optimalen Reaktionstemperaturen (20°C bis 72°C) und Reaktionsbedingungen sind bestimmt durch die Lebensbedingungen der Bakterien, aus denen die Restriktionsendonukleasen gewonnen werden. Der Verdau von DNS mit einem oder mehreren Restriktionsenzymen erfolgte jeweils in einem dem Reaktionsoptimum des Enzyms angepassten Puffersystem und unter den günstigsten Temperaturbedingungen. Pro 1 µg DNS wurden 2 Enzymeinheiten (U) eingesetzt.

3.7 Gelelektrophorese der Nukleinsäurefragmente

Anschließend erfolgte die Analyse des Restriktionsendonukleasen-Verdaus mittels Gelelektrophorese auf einem Agarosegel. Die Gelelektrophorese ist die Standardmethode zur Auftrennung und Darstellung von Fragmenten der Nukleinsäuren. Die Fragmente wandern entsprechend ihrer Länge, das heißt der Anzahl ihrer Basenpaare, in der mobilen Phase gelöst durch das Gel. Die Wanderungsgeschwindigkeit der Fragmente ist dabei proportional zum Logarithmus ihrer jeweiligen Molmasse. Die Lokalisation der Nukleinsäuren im Gel wurde direkt durch eine Färbung mit dem interkalierenden Farbstoff Ethidiumbromid mit einem UV-Transilluminator bestimmt.

Die Auswertung des Restriktionsmusters erfolgte im Vergleich zu einem definierten Marker (1-kb-Leiter) oder aber an Hand von Restriktionsmustern bekannter Sequenzen. Die Auftrennung von DNS wurde mit der horizontalen Gelelektrophorese mit 2,0%igen Agarosegelen vorgenommen. Die Agarose wurde in einem Mikrowellenofen mit 1xTBE 100 ml Laufpuffer aufgeköcht, dann in eine Horizontalgelkammer eingegossen und erstarrte dort, nachdem ein Kamm eingesetzt worden war, der die Taschen zur späteren Aufnahme der Nukleinsäure-Fragmente freihielt. Der Farbstoff Ethidiumbromid wurde in Gel und Laufpuffer zugegeben (0,1 µg/ml). Als mobile Phase wurde 1xTBE-Puffer verwendet. Die Elektrophorese erfolgte bei einer Spannung von etwa 70 V. Danach wurde die DNS mit UV-Strahlung von 260nm Wellenlänge photographisch dargestellt, nachdem der Bildausschnitt

zuvor ohne UV-Bestrahlung festgelegt worden war. Durch Bestrahlung mit UV-Licht wurde die Fluoreszenz des Ethidiumbromids angeregt und die DNA sichtbar gemacht.

3.8 Statistische Methoden

3.8.1 χ^2 -Unabhängigkeitstest

χ^2 -Unabhängigkeitstests überprüfen, ob zweidimensionale Stichproben bezüglich einer Variablen unabhängig sind. Beide Stichproben waren binomial verteilt. Als Signifikanzniveau p wurde 0,05 gewählt. Hochsignifikanz war gegeben ab 0,01, ein Trend galt als gegeben unter 0,1. Dieser Test wurde für die Überprüfung der Abhängigkeit der folgenden klinischen Variablen benutzt: Vorkommen von Remission, Thyreoiditis Hashimoto, positive Familienanamnese, Nagelveränderungen von Typ der Alopecia areata und Erfolg der topischen Immuntherapie. Ferner wurde damit untersucht, ob sich die Ausprägung der Allele des IL-6 Promotor-Polymorphismus von der Normalbevölkerung unterschied.

3.8.2 Kruskal-Wallis-Test

Der Kruskal-Wallis-Test ist ein nichtparametrischer Mehr-Stichproben-Test für unverbundene Stichproben (H-Test). Die typische Problemstellung für diesen Test ist die Prüfung der Verteilungsfunktionen F einer Zielgröße in Abhängigkeit mehrerer Einflußgrößen. Mit diesem Test wurde überprüft, ob zwischen der Erkrankungsdauer oder dem Erkrankungsalter und dem Typ der Alopecia areata eine Abhängigkeit besteht.

3.8.3 t-Test

Mit einem t-Test wurde überprüft, ob die Erkrankungsdauer oder das Erkrankungsalter Einfluß auf den Behandlungserfolg haben, zwischen den Variablen Erkrankungsdauer und Behandlungserfolg oder Erkrankungsalter und Behandlungserfolg also eine Assoziation

besteht. Praktisch wurde dabei geprüft, ob der Korrelationskoeffizient p von Null signifikant verschieden ist.

Vor Anwendung des t-Tests mußte zunächst überprüft werden, ob die beiden untersuchten Stichproben Erkrankungsalter als auch Erkrankungsdauer einer Normalverteilung genügten, die beiden Stichproben also aus einer Grundgesamtheit mit bekannter Wahrscheinlichkeitsfunktion $F_0(x)$ stammten. Hierzu wurde ein Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest gewählt.

3.9 Standardisierte Dokumentation

Die Dokumentation wurde auf standardisierten Bögen nach einem schriftlichen Einverständnis der Patienten vorgenommen. Dies galt sowohl für die Erhebung von Patientenvariablen als auch für den Therapieverlauf (Anhang 1.1-1.4).

3.9.1 Erhebung von Patientenvariablen

Vor Beginn der Therapie wurden die Patienten in einem ausführlichen Aufklärungsgespräch beraten. Dabei wurde das Patienten-Dokumentationsblatt von ärztlicher Seite ausgefüllt (Anhang 1.1).

3.9.2 Dokumentation der Therapie

Im Rahmen der wöchentlichen Wiedervorstellungen gaben die Patienten die Reaktion auf die vorhergehende Behandlung an. Ausgehend von der zuletzt verwendeten Konzentration an DCP wurde anhand dieser Angaben die neu aufzutragende Konzentration bestimmt (Anhang 1.2).

3.9.3 Einwilligungserklärung in die topische Immuntherapie

Vor Aufnahme der Therapie wurde im Rahmen des Aufklärungsgesprächs auf die Ekzemreaktion und die möglichen unerwünschten Wirkungen hingewiesen. Es wurde überprüft, ob die festgelegten Einschlusskriterien erfüllt waren. Die Patienten mußten mit Unterschrift versichern, seit wenigstens 6 Monaten erkrankt zu sein, bei weiblichen Patienten auch, daß aktuell keine Schwangerschaft und kein Kinderwunsch bestand. Dies wurde auf einem Einverständnisbogen festgehalten (Anhang 1.3).

4. Ergebnisse

4.1 Patienten

Von Mai 1999 bis September 2002 wurden an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Ludwig-Maximilians-Universität München insgesamt 97 Patienten mit Alopecia areata mit topischer Immuntherapie mit Diphenylcyclopropenon neu behandelt.

4.1.1 Gesamtzahlen der eingeschlossenen Patienten

Zum September 2002, dem Auswertepunkt dieser Arbeit, waren 86 Patienten abschließend behandelt worden. Sowohl die Untersuchung der Abhängigkeiten des Typs der Alopecia areata von Patientenvariablen als auch der Abhängigkeit des Erfolgs der topischen Immuntherapie und auch des IL6-Promotor-Polymorphismus erfolgten an diesem Kollektiv.

4.1.2 Altersverteilung der Patienten

Zum Zeitpunkt des Therapiebeginns waren die 86 Patienten zwischen 14 und 69 Jahren alt, im Durchschnitt 35,94 Jahre.

4.1.3 Einschlußkriterien und Patientenvariablen

Eingangsvoraussetzungen waren wenigstens 30% kahle Fläche am Kapillitium, Bestandsdauer von mindestens 6 Wochen, vollendetes 18. Lebensjahr, bei weiblichen Patienten Ausschluß einer Schwangerschaft und kein aktueller Kinderwunsch. Die Patienten mußten die Erfüllung dieser Einschlußkriterien schriftlich bestätigen. 30% kahle Fläche am Kapillitium wurde festgesetzt, um eine genaue Erfolgskontrolle mittels klinischer Untersuchung mit wöchentlicher Dokumentation auf standardisierten Auswertebögen seitens des Behandlers zu ermöglichen und um von einer ausreichenden Compliance der Patienten ausgehen zu können, eine lange andauernde Therapie zu akzeptieren. Eine wöchentliche

Wiedervorstellung in der Klinik und zu erwartende Nebenwirkungen wie Juckreiz, Rötung und Schuppung am Kapillitium für 2 bis 3 Tage im Anschluß an die Behandlung setzten einen entsprechenden Leidensdruck für eine konsequente Durchführung der DCP-Behandlung voraus.

4.1.4 Häufigkeit der einzelnen Verteilungstypen der Alopecia areata

Die Verteilung der Typen der Alopecia areata ist in der untenstehenden Tabelle zusammengefaßt (Tabelle 1.1). Bei den Patienten mit Mono-, Oligo- und Multilocularis-Typ betrug das kahle Areal an der Kopfhaut durchschnittlich 40,1%. Bei 4 Patienten war der Typ zum Zeitpunkt der Auswertung nicht mehr exakt bestimmbar, so daß sie keinem Verteilungstyp zugeordnet wurden.

Tabelle 1.1: Häufigkeit der einzelnen Verteilungstypen der Alopecia areata

Verteilungstyp	Anzahl	(Prozent)
Alopecia areata mono-, oligo-, multilocularis	46	(53,5%)
Alopecia areata totalis oder fere totalis	15	(17,4%)
Alopecia areata universalis oder fere universalis	21	(24,4%)
Nicht zuzuordnen	4	
Gesamt	86	(100%)

4.1.5 Häufigkeit von Alopecia areata in der Familie

Über ein in Familien gehäuftes Auftreten von Alopecia areata wird in der Literatur wiederholt berichtet (7, 29, 54). Sechs Patienten (7,0%) gaben an, daß ein weiteres Familienmitglied erkrankt sei. Unter diesen Patienten befand sich ein Geschwisterpaar, die beide an einer Alopecia areata multilocularis erkrankt waren.

4.1.6 Häufigkeit von Spontanremission vor DCP-Therapie

Vor Beginn der Therapie wurden die Patienten nach dem bisherigen Verlauf der Erkrankung befragt. Bei 21 der 86 Patienten (24,4%) war anamnestisch vorübergehend eine Vollremission aufgetreten, bis zur Erstvorstellung hatte sich dann jedoch wieder Alopecia areata entwickelt. Bei 24 Patienten (27,9%) war vorübergehend eine Teilremission eingetreten. Bei 32 Patienten (37,2%) war der Anteil an kahler Fläche stabil ab Erstmanifestation oder kontinuierlich an Größe zunehmend (Tabelle 1.2).

Tabelle 1.2: Häufigkeit von Spontanremission vor DCP-Therapie

Remission	Anzahl	(Prozent)
Vollremission	21	(24,4%)
Teilremission	24	(27,9%)
Ohne Remission	32	(37,2%)

4.1.7 Häufigkeit von Begleiterkrankungen aus dem atopischen Formenkreis und von Autoimmunerkrankungen

Die Alopecia areata wird als eine organspezifische Autoimmunerkrankung verstanden, so daß ein gehäuftes Vorkommen anderer Autoimmunerkrankungen naheliegend ist. Einige Autoren berichten zudem von einer hohen Koinzidenz von Alopecia areata und Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis. So sollen bis zu 30% der Patienten mit Alopecia areata an

atopischem Ekzem leiden (29, 48). Diese Zusammenhänge waren im Rahmen dieser Arbeit ebenfalls eruiert worden. Anhand eines standardisierten Anamnesebogens wurde vor Aufnahme der Therapie die Koinzidenz von Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis und Autoimmunerkrankungen abgefragt.

Die Patienten wurden bezüglich Vorkommen von atopischem Ekzem, Rhinokonjunktivitis allergica und Asthma bronchiale befragt, ein Teil der Patienten zusätzlich hinsichtlich Vorliegen von Diabetes mellitus Typ 1, Thyreoiditis Hashimoto, Kollagenosen, Vitiligo und Gastritis A (Tabelle 1.3).

Unter 75 befragten Patienten war eine Thyreoiditis Hashimoto bei 7 (8,1%) diagnostiziert worden, eine Vitiligo war bei 1 Patienten (1,2%) aufgetreten. Keiner der Patienten litt an Diabetes mellitus Typ 1, einer Kollagenose oder einer Gastritis A.

Tabelle 1.3: Häufigkeit von Begleiterkrankungen aus dem atopischen Formenkreis und Autoimmunerkrankungen

Begleiterkrankungen	Anzahl (Prozent)	Häufigkeit in der Gesamtbevölkerung
Rhinokonjunktivitis allergica	12 (14,0%)	(8%)
Asthma bronchiale	1 (1,2%)	(5%)
Atopisches Ekzem	7 (8,1%)	(4%)
Thyreoiditis Hashimoto	7 (8,1%)	(5%)
Vitiligo	1 (1,2%)	(4%)
Diabetes mellitus Typ 1, Gastritis A, Kollagenose	0	(5%)

4.1.8 Häufigkeit von Nagelbeteiligung

Wiederholt war über die Mitbeteiligung der Nägel bei Alopecia areata berichtet worden (29). So sollten Nagelveränderungen dem Haarausfall um Jahre voraus gehen können und darüber hinaus auch einen Hinweis auf die Stärke des Krankheitsschubes geben (63).

Die Fingernägel der zu behandelnden Patienten wurden vor Beginn der Therapie untersucht und in folgende Nagelveränderungen eingeteilt: Trachyonychie (Sandpapiernägel), Querrillen, rote Lunulae und Tüpfel. Fünfzehn der 86 Patienten (17,4%) hatten Nagelveränderungen. 3 Patienten wiesen 2 Nagelveränderungen in Kombination auf, nämlich Querrillen mit Tüpfel, Sandpapiernägel mit Tüpfel und rote Lunulae mit Tüpfel (Tabelle 1.4).

Tabelle 1.4: Häufigkeit von Nagelveränderungen

Nagelveränderung	Anzahl	(Prozent)
Tüpfelnägel	11	(12,8%)
Trachyonychie	5	(5,8%)
Rote Lunulae	1	(1,2%)
Querrillen	1	(1,2%)
Gesamt	18	(20,9%)
	an 15 Patienten	(17,4%)

4.1.9 Durchgeführte Therapien vor der topischen Immuntherapie

Um die Wirksamkeit der DCP-Therapie im Vergleich zu anderen Therapien beurteilen zu können, befragten wir vor Therapiebeginn die Patienten nach früher durchgeführten Therapien. Einige Patienten hatten mehrere Therapien erhalten. Am häufigsten waren topische Glukortikosteroide angewandt worden, diese Therapie wurde häufig mit systemischer Gabe von Zink zu einer Kombinationstherapie erweitert. In keinem Fall hatte eine Behandlung zu einem vollständigen Wiederwachstum geführt (Tabelle 1.5).

Tabelle 1.5: Ohne komplette Remission durchgeführte Therapieverfahren vor topischer Immuntherapie mit DCP

	Therapie	Anzahl	(Prozent)
Topische Therapie	Glukokortikosteroide, topisch	42	(48,8%)
	Cignolin	2	(2,3%)
Systemische Therapie	Zink	29	(33,7%)
	Glukokortikosteroide	10	(11,6%)
	Dapson	6	(7,0%)
Kombinationen	Glukokortikosteroide, topisch und Zink systemisch	20	(23,3%)
Lichttherapie	UVA-Bestrahlung mit Psoralen topisch	4	(4,7%)
Sonstige Therapien	Kryo-Therapie	2	(2,3%)

4.2 Überprüfung von Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und den einzelnen Patientenvariablen

Um zu prüfen, ob zweidimensionale Stichproben bezüglich einer Variablen unabhängig sind, wurden χ^2 -Unabhängigkeitstests und ferner Kruskal-Wallis-Tests durchgeführt. Die einzelnen Typen der Alopecia areata wurden zusammengefasst in 2 Gruppen zu Universalis-, einschließlich Totalis-Form und weiterhin zu Multilocularis-, einschließlich Ophiasis-Form.

4.2.1 Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und positiver Familienanamnese

Es wurde die Abhängigkeit des Typs der Alopecia areata von positiver oder negativer Familienanamnese überprüft. Bei einer Gesamtzahl (N) von 75, einem Wert von $\chi^2=2,86$, Freiheitsgrad (F.G.)=2 ergab sich ein Wert für $p<0,24$. Dies bedeutet, es besteht keine Abhängigkeit zwischen Typ und Familienanamnese.

4.2.2 Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und anamnestischer Spontanremission

Bei $N=77$, $\chi^2=4,57$, F.G.=4 ergab sich ein Wert für $p<0,34$, keine Abhängigkeit zwischen Auftreten von Spontanremissionen in der Anamnese und Typ der Alopecia areata.

4.2.3 Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und Thyreoiditis-Hashimoto

Bei $N=75$, $\chi^2=4,39$, F.G.= 2 ergab sich mit einem Wert für $p<0,12$, keine Assoziation zwischen Typ der Alopecia areata und Auftreten einer Thyreoiditis Hashimoto, welche mit 7 Patienten (8,1%) die am häufigsten vorliegende Autoimmunerkrankung war.

4.2.4 Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und Nagelveränderungen

Alle bei Behandlungsbeginn vorhandenen Nagelveränderungen wurden zusammengefaßt ausgewertet. Bei $N=69$, $\chi^2=7,41$, F.G.=2 ergab sich ein Wert für $p<0,05$. Nagelveränderungen sind abhängig vom Typ der Alopecia areata, sie traten zu 33,3% bei Multilocularis-, einschließlich Ophiasis-Typ, jedoch zu 66,6% bei Totalis- und Universalis-Typ auf (Tabelle 2.1).

Tabelle 2.1: Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und Nagelveränderungen

		Typ			Summen
		Multilocularis und Ophiasis	Totalis	Universalis	
Keine Nagelveränderungen	Häufigkeit	33 (61,1%)	11 (20,4%)	10 (18,5%)	54 (100,0%)
	%	86,8	84,6	55,6	
Nagelveränderungen	Häufigkeit	5 (33,3%)	2 (13,3%)	8 (53,3%)	15 (100,0%)
	%	13,2	15,4	44,4	
Gesamt		38 (55,1%)	13 (18,8%)	18 (26,1%)	69 (100,0%)

4.2.5 Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und Erkrankungsalter

Mit dem Kruskal-Wallis-Test, einem parameterfreien Prüfverfahren für mehrere unverbundene Stichproben, wurde untersucht, ob zwischen Erkrankungsalter und Typ der Alopecia areata eine Abhängigkeit besteht. Bei $N=71$, $H=4,89$, F.G.=2 ergab sich $p<0,1$. Dies bedeutet einen Trend, daß Totalis- und Universalis-Erkrankungen früher auftreten als der Multilocularis-, einschließlich Ophiasis-Typ.

4.2.6 Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und Erkrankungsdauer

Mit dem identischen Test-Verfahren wurde untersucht, ob eine Abhängigkeit zwischen Dauer der Erkrankung bis Therapiebeginn und Typ der Alopecia areata besteht. Bei $N=75$, $H=4,21$, $F.G.=2$ ergab sich $p<0,2$. Es besteht keine Abhängigkeit zwischen Dauer der Erkrankung und Typ der Alopecia areata.

4.2.7 Abhängigkeit von Typ und Ausprägung des IL-6-Promotor-Polymorphismus

Mit einem χ^2 -Anpassungstest wurde überprüft, ob sich die Verteilung der Genotypen bei den Patienten signifikant von der Verteilung der Genotypen in der gesunden Bevölkerung unterscheidet. Die Kontrollgruppe wurde einer Veröffentlichung von Schlüter et al. entnommen (55). Die dort verwendeten Kontrollen waren Kaukasier. Die Untersuchung war in Deutschland durchgeführt worden. Die Kontrollgruppe wurde deshalb als am besten passend ausgewählt (Tabelle 2.2).

Tabelle 2.2: Verteilung der Genotypen des IL-6-Promotor-Polymorphismus bei gesunden Individuen nach Schlüter et al. 2002 (55)

	Genotyp			Gesamt
	GG	GC	CC	
Gesunde Individuen (%)	71 (34,3%)	94 (45,4%)	42 (20,3%)	207 (100,0%)

Zunächst wurde das Vorkommen der Genotypen mit dem Vorkommen in der Kontrollgruppe verglichen. Bei $\chi^2=1,68$, $F.G.=2$ ergab sich $p<0,44$. Die Verteilung unterscheidet sich hiermit nicht von der Verteilung in der gesunden Bevölkerung. Von 40 Patienten, die in diese Untersuchung eingeschlossen wurden, hatten 19 Patienten den Genotyp GG, 16 GC und 5 CC (Tabelle 2.3). Der Polymorphismus war bestimmt worden an 25 Patienten mit Multilocularis-Typ, 6 mit Totalis- und 9 mit Universalis-Typ. In einem weiteren Schritt wurde

die Verteilung der Genotypen auf Abhängigkeit vom Typ der Alopecia areata überprüft. Bei $\chi^2=17,18$, F.G.=4 ergab sich ein $p<0,05$. Patienten mit dem Genotyp GG wiesen in 73,68% einen Multilocularis-Typ auf, Patienten mit dem Genotyp CC wiesen in 80,0% einen Universalis-Typ auf. Diese Abhängigkeit gilt zum Zeitpunkt der Auswertung eingeschränkt, da in einer Gruppe die erwartete Häufigkeit <1 ist. Um die Abhängigkeit uneingeschränkt als gültig anzuerkennen, müssen noch weitere Patienten ausgewertet werden (Tabelle 2.3).

Tabelle 2.3: Abhängigkeit von Typ der Alopecia areata und Genotyp-Verteilung des IL-6-Promotor-Polymorphismus

		Gesamt	Typ		
			Multilocularis und Ophiasis	Totalis	Universalis
Gesamt		40 (100,0%)	25 (62,5%)	6 (15,0%)	9 (22,5%)
Genotyp CC	Häufigkeit	5 (100,0%)	1 (20,0%)	0 (0%)	4 (80,0%)
	%		4	0	44,4
Genotyp GC	Häufigkeit	16 (100,0%)	10 (62,5%)	1 (6,3%)	5 (31,3%)
	%		40	16,7	55,6
Genotyp GG	Häufigkeit	19 (100,0%)	14 (73,7%)	5 (26,3%)	0 (0%)
	%		56	83,3	0

4.3 Evaluierung des Gesamterfolges der Therapie mit DCP bei 86 Patienten mit Alopecia areata

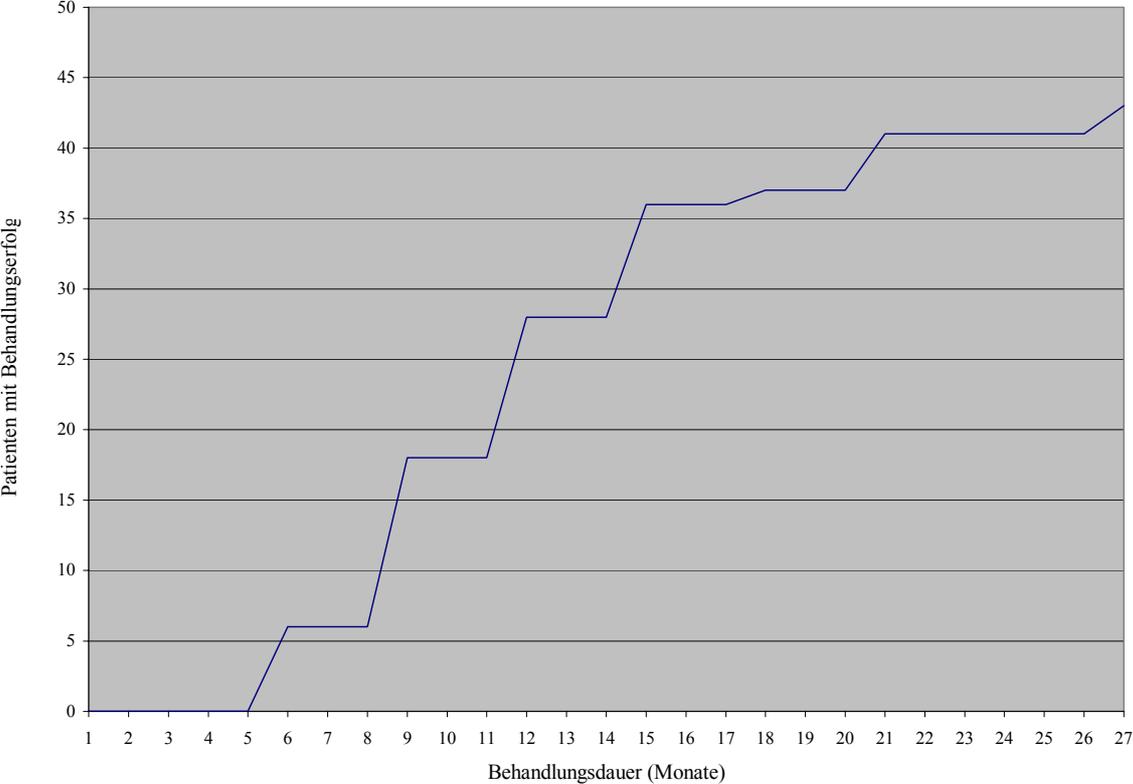
Alle Patienten zeigten auf DCP ein Kontaktekzem mit Erythem, Schuppung und Juckreiz. Die Sensibilisierung auf DCP war also bei allen Patienten erfolgreich. Um sich einstellendes Wiederwachstum von Haaren eindeutig als Effekt der topischen Immuntherapie und nicht etwa einer Spontanremission werten zu können, wurden zunächst lediglich die links paramedian gelegenen kahlen Areale des Kapillitiums behandelt. Bei flächigem Wiederwachstum von kräftigen Terminalhaaren, ausschließlich auf dem behandelten Areal war der Wirksamkeitsnachweis der Therapie an dem jeweiligen Patienten erbracht. Zudem gibt der positive Halbseiteneffekt per Definition auch Aufschluß über die Intensität des Wiederwachstums: Ausschließlich Wiederwachstum von Terminalhaaren, also nicht Flaumhaaren, auf dem gesamten behandelten Areal. Diese Veränderungen wurden fotografiert. Die Behandlung der rechts paramedian gelegenen kahlen Areale wurde daraufhin begonnen.

Jeder Patient wurde wenigstens über einen Zeitraum von 9 Monaten behandelt, mit Ausnahme derjenigen, die die Therapie vorzeitig abbrachen. Bei Ansprechen der Therapie im Sinne eines Halbseiteneffekts wurden die Patienten darüber hinaus weiter behandelt, bis sich Vollseitenerfolg eingestellt hatte oder die Patienten die Therapie abbrachen. Zum Auswertepunkt waren 86 Patienten abschließend behandelt worden. Bei 11 wurde die Therapie noch fortgeführt. Von diesen 11 Patienten hatten 4 bereits einen Halbseiteneffekt erzielt, bei 7 wurde noch ausschließlich das links paramedian gelegene Areal behandelt. Von 86 Patienten mit abgeschlossener Therapie stellte sich bei 31 Patienten (36,0%) nach 9 monatiger Behandlungsdauer kein Wiederwachstum im Sinne eines Halbseiteneffekts ein. Die Behandlung wurde daraufhin abgebrochen.

Dagegen stellte sich ein Halbseiteneffekt bei 55 Patienten (64,0%) ein. Bei 13 (15,1%) wurde die Therapie nach Erreichen des Halbseiteneffekts abgebrochen. Dies war abhängig von der Bereitschaft der Patienten, sich wöchentlich in der Klinik vorzustellen und die oftmals nicht angenehmen Begleitreaktionen in Kauf zu nehmen. Die mittlere Zeitdauer bis zum Erreichen eines Halbseiteneffektes betrug 24,15 Wochen.

Ein vollständiges Wiederwachstum stellte sich bei 43 Patienten (50,0%) ein. Innerhalb von 3 Monaten wurde dies bei keinem Patienten beobachtet (Abbildung 3.1). Die mittlere Zeitdauer bis zum Erreichen eines Vollseiteneffekts betrug 47,10 Wochen. Die mittlere Zeitdauer bis zum Erreichen eines Halbseiteneffekts bei diesen Patienten betrug 20,67 Wochen.

Abbildung 3.1: Behandlungserfolg bei allen Patienten mit Alopecia areata nach unterschiedlicher Therapiedauer



Behandlungserfolg als vollständiges Wiederwachstum. Behandlungsdauer skaliert auf Intervalle von 3 Monaten

4.4 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und anamnestischen und klinischen Kriterien

Analog zur Untersuchung von Abhängigkeit von Typ und Patientenvariablen wurden auch hier χ^2 -Unabhängigkeitstests durchgeführt, um zu prüfen, ob die zweidimensionalen Stichproben bezüglich der Variablen unabhängig sind.

4.4.1 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und positiver Familienanamnese

Bei N=75, $\chi^2=0,56$, F.G.=1 ergab sich $p<0,46$. Dies bedeutet, daß der Erfolg der Behandlung unabhängig davon ist, ob ein weiteres Familienmitglied erkrankt ist, was bei 6 (8%) der Fall war.

4.4.2 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und anamnestischer Spontanremission

Bei N=77, $\chi^2=2,89$, F.G.=2 ergab sich $p<0,24$. Dies bedeutet, der Behandlungserfolg ist nicht davon abhängig, ob die Patienten anamnestisch seit Krankheitsbeginn eine Teil- oder Vollremission oder auch keine Remission hatten.

4.4.3 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Thyreoiditis Hashimoto

Bei N=75, $\chi^2=0,045$, F.G.=1 ergab sich $p<0,84$. Dies bedeutet, der Behandlungserfolg ist nicht davon abhängig, ob eine Thyreoiditis Hashimoto vorliegt, welche bei 7 Patienten (9,33%) die am häufigsten angegebene Autoimmunerkrankung war.

4.4.4 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Nagelveränderungen

Alle bei Behandlungsbeginn vorgelegenen Nagelveränderungen wurden zusammengefasst ausgewertet. Solche lagen bei 15 Patienten vor. Bei N=69, $\chi^2=1,61$, F.G.=1 ergab sich $p<0,21$.

Der Behandlungserfolg ist demgemäß nicht davon abhängig, ob Nagelveränderungen bei Therapiebeginn vorlagen oder nicht.

4.4.5 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Erkrankungsalter

Mit dem identischen Testverfahren wurde überprüft, ob das Erkrankungsalter einen Einfluß auf den Behandlungserfolg hat. Auch hier durfte ein parametrischer t-Test verwendet werden. Bei N=71, T=-4,61, F.G.=69 ergab sich $P < 0,01$. Die Aussicht auf Erfolg ist hoch signifikant geringer, je früher die Erkrankung einsetzt.

4.4.6 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Erkrankungsdauer

Mit einem t-Test wurde überprüft, ob die Erkrankungsdauer in Monaten, zum Zeitpunkt des Beginns der DCP-Therapie, einen Einfluß auf den Behandlungserfolg hat. Ein parametrischer t-Test durfte verwendet werden, weil die Erkrankungsdauer einer Normalverteilung genügte (Kolmogorov-Smirnov-Test). Bei N=75, T=3,12 F.G.=67,8 ergab sich $p < 0,05$. Dies bedeutet, mit zunehmender Erkrankungsdauer nimmt die Wahrscheinlichkeit eines Erfolges der DCP-Therapie signifikant ab.

4.4.7 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Typ der Alopecia areata

Bei N=82, $\chi^2=11,65$, F.G.=2 ergab sich $p < 0,05$. Dies bedeutet, daß der Behandlungserfolg abhängig von dem bei Therapiebeginn vorliegenden Typ der Alopecia areata ist. Die Wahrscheinlichkeit eines Behandlungserfolges ist signifikant größer, wenn eine Alopecia areata multilocularis oder ophiasis vorliegt, und nicht ein Totalis- oder Universalis-Typ (Tabelle 3.2).

Tabelle 3.1: Abhängigkeit von Behandlungserfolg der DCP-Therapie und Typ der Alopecia areata

		Gesamt	Typ		
			Multilocularis und Ophiasis	Totalis	Universalis
Gesamt		82 (100,0%)	46 (56,1%)	21 (25,6%)	15 (18,3%)
Behandlungserfolg	Häufigkeit	40 (100,0%)	30 (75,0%)	5 (12,5%)	5 (12,5%)
			65,2%	23,8%	33,3%
Kein Behandlungserfolg	Häufigkeit	42 (100,0%)	16 (38,1%)	16 (38,1%)	10 (23,8%)
			34,8%	79,2%	66,7%

4.4.8 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und IL-6-Promotor-Polymorphismus

Bei 43 Patienten, die Behandlungserfolg erzielt hatten, wurde überprüft, ob eine Abhängigkeit vom IL-6 Promotor-Polymorphismus besteht. Bei $\chi^2=1,43$, F.G.=2 ergab sich $p<0,49$. Der Behandlungserfolg ist nicht davon abhängig ob der GG, GC oder CC Genotyp vorliegt.

4.5 Wahrscheinlichkeit von Erfolg der DCP-Therapie im Verlauf der Therapie

Über die Wahrscheinlichkeit, im Laufe der langdauerenden und mit rezidivierenden Begleitwirkungen einhergehenden Behandlung tatsächlich auch Erfolg zu erzielen, lagen bisher nur wenige Daten vor. Hier sollte untersucht werden, wann im Verlauf der Therapie ein Erfolg, in Abhängigkeit des Ausgangstyps zu erwarten ist.

4.5.1 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Behandlungsdauer

Von 86 Patienten konnte bei 43 Patienten ein Erfolg erzielt werden, bei 43 Patienten nicht. Diese Patienten hatten entweder die Therapie nach Erreichen eines Halbseiteneffekts abgebrochen oder keinen Halbseitenerfolg erzielt. Auf der Ordinate ist die Anzahl der Patienten mit Behandlungserfolg aufgetragen, auf der Abszisse die Behandlungsdauer in Monaten. Die Behandlungsdauer wurde auf Intervalle von 3 Monaten skaliert (Tabelle 3.2, Abbildung 3.1).

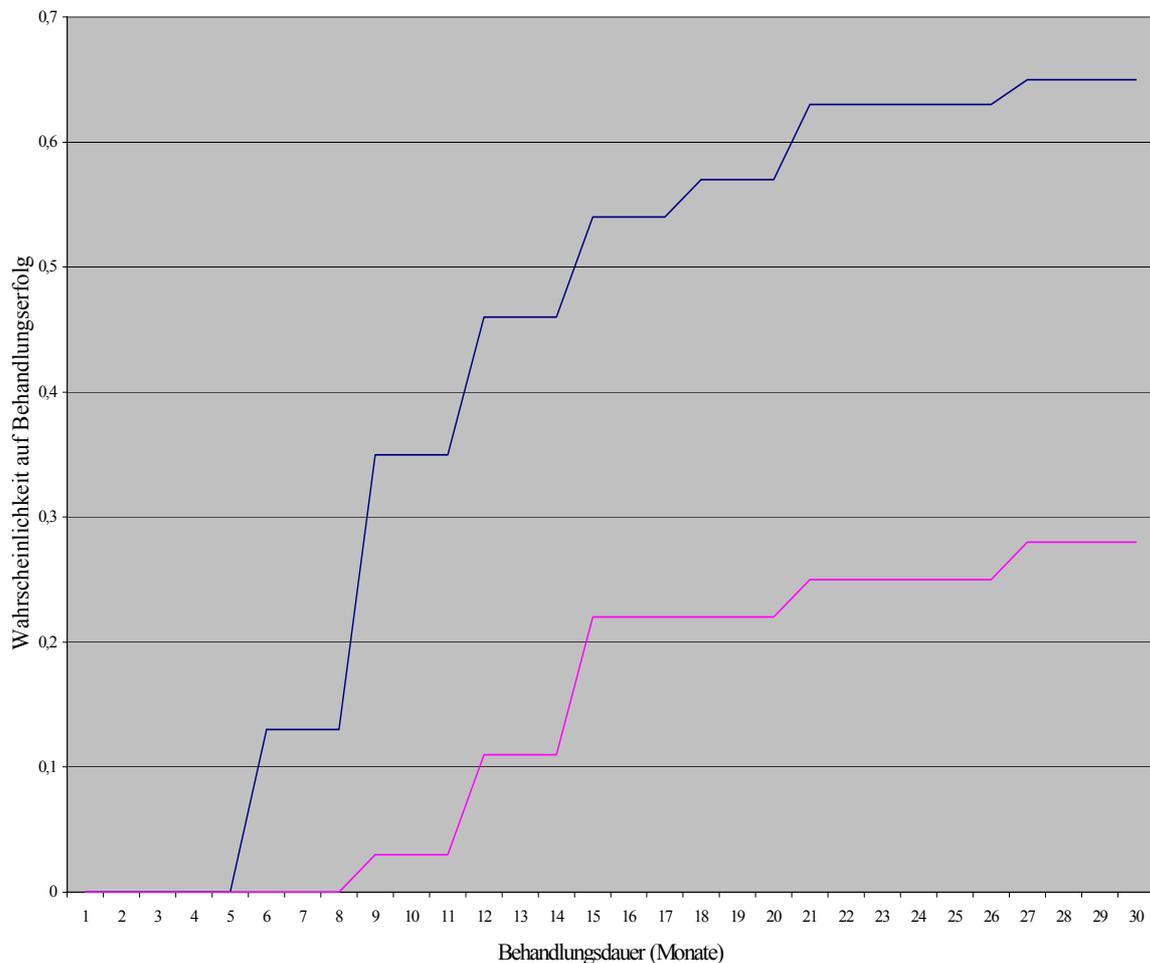
Tabelle 3.2: Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Behandlungsdauer

Dauer der Behandlung (Monate)	Anzahl Patienten mit Behandlungserfolg	Anzahl Patienten ohne Behandlungserfolg	Wahrscheinlichkeit von Behandlungserfolg
6	6	80	0,07 (7%)
9	12	68	0,21(21%)
12	10	58	0,34(34%)
15	8	50	0,42(42%)
18	1	49	0,43(43%)
21	4	45	0,48(48%)
27	2	43	0,50(50%)

4.5.2 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Typ der Alopecia areata

Um die Wahrscheinlichkeit, im Verlauf der Therapie in Abhängigkeit vom Typ der Alopecia areata Erfolg zu erzielen, zu ermitteln, wurde eine Kaplan-Meier-Analyse angefertigt. Bei $N=82$, $\chi^2=11,65$, F.G.=2 ergab sich ein $p<0,05$. Dies bedeutet, daß der Behandlungserfolg abhängig von dem bei Therapiebeginn vorliegenden Typ der Alopecia areata ist. Die Wahrscheinlichkeit der Patienten auf einen Erfolg ist signifikant größer, wenn ein Multilocularis-Typ oder Ophiasis-Typ vorliegt, aber kein Totalis-Typ oder Universalis-Typ (Abbildung 3.2).

Abbildung 3.2: Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Typ der Alopecia areata



Behandlungserfolg als vollständiges Wiederwachstum, Behandlungsdauer skaliert auf Intervalle von 3 Monaten. Blau: Multilobularis-Typ und Ophiasis-Typ. Rot: Totalis-Typ und Universalis-Typ

4.6 Unerwünschte Wirkungen der DCP-Therapie

Die topische Immuntherapie der Alopecia areata mit DCP verursacht ein Kontaktekzem auf dem behandelten Areal. Juckreiz, Rötung und Schuppung traten regelmäßig nach jeder Behandlung auf, sobald die für den jeweiligen Patienten passende Konzentration bestimmt war. Die Dauer des Ekzems variierte entsprechend der Konzentration der verwendeten Lösung, dem Druck des Auftragens mit dem Wattetupfer, der Anzahl der Wattetupfer und der individuellen Reaktivität.

Lymphknotenschwellungen traten regelmäßig, entsprechend der Stärke des Ekzems auf. Die Dauer der Schwellung entsprach jeweils der Dauer des Ekzems.

Bei insgesamt 3 Patienten kam es im Anschluß an die Sensibilisierung zu Blasen an der Kopfhaut, die mit topischen Glukokortikosteroiden der Klasse 3 und bei Nässen mit entsprechenden Verbänden behandelt wurden. Die Abheilung erfolgte jeweils komplikationslos. In keinem Fall mußte die Therapie aufgrund von unerwünschten Wirkungen abgebrochen werden.

5. Diskussion

5.1 Alopecia areata und Spontanremission

Der Verlauf der Alopecia areata ist häufig nicht vorhersehbar, ein spontanes Wiederwachstum von Haaren ist häufig. Vor allem bei geringen Ausprägungsgraden ist eine Teil- oder Vollremission die Regel. Dies erschwert die Überprüfung der Wirksamkeit einer Therapie außerordentlich, da ein spontanes Wiederwachstum von einem therapeutischen Erfolg nicht zu unterscheiden ist. Deshalb ist die Durchführung des Halbseitenversuchs bei der DCP-Therapie unerlässlich, um die tatsächliche Wirkung der Therapie von unwirksamen Methoden unterscheiden zu können. Gleichzeitig muß bei wirksamen Therapien eine ausreichend dimensionierte kontrollierte Studie angewandt werden, um unterscheiden zu können, ob lediglich eine spontane Remission angestoßen wird, oder aber das Wiederwachstum allein auf die Therapie zurückzuführen ist. Dies ist bei vielen Berichten von erfolgreicher Behandlung der Alopecia areata jedoch aufgrund zu geringer Fallzahlen nicht gegeben (2, 28). In der vorliegenden Arbeit zeigte sich keine signifikante Abhängigkeit von Auftreten von Remissionen in der Anamnese und Auftreten von Behandlungserfolg unter DCP. Dies besagt, daß der Behandlungserfolg der DCP-Therapie unabhängig von einer anamnestisch bekannten Remission eintritt, und bestätigt den ursächlichen Zusammenhang von topischer Immuntherapie und Wiederwachstum. Auch der Typ der Alopecia areata ist unabhängig vom Auftreten von Remissionen in der Anamnese.

5.2 Alopecia areata und Begleiterkrankungen aus dem atopischen Formenkreis

Zu Erkrankungen des atopischen Formenkreises war eine klinische Assoziation für Alopecia areata beschrieben worden (29). Bei Atopie liegt eine genetisch determinierte multifaktorielle Störung der zellulären und humoralen Immunität mit Sekretion von spezifischen IgE-Antikörpern vor. Nach früheren Publikationen sollen ungefähr 30% der Patienten mit Alopecia areata an einem atopischen Ekzem leiden. Diese Inzidenz ist gegenüber der Normalbevölkerung signifikant erhöht (48). Im Rahmen der Anamnese und klinischen Untersuchung bei Behandlungsbeginn gaben 13 Patienten (14,94%) an, an einer Rhinokonjunktivitis allergica zu leiden; bei einer Patientin war im Verlauf ein allergisches

Asthma entstanden. Bei 8 Patienten (9,20%) lag ein atopisches Ekzem vor. Die in der Literatur angegebenen hohen Assoziationen konnten somit nicht bestätigt werden. Dies könnte möglicherweise in der Definition von atopischem Ekzem und seinen Minimalformen oder aber in den unterschiedlich definierten Kollektiven mit Alopecia areata unter 30% Ausfall der Kopfbehaarung oder der ethnischen Herkunft der Kollektive begründet sein.

5.3 Alopecia areata und assoziierte Autoimmunerkrankungen

Obwohl die eigentliche Ursache der Alopecia areata einstweilen unbekannt bleibt, gibt es mehrere Hinweise dafür, daß der Alopecia areata eine Autoimmunpathogenese zugrunde liegt. So finden sich bei vielen Patienten Autoimmunantikörper gegen Muskelzellen (unpublizierte Beobachtung des immunologischen Labors der Klinik für Dermatologie der LMU München, PD Dr. Messer).

Das gemeinsame Auftreten mit gesicherten anderen Autoimmunerkrankungen ist beobachtet worden, wie zum Beispiel im Rahmen eines Autoimmun-Polyendokrinopathie-Syndroms (9, 40, 69). So fand sich bei Verwandten ersten Grades von Patienten mit Alopecia areata ein erhöhtes Risiko, an Insulin-abhängigem Diabetes mellitus (Typ I) zu erkranken, während eine manifeste Alopecia areata selbst dieses Risiko paradoxerweise vermindern soll (77). Diese Assoziation unterstreicht die Vermutung, daß auch der Alopecia areata eine Autoimmun-Ätiopathogenese zugrundeliegt (29, 32, 76). Vor diesem Hintergrund wurden Autoimmunerkrankungen an diesem Kollektiv erfasst. Von 87 Patienten war bei 7 (10,34%) eine Thyreoiditis Hashimoto bekannt, eine Vitiligo war bei 2 (2,3%) aufgetreten. Die Patienten waren weiterhin auf Vorliegen von Diabetes mellitus Typ 1, Kollagenosen und Gastritis A befragt worden. Bei keinem Patienten war eine dieser Erkrankungen bekannt. Es zeigte sich bei den Patienten weder eine Abhängigkeit des Typs der Alopecia areata von Autoimmunerkrankungen, noch des Behandlungserfolges der DCP-Therapie von diesen Erkrankungen.

5.4 Alopecia areata und Nagelbeteiligung

Über Nagelveränderungen bei Alopecia areata ist wiederholt berichtet worden. Es wird beschrieben, daß zahlreiche Autoren in roten Lunulae, Sandpapiernägeln und Grübchen einen nicht nur diagnostischen Wert, sondern auch einen Hinweis auf die Stärke des Krankheitsschubes sehen (16, 30). Um dies zu überprüfen, wurden bei Therapiebeginn die Fingernägel bei insgesamt 69 Patienten untersucht. Alle bei Behandlungsbeginn vorhandenen Nagelveränderungen wurden zusammengefasst ausgewertet und in Bezug gesetzt zu Multilocularis-, einschließlich Ophiasis-Typ oder Totalis- oder Universalis-Typ. Fünfzehn der Patienten wiesen Nagelveränderungen auf. Nagelveränderungen sind bei $p < 0,05$ abhängig vom Typ der Alopecia areata, sie traten zu 33,33% bei Multilocularis-Formen, jedoch zu 66,66% bei Totalis und Universalis-Formen auf. Die bisher nur auf klinischen Erfahrungen beruhende Vermutung eines Bezuges zu Ausprägung der Erkrankung wurde hiermit belegt. Die bei Alopecia areata vorliegenden Nagelveränderungen sind histologisch nicht charakteristisch. Das histologische Bild ist von dem einer Neurodermitis diffusa, einer 20-Nägel-Dystrophie oder anderen schweren Nageldystrophien nicht zu unterscheiden. Einer Trachyonychie können die Nagelveränderungen bei Alopecia areata durch massive Tüpfelung in Verbindung mit zum Beispiel Onychorrhösis entsprechen. Dann findet sich histologisch im Papillarkörper mäßiges Ödem, Weitstellung der Gefäße und ein dichtes lympho-histiozytäres Infiltrat, das umschrieben zu spongiotischer Auflockerung bis zur Ausbildung spongiotischer Bläschen führt (4). Funktionell liegt eine multifokale Störung der Kinetik der Nagelmatrix vor. Dies geschieht auf voller Breite der Nagelmatrix, jedoch in wechselndem Ausmaß. Auch daraus lässt sich das Entstehen von Trachyonychie ableiten: Die Nagelmatrix ist in unterschiedlichem Ausmaß auf der gesamten Breite betroffen, so daß das typische längsgerillte Muster entsteht. Tüpfelnägel hingegen stellen dementsprechend eine eigene Entität dar und entsprechen Foci von Onychozyten mit schlechter Adhärenz, die sich dadurch aus dem Zellverbund gelöst haben. Der genaue Angriffspunkt der T-Lymphozyten bei der Entstehung von Nagelveränderungen ist nicht geklärt.

Die Theorie, daß einer idiopathischen Trachyonychie eine Alopecia areata, beschränkt auf die Nägel, zugrunde liegen könnte, ist zwar eine interessante Hypothese, findet in Berichten mit Langzeitbeobachtung jedoch keine Bestätigung (73).

Eine signifikante Assoziation zum Behandlungserfolg bestand für Nagelveränderungen nicht ($p < 0,21$). Dies spricht für die DCP-Therapie, die unabhängig von Nagelveränderungen, die mit der Schwere der Erkrankung einhergehen, wirksam ist. Sowohl die Häufigkeit von

Nagelveränderungen als auch die Unabhängigkeit vom Therapieerfolg finden Bestätigung in der bisher umfangreichsten Untersuchung der DCP-Therapie von Wiseman et al. (80).

5.5 Alopecia areata und positive Familienanamnese

Die Angaben über gehäuftes Auftreten von Alopecia areata innerhalb einer Familie unterliegen einer großen Streubreite von 10 – 42 % (40, 42). Sechs Patienten (7,0%), darunter ein Geschwisterpaar, gaben an, Alopecia areata sei in der Familie schon einmal aufgetreten. Eine familiäre Abhängigkeit von Multilocularis-, Ophiasis-, Totalis- oder Universalis-Typ und Familienanamnese ergab sich nicht.

5.6 Alopecia areata und erfolglose Vorbehandlungen

Die Laienmeinungen bezüglich Ursache von kreisrundem Haarausfall sind ähnlich weit gestreut wie die Auffassungen zur Therapie und deren Wirkung. Die Laienmedizin kennt Aufreiben von Knoblauchzehen ebenso wie Kräuterextrakte aus Indien. Dahinter verbergen sich zum Teil materielle Interessen. Da bei gering ausgeprägtem Befund eine Spontanremission mehr die Regel als die Ausnahme ist, kann für jede noch so ungewöhnliche Therapieform ein gewisses Maß an angeblichem therapeutischen Erfolg vorgewiesen werden. Nur der Halbseitenversuch gewährleistet den Behandlungserfolg einer Therapie von Spontanremission unterscheiden zu können. Keines der topisch anzuwendenden Medikamente, mit Ausnahme der topischen Immuntherapie mit Diphencyclopropenon, konnte bisher diesen Halbseitenversuch bestehen (28, 29, 30). Für systemisch anzuwendende Medikamente ist kein Halbseitenversuch möglich. Um einen Beweis zu führen, müßten große, randomisierte, kontrollierte Studien durchgeführt werden. Es stehen keine systemischen Medikamente zur Verfügung, die sowohl ein Wiederwachstum erzeugen können, als auch diesen Erfolg aufrechterhalten können.

Oral verabreichtes Prednisolon und Dexamethason oder Methylprednisolon intravenös stimuliert das Wiederwachstum von Haaren bei den meisten, jedoch nicht allen Patienten, wenn es nur hoch genug dosiert ist. Für orales Prednisolon wird eine initiale Dosis von 0,8 mg/kg Körpergewicht empfohlen, die dann über einen Zeitraum von 6-8 Wochen ausgeschlichen wird. Die zahlreichen Behandlungsserien sind aufgrund von unterschiedlichen

Patientenparametern, Dosierung und Dauer der Therapie nicht direkt miteinander vergleichbar. In einer Studie wurden 18 Patienten mit Prednisolon an alternierenden Tagen mit einer Dosis entsprechend dem klinischen Ansprechen behandelt: meist 2-4 mal die tägliche Nebennierendosis und bis zu 80-120 mg an den anderen Tagen bei Patienten ohne Ansprechen. Eine schnell zunehmende Dosis von Prednisolon war erforderlich, um kosmetisch zufriedenstellendes Wiederwachstum zu erhalten. Starker Haarausfall im Sinne der Alopecia areata stellte sich bei den meisten Patienten nach Beendigung der Prednisolon-Gaben erneut ein (79). Die Kombination von Glukokortikosteroiden oral und topischen oder intraläsionalen Glukokortikosteroiden hat sich in nicht randomisierten Untersuchungen als vorteilhaft erwiesen. Darunter konnte die oral verabreichte Dosis schneller reduziert und das Risiko von Auftreten von unerwünschten Wirkungen verringert werden. Sieben von 15 Patienten zeigten unter dieser Kombination Wiederwachstum fast aller Haare bei einer durchschnittlichen Remissionsdauer von 32 Monaten (79). Bei der Pulstherapie werden Glukokortikoide hoch dosiert im Intervall verabreicht. Eine Untersuchung dieser Therapieform an 32 Patienten mit ausgedehnter Alopecia areata beschreibt ein kosmetisch zufriedenstellendes Wiederwachstum bei 14 Patienten. 300 mg Prednisolon wurde dabei in 4-wöchigen Intervallen wenigstens 4 mal verabreicht (59). Die wesentlichsten unerwünschten Wirkungen der systemischen Glukokortikoidgabe sind Gewichtszunahme verbunden mit cushingoidem Aussehen (79). Anhaltende Therapie mit oralen Glukokortikoiden kann zu retardiertem Wachstum, Knochendemineralisierung und frühzeitigem Epiphysenfugenschluss führen. Nausea und Polymenorrhoe kann mit einer Pulstherapie ebenfalls einhergehen (59). Zusammengefasst ist festzuhalten, daß die systemische Gabe von Glukokortikosteroiden ein Wiederwachsen der Haare bewirken kann. Die erforderliche Dosis ist jedoch so hoch, daß unakzeptable Nebenwirkungen auftreten. Nach Absetzen der Therapie kommt es bei mehr als 50% der Patienten zu einem Rezidiv. Die Langzeitgabe mit hoch dosierten Glukokortikoiden ist nicht empfehlenswert, so daß diese Therapie bei Alopecia areata praktisch bedeutungslos ist.

Mehrfach ist auch berichtet worden, daß ein Wiederwachstum der Haare einsetzt, wenn Immunsuppressiva wie Azathioprin oder Cyclosporin A aus anderen Gründen, wie zum Beispiel nach einer Nierentransplantation, verordnet werden (63). Systematische Übersichtsarbeiten oder kontrollierte randomisierte Studien liegen hierzu jedoch nicht vor. Eine Arbeitsgruppe beschreibt die Gabe von 6 mg/kg/d Cyclosporin für 12 Wochen bei 5 Patienten mit Alopecia areata totalis oder universalis. Kosmetisch zufriedenstellendes Wiederwachstum zeigte sich bei 2 der 5 Patienten. Spätestens 3 Monate nach Beendigung der

Therapie war es bei allen Patienten zu einem Rezidiv gekommen. Die unerwünschten Wirkungen waren mild und vorübergehend (21). Die Gabe von 6 mg/kg/d Cyclosporin ist hoch und erfordert eine sehr genaue Kontrolle, vor allem bei bekannter renaler Toxizität.

Zusammengefasst ist auch dieser Behandlungsansatz für eine langfristige Therapie der Alopecia areata aufgrund von kumulativen unerwünschten Wirkungen, hohen Rezidivraten und auch sehr hohen Kosten ungeeignet.

Die Photochemotherapie besteht aus einer oralen Gabe von Psoralen und anschließender UVA-Bestrahlung (PUVA). Die Behandlung wird 4 mal pro Woche durchgeführt, die UVA-Dosis wird regelmäßig gesteigert. Zur PUVA-Therapie liegen keine systematischen Übersichtsarbeiten oder kontrollierte randomisierte Studien vor. Eine retrospektive Untersuchung über 10 Jahre Behandlung der Alopecia areata mit PUVA zeigte eine effektive Erfolgsrate von 6,3% für den Typ multilocularis (68).

Bei den in dieser Arbeit untersuchten Patienten, die verschiedene Vorbehandlungen erhalten hatten, war es weder unter einer topischen noch systemischen Therapie zu einem vollständigen Wiederwachstum der Haare gekommen. Topisch waren Glukokortikoide, auch in Kombination mit Zink systemisch, Glukokortikoide intraläsional, systemisch hingegen Glukokortikoide, Dapson oder Psoralen in Kombination mit UVA-Bestrahlung eingesetzt worden. Zur Therapie mit Zink oder Dapson systemisch liegen keine nennenswerten Berichte in der wissenschaftlichen Literatur vor.

In einer vergleichenden Übersichtsarbeit zu unterschiedlichen Behandlungsarten wird gefolgert, daß bei ausbleibender Wirksamkeit der topischen Immuntherapie jede andere Therapie grundsätzlich ohne Aussicht auf Erfolg ist (72). Dies wird umgekehrt durch unsere Beobachtung ergänzt, daß die topische Immuntherapie nach wirkungslosen anderen Behandlungen zu Erfolg führen kann.

5.7 Vergleich des Behandlungserfolges mit bereits veröffentlichten Berichten

Über die Behandlung der Alopecia areata mit Diphenylcylopropanon (DCP) liegen zahlreiche Berichte vor, darunter auch eine systematische Übersichtsarbeit von Fallberichten der topischen Immuntherapie mit DCP. Darin wird ein zufriedenstellendes Ansprechen bei 50-60% der Patienten gefolgert, wobei Patienten mit Typ multilocularis eine bessere Prognose aufweisen als diejenigen mit Typ totalis oder universalis (42). Für diese Patienten hingegen liegt eine systematische Übersichtsarbeit, zahlreiche Fallberichts-Serien, jedoch keine kontrollierte randomisierte Studie vor (22, 51, 57, 62). Die bisher umfangreichste veröffentlichte Untersuchung stammt von Wiseman et al und berichtet über die Behandlung der Alopecia areata mit DCP an 148 Patienten. Sie wurde von der National Alopecia Areata Foundation, San Rafael, Kalifornien unterstützt (80). Es handelt sich hierbei gleichzeitig um die aktuellste Veröffentlichung zur Therapie der Alopecia areata mit DCP. Nach 32 Monaten war ein kosmetisch zufriedenstellendes Wiederwachstum erzielt bei 17,4% der Totalis- und Universalis-Patienten, bei 60,3 % der Patienten mit 75-99% Haarverlust und bei 88,1% der Patienten mit 25-49% Haarverlust. Innerhalb eines von den Autoren "predictive model" genannten Auswerteverfahrens wurde die Abhängigkeit des Behandlungserfolges sowohl von Patientenvariablen als auch Behandlungsvariablen untersucht. Die einzigen Patientenvariablen, die hierbei Einfluß auf den Behandlungserfolg hatten, waren Erkrankungsalter und Ausprägung der Alopecia areata.

Andere Patientenvariablen wie Geschlecht, Alter zum Zeitpunkt der Therapieaufnahme, Dauer der Erkrankung, Atopie, Nagelbeteiligung oder positive Familienanamnese hatten keinen Einfluß auf Behandlungserfolg. Vier Behandlungsvariablen hatten Einfluß auf klinisch signifikantes Wiederwachstum von Haaren: Die höchste Konzentration von aufgetragener Lösung, die Dauer bis zum initialem Wiederwachstum von Flaumhaaren, die Anzahl an Behandlungen bis zum initialen Wiederwachstum von Flaumhaaren und die gleichzeitige intraläsionale Gabe von Kortikosteroiden. Letzteres ist vom pathogenetischen Verständnis der Erkrankung her gut zu erklären. Die Kombination mit intraläsionalen Glukokortikoiden trägt jedoch nicht dazu bei, möglichst valide Daten zur topischen Immuntherapie zu erhalten, umso mehr, als die Autoren keine Angaben dazu machen, wieviele Patienten welches Kortikosteroid in welcher Dosierung und wie häufig während der Therapie erhalten hatten (80).

Erfolg auf DCP war in der Arbeit definiert als kosmetisch akzeptables Wiederwachstum oder Wiederwachstum von Terminalhaaren auf mehr als 75% des Kapillitiums (80). Diese

Erfolgskriterien sind als weicher im Vergleich zu den von uns gewählten zu bewerten, da wir Erfolg der Therapie ausschließlich als flächiges Wiederwachstum von Terminalhaaren auf dem gesamten ehemals haarlosen Areal definierten. Die Arbeit von Wiseman et al. als aktuellste und umfangreichste Arbeit zu DCP-Therapie der Alopecia areata soll dennoch als Maßstab für die von uns erzielten Ergebnisse dienen.

5.8.1 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Erkrankungsdauer

Wiseman und Mitarbeiter berichten, daß die Krankheitsdauer bei 148 Patienten zwischen 2 Wochen und 55 Jahren variierte (durchschnittlich 9,6 Jahre). Das Alter bei Erstauftreten von Alopecia areata war zwischen 1 Jahr und 69 Jahren (durchschnittlich 26,8 Jahre). Bei Beginn der Therapie mit DCP waren die Patienten zwischen 8 und 77 Jahren alt (durchschnittlich 26,8 Jahre). Je niedriger das Erkrankungsalter, umso schlechter war die therapeutische Prognose ($p < 0,4$) (80).

Der Einfluß des Erkrankungsalters auf den Behandlungserfolg ließ sich auch in der von uns untersuchten Patientenpopulation nachweisen, bei $N=71$, $T=-4,61$, $F.G.=69$ ergab sich eine signifikante Assoziation ($p < 0,01$). Die Aussicht auf Erfolg bei topischer DCP-Therapie ist also hoch signifikant geringer, je früher die Erkrankung einsetzt.

Anhand der von uns untersuchten Patienten überprüften wir auch, ob die Erkrankungsdauer einen Einfluß auf den Behandlungserfolg hat. Bei $N=75$, $T=3,12$, $F.G.=67,8$ ergab sich wiederum eine signifikante Assoziation ($p < 0,05$). Dies bedeutet, mit zunehmender Erkrankungsdauer nimmt die Wahrscheinlichkeit eines Erfolgs signifikant ab. Dies läßt sich vor dem pathogenetischen Hintergrund der Alopecia areata damit erklären, daß bei hinreichend langer Erkrankungsdauer die betroffenen Haarwurzeln unter immunologischen Einflüssen beeinträchtigt werden. Neben unseren eigenen Ergebnissen sind auch Shapiro et al. der Ansicht, daß nach langer Erkrankungsdauer ein Ansprechen der Therapie dennoch nicht unbedingt ausgeschlossen ist (57).

5.8.2 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Behandlungsdauer

Wiseman et al. berichten, daß nach 3 Monaten Therapie ein kosmetisch zufriedenstellendes Wiederwachstum bei 2,3 % der Patienten zu verzeichnen war, nach 6 Monaten bei 22,5%, nach 9 Monaten bei 44,4%, nach 12 Monaten bei 52,0%, nach 18 Monaten bei 63,5%, nach 24 Monaten in 70,3%. Im Durchschnitt betrug das Zeitintervall, bis sich ein kosmetisch zufriedenstellendes Wiederwachstum einstellte, 12,2 Monate (95% Konfidenz Intervall 7,0 – 17,4) (80).

Wir ermittelten die Wahrscheinlichkeit im Verlauf der Therapie Erfolg zu erzielen, indem eine Kaplan-Meier-Analyse angefertigt wurde. Bei N=86 konnte für 43 Patienten Erfolg erzielt werden, 43 hatten keinen therapeutischen Erfolg (Abbildung 3.1). Diese Patienten hatten entweder die Therapie nach Erreichen eines Halbseiteneffekts abgebrochen, oder keinen Halbseitenerfolg. Lag ein positiver Halbseitenbefund vor, so ist bei den Patienten, die die Therapie dann abbrachen, die jeweilige Compliance zu berücksichtigen. Wöchentliche Wiedervorstellungen in der Klinik und regelmäßiger Juckreiz und Rötung der Kopfhaut, gefolgt von Schuppung wurden abhängig von der Höhe des Leidensdruckes nicht von allen Patienten in gleichem Ausmaß toleriert.

Verglichen mit Wiseman et al. ist sowohl der Anteil der Patienten mit Behandlungserfolg deutlich geringer als auch die dazu nötige Behandlungsdauer deutlich länger. Jedoch sind die Erfolgskriterien der Vergleichsarbeit als weicher einzustufen. Wiederwachstum auf lediglich mehr als 75% des Kapillitiums ist nach kürzerer Behandlungsdauer zu erreichen als vollständiges Wiederwachstum, so wie in dieser Arbeit definiert. Weiterhin muß berücksichtigt werden, daß die Patienten der Vergleichsarbeit zum Teil mit Glukokortikosteroiden intraläsionär behandelt wurden. Dies erschwert einen Vergleich der nötigen Behandlungsdauer zusätzlich.

5.8.3 Abhängigkeit von Erfolg der DCP-Therapie und Typ der Alopecia areata

Laut Wiseman und Mitarbeitern sind die einzigen Patientenvariablen, die Einfluß auf Wiederwachstum hatten, neben Alter bei Ersterkrankung der vorliegende Typ der Alopecia areata. So erreichten alle Patienten mit 25% - 49% haarlosem Areal klinisch signifikantes Wiederwachstum nach 20 Monaten, hingegen nur 17,4% der Patienten mit Alopecia areata totalis oder universalis nach 8 Monaten.

Wir untersuchten anhand von 82 Patienten, ob der Typ der Alopecia areata Einfluß auf den Behandlungserfolg hat. Bei N=82 hatten 36 Patienten einen Multilocularis-Typ, 46 Patienten einen Totalis- oder Universalis-Typ. Mittels eines Log-rank Test (Cox-Mantel) wurde untersucht, ob sich diese beiden Gruppen signifikant unterscheiden. Bei $N_1=36$, $N_2=46$, F.G.=1, $\chi^2=11,63$ ergab sich $p<0,01$. Dies bedeutet, beide Gruppen unterscheiden sich hochsignifikant voneinander bezüglich der Wahrscheinlichkeit, therapeutischen Erfolg zu erzielen. Auch bei Price und Colombe findet sich dieser Zusammenhang zwischen Typ der Alopecia areata und Therapieerfolg (49). Die von den Autoren beschriebenen HLA-Muster bei Patienten mit Typ Totalis und Universalis legen nahe, daß hier eine Untergruppe innerhalb der Alopecia areata Patienten vorliegt, was auf eine unterschiedliche immunologische Basis für diese Typen der Alopecia areata hinweisen könnte. Aus diesen unterschiedlichen immunologischen Konstellationen könnte sich möglicherweise das andersartige Ansprechen auf die DCP-Therapie erklären lassen.

In Verbindung mit der in dieser Arbeit zusätzlich eruierten Abhängigkeit des Typs der Alopecia areata vom Allel des Interleukin-6-Promotor-Polymorphismus spricht dies ebenfalls dafür, daß Universalis- oder Totalis-Typen eine nicht nur phänotypische Untergruppierung innerhalb der Alopecia areata darstellen, sondern möglicherweise auf anderen multifaktoriellen immunologischen Voraussetzungen beruhen.

5.9 Langfristige Anwendung der DCP-Therapie

Die DCP-Therapie bei Alopecia areata ist symptomatisch. Nach Absetzen der Behandlung kommt es in der Regel zu Rezidiven, die allerdings wiederum mit DCP therapiert werden können. Dies bedeutet, daß sich über den Beobachtungszeitraum dieser Arbeit hinaus unter Umständen Therapiezeiten von mehreren Jahren ergeben können. Im Falle eines Rezidivs muß die Therapie neu begonnen werden. Eine neue Sensibilisierung ist hierzu nicht erforderlich. Die zuletzt verwendete DCP-Konzentration dient als Anhalt für die aufzutragende Konzentration. Manche Patienten entwickeln eine relative Toleranz für DCP. In diesen Fällen kann ersatzweise Quadratsäuredibutylester als Kontaktallergen verwendet werden.

DCP ist kein zugelassenes Arzneimittel und seine therapeutische Anwendung daher nicht eingeführt. DCP kann nach kontinuierlicher Therapie im Stuhl und im Urin von Patienten gaschromatographisch nicht nachgewiesen werden. Im Ames-Test erwies es sich im

Gegensatz zu dem früher analog verwendeten Dinitrochlorobenzen (DNCB) nicht als mutagen (64). Es fehlen jedoch vollständige toxikologische Daten. Etwaige langfristige Risiken sind nicht sicher auszuschließen. Allerdings liegen bis heute weltweit Berichte über DCP-Behandlungen bei mehr als 1100 Patienten vor (30). Auch die im Verlauf dieser Arbeit therapierten Patienten hatten außer den letztlich erwünschten Wirkungen lediglich Lymphknotenschwellungen als länger anhaltende Nebenwirkungen. Diese Lymphknotenschwellungen waren eher gering, selbstlimitierend und gehörten zu der immunologischen Reaktion auf das Kontaktallergen, wie auch von Madani und Shapiro (38) bereits beschrieben. Ein Auftreten von Kontakt-Urtikaria, Vitiligo und Erythema multiforme unter DCP-Therapie konnten wir hingegen nicht wahrnehmen.

5.10 Pathophysiologie der Alopecia areata

Das feingewebliche Bild der frühen Alopecia areata ist durch ein dichtes peribulbäres Infiltrat charakterisiert, das im wesentlichen aus T-Lymphozyten, zum geringen Teil aus Mastzellen, Plasmazellen, Histozyten oder gelegentlich auch eosinophilen Granulozyten besteht (29, 78). Innerhalb der T-zellulären Immunantwort nehmen die CD4+-Helfer-Zellen eine zentrale Rolle ein. Unterschiedliche Unterformen der T-Helfer-Zellen modulieren die verschiedenen Arten zellulärer Zusammenarbeit und produzieren unterschiedliche Zytokin-Mischungen als Mediatoren-Antwort.

So bestimmen die T-Helfer-Zellen sowohl Spezifität als auch Mechanismus der zellulären Immunantwort.

An der Auswahl der zu aktivierenden Effektor-Zellen sind lokale Zytokinmuster und Expression von Gewebshormonen mitbeteiligt. Das initiale Zytokinmuster und das lokale Vorkommen von mehreren unterschiedlichen Steroid- und Vitamin-D3-Metaboliten entscheiden, ob die T-Helfer-Zelle sich zu einem T-Helfer-1- oder T-Helfer-2-Phänotyp entwickelt (Th1/Th2). Mit dieser von Zytokinen gesteuerten funktionellen Unterscheidung fällt die Auswahl der Effektor Zellen und wird die Art der Immunantwort bestimmt.

5.10.1 Zytokine und Alopecia areata

Wenn auch die primären antigenen Zielstrukturen im Haarfollikel wie die initialen Ereignisse der Autoimmunreaktion bei Alopecia areata bisher ungeklärt sind, so gilt doch als gesichert, daß das Erkennen von möglichen Autoantigenen nahe dem Haarbulbus über kostimulatorische Signale zu einer Rekrutierung, Adhäsion und Aktivierung von Lymphozyten führt. Es entsteht ein gemischtes Infiltrat vieler verschiedener immunologisch relevanter Zellen mit einer gewissen Persistenz. Dies geschieht wahrscheinlich durch Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und Wachstumsfaktoren vor Ort. Keratinozyten, Melanozyten, Zellen der epidermalen Haarpapille und Langerhans-Zellen könnten hierbei eine Rolle innerhalb eines *Crosstalk* von Mediatoren spielen. Ein starker Indikator für die läSIONALE Freisetzung von Zytokinen ist die typischerweise zu beobachtende abnorme Expression von Adhäsionsmolekülen und HLA-Antigenen auf Haarfollikelzellen, die normalerweise wenig oder keine Expression zeigen und somit ein immunologisches Aktivierungsmuster aufweisen. Insbesondere findet man eine erhöhte Expression von ICAM-1, HLA-A, -B, -C und -DR-Molekülen auf Zellen der dermalen Papillen, Zellen der äußeren Haarwurzelscheide, Langerhans-Zellen, aber auch proximal gelegenen Keratinozyten (29, 32).

Noch ist nicht völlig verstanden, in wie weit diese immunologischen Phänomene sekundärer Natur sind und lediglich die immunologische Reaktion widerspiegeln oder aber pathogenetisch bedeutsame Mechanismen sind.

In Kopfhautbiopsien von Patienten mit Alopecia areata wurden mittels semiquantitativer Polymerasekettenreaktion (26), aber auch durch immunhistochemische Untersuchungen (20) eine erhöhte Expression von IFN- γ , IL-2 und IL-1 β nachgewiesen. Weiterhin fand sich als Hinweis auf eine immunologische Reaktion bei Patienten mit aktiver Alopecia areata eine erhöhte Konzentration für Interleukin-2 (IL-2 R) im Serum. Für IL-1 konnte *in vitro* eine starke Hemmung des Haarwachstums gezeigt werden (27).

Der Schluß liegt nahe, daß aufgrund des immunmodulatorischen Potentials Zytokine in der Pathogenese der Alopecia areata eine wichtige Funktion spielen.

5.10.2 Die Funktion von Interleukin 6 bei Alopecia areata

Die Funktion von IL-6 wird wesentlich aus dem Synergismus mit IL-1, daneben teilweise auch mit Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- α) bestimmt. Dies wurde zuerst bei der Stimulation von B-Zellen *in vitro* beobachtet. Sowohl IL-1 als auch IL-6 haben allein auf die Sekretion von IgM wenig Einfluss, jedoch führt die Kombination beider Interleukine zu 50fach erhöhter IgM-Sekretion. Bei der Aktivierung von T-Zellen tritt dieser Synergismus noch stärker hervor. IL-6 ist ein wesentlicher Faktor in Synergie mit IL-1 in der Kontrolle von initialen Schritten in der Aktivierung von T-Zellen (60). Die Zielzellen beider Interleukine sind dabei CD8+ Zellen, die in der Lage sind, IL-2 auszuschütten. Dabei ist auch von Interesse, daß diese Zellen, im Gegensatz zu der Mehrzahl der CD8+ Zellen, die wenig oder kein IL-2 ausschütten, IL-1 Rezeptoren in signifikanter Menge exprimieren (36). Zusätzlich zur Wirkung auf periphere T-Zellen wurde auch eine Stimulation zur Proliferation von reifen CD4+CD8- und CD4-CD8+ Thymus-Zellen beobachtet (74).

Zusammenfassend ist IL-6 vor allem während der frühen Phase der T-Zell-Aktivierung von Bedeutung. IL-6 wie auch und IL-1 entfaltet seine Wirkung dabei vermutlich durch eine Hochregulation der Produktion und / oder der Antwort auf IL-2. Es bleibt jedoch unklar, ob es für Virgin- und Primed-T-Zellen von gleicher Bedeutung ist (34, 35, 60).

5.11 Polymorphismus –174G/C in der Promotorregion von Interleukin 6

An Position –174 des humanen IL-6-Promotors wurde an einer negativ regulierenden Domäne ein Einzelnukleotid-Polymorphismus identifiziert, resultierend aus einer Substitution von Guanin durch Cytosin (13). Dieser Polymorphismus ist bisher bei systemischem Lupus erythematodes, Sepsis, Diabetes mellitus und juveniler chronischer Arthritis untersucht worden (13, 31, 55, 56).

Bei systemischem Lupus erythematodes ergab sich kein Zusammenhang mit der Erkrankungswahrscheinlichkeit (56).

Bei Sepsis-Patienten erhöht das G-Allel die Überlebenswahrscheinlichkeit. Patienten mit dem Genotyp GG haben im Vergleich zu GC-Heterozygoten und CC-Homozygoten eine bessere Prognose die Erkrankung zu überleben (55).

Auch bei Patienten mit chronischer juveniler Arthritis findet sich eine von der gesunden Kontrollgruppe abweichende Verteilung der Allele. Der CC-Genotyp ist interessanterweise in

verminderter Häufigkeit vorhanden. Das C-Allel geht in einer Vergleichsgruppe mit einem signifikant niedrigerem IL-6 Plasmaspiegel einher (13). Auch bei Diabetes Typ 1 besteht eine verminderte Häufigkeit von CC, hingegen vermehrte Häufigkeit des Genotyps GG (31). Wie bereits dargelegt, wird die Funktion von IL-6 wesentlich aus dem Synergismus IL-1 bestimmt (18). Ein Polymorphismus im Gen für den IL-1-Rezeptor-Antagonisten (IL-1 RA), ein biologischer Modulator IL-1- β abhängiger Immunantworten, wurde, wenn auch nicht ursächlich, so doch als Ausprägungsfaktor für eine schwere Alopecia areata, identifiziert (67). Es wird vermutet, daß bei diesem Genpolymorphismus die IL-1-RA Sekretion vermindert ist. Dadurch würde im Haarfollikel freigesetztes IL-1- β nicht ausreichend neutralisiert, die immunologische Reaktion verstärkt und die Entwicklung einer Alopecia areata begünstigt. Die Ausprägung der Alopecia areata könnte demgemäß auch von dem IL-6-Promotor-Polymorphismus-174G/C, oder einem Summationseffekt der beiden Polymorphismen abhängig sein.

Mit einem χ^2 -Anpassungstest wurde in dieser Arbeit zunächst überprüft, ob sich die Ausprägung der Allele bei den Patienten signifikant von der in der gesunden Bevölkerung unterscheidet. Die Kontrollgruppe wurde einer Veröffentlichung von Schlüter et al. Entnommen (55). Bei $\chi^2=1,68$, F.G.=2 ergab sich ein $p<0,44$. Die Verteilung der Genotypen unterscheidet sich hiermit nicht von der Verteilung in der gesunden Bevölkerung.

Wir untersuchten bei 40 Patienten mit Alopecia areata die Allel-Verteilung des IL-6-Promotor-Polymorphismus-174G/C. Bei $\chi^2=17,18$, F.G.=4 ergab sich ein $p<0,05$. Für das C-Allel homologe Patienten wiesen in 80% einen Universalis-Typ auf. Diese Abhängigkeit gilt nur eingeschränkt, da in einer Gruppe die erwartete Häufigkeit <1 ist. Um die Abhängigkeit uneingeschränkt als gültig anzuerkennen, müssen noch weitere Patienten ausgewertet werden. Angesichts der Berichte darüber, daß das G-Allel des IL-6-Promotors mit einer höheren transkriptionellen Genaktivität einhergeht und GG Homozygote höhere Plasmaspiegel von IL-6 aufweisen wie CC Homozygote (13), erscheint das Ergebnis der Abhängigkeit des Typs von Genotyp zunächst überraschend.

Die Effekte der IL-6-Promotor-Allele sind teilweise anhand von In-vitro-Untersuchungen beschrieben worden. Eine einfache Übertragung dieser experimentellen Daten auf die In-vivo-Situation der Alopecia areata ist nicht möglich. Weiterhin sind die Effekte des Promotor-Polymorphismus auf die Expression von IL-6 möglicherweise abhängig von spezifischen Zell- und Gewebetypen. Außerdem deckte eine Untersuchung von Terry et al. (70) weitere funktionell relevante Polymorphismen in der 5'-flankierenden Region des IL-6-Gens auf. Diese Polymorphismen agieren nicht unabhängig voneinander, sondern bilden

unterschiedliche Haplotypen zusammen mit dem –174-G/C-Polymorphismus.

Dementsprechend hängt die Wirkung des Allels des –174-G/C-Polymorphismus von weiteren gekoppelten Mutationen am IL-6 Gen ab.

Es wurde ferner die Abhängigkeit von Genotyp und Vollseitenerfolg untersucht. Bei N=43, $\chi^2=1,43$, F.G.=2 ergab sich ein $p<0,49$. Es fand sich für die topische Immuntherapie kein Zusammenhang mit der Ausprägung des IL-6-Promotor-Polymorphismus. Der untersuchte IL-6 Polymorphismus erwies sich folglich als bedeutungslos für die bei der Therapie initiierte kontaktallergische Reaktion vom Th-1-Typ.

6. Zusammenfassung

Alopecia areata, kreisrunder Haarausfall, ist die häufigste Form krankheitsbedingter Verminderung der Haardichte. Die Angaben zur Inzidenz schwanken zwischen 0,3% und 2,5%. Obwohl die eigentliche Ursache unbekannt ist, gibt es klinische und experimentelle Hinweise für eine Autoimmunpathogenese.

Da wenig von der Pathophysiologie der Alopecia areata verstanden ist, sollten in der vorliegenden Arbeit Patientenvariablen in Abhängigkeit des Typs der Alopecia areata untersucht und mit Assoziationen verschiedener Erkrankungen und Stigmata verglichen werden. Eine Abhängigkeit der Typen Alopecia areata universalis und totalis besteht von einer positiven Familienanamnese und insbesondere Nagelwachstumsstörungen. Ferner besteht ein Trend, daß der Universalis-Typ und der Totalis-Typ mit einem niedrigeren Erkrankungsalter einhergehen. Der Typ der Erkrankung ist dagegen unabhängig von anamnestischer Spontanremission, anderen Autoimmunerkrankungen und Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis sowie Erkrankungsdauer.

Für die Therapie der Alopecia areata stehen verschiedene Optionen zur Auswahl, die oftmals mit einer nicht sicheren Wirksamkeit und unerwünschten Wirkungen einhergehen. Um eine bestmögliche Therapie der Patienten sicherzustellen wurde in dieser Arbeit die topische Immuntherapie mit Diphenylcyclopropenon (DCP), die als derzeit wirkungsvollster Therapieansatz gilt, an einem der größten Kollektive im deutschsprachigen Raum untersucht. Von Mai 1999 bis September 2001 wurden 86 Patienten abschließend behandelt. Ein Halbseitenerfolg, als unabdingbare Voraussetzung zur Unterscheidung von Spontanremission und Behandlungserfolg, stellte sich bei 55 Patienten (64,0 %) ein. Vollständiges Wiederwachstum erzielten 43 Patienten (50,0%). Die mittlere Zeitdauer bis zum Erreichen des Vollseiteneffekts betrug 47,10 Wochen, zum Erreichen eines Halbseiteneffekts waren 20,67 Wochen nötig.

Die Prognose der Behandlung wurde ferner in Abhängigkeit des Behandlungserfolges von anamnestischen und klinischen Faktoren untersucht. Therapieerfolg ist wahrscheinlicher bei dem Multilocularis-Typ und dem Ophiasis-Typ, unwahrscheinlicher dagegen bei dem Universalis-Typ und dem Totalis-Typ. Ein Therapieerfolg ist weiterhin wahrscheinlicher, je kürzer die Erkrankungsdauer und je höher das Erkrankungsalter ist. Der Behandlungserfolg ist dagegen unabhängig von positiver Familienanamnese, anamnestischer Spontanremission, assoziierten Autoimmunerkrankungen und Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis sowie Nagelwachstumsstörungen.

Die Alopecia areata wird über eine T-zelluläre Immunreaktion moduliert, in deren Verlauf Zytokine eine wesentliche Rolle spielen. Das Zytokin Interleukin 6 fördert sowohl die Differenzierung von B-Zellen zu Antikörper-produzierenden Zellen als auch die Proliferation und Differenzierung von zytotoxischen T-Lymphozyten. Ferner reguliert es die Akutphase-Antwort. Ein Einzelnukleotid-Polymorphismus an Position -174 bp der humanen IL-6-Promoter-Region wurde beschrieben, resultierend aus einer Substitution von Guanin zu Cytosin. Das Guanin-Allel geht mit einem signifikant höherem Plasmaspiegel von Interleukin 6 bei gesunden Erwachsenen einher. Deshalb könnte ein bestimmter IL-6-Promoter-Genotyp mit einem Phänotyp mit niedriger oder höherer IL-6- Syntheserate assoziiert sein, der wiederum eine immunogenetische Prädisposition für Erkrankungen mit IL-6 medierter Pathophysiologie darstellen könnte. Dies sollte bei Alopecia areata daher erstmals untersucht werden. Es zeigte sich eine Abhängigkeit des Universalis-Typs der Alopecia areata vom Genotyp CC, während der Multilokularis Typ abhängig von dem Genotyp GG war. Diese Abhängigkeit gilt eingeschränkt, da die erwartete Häufigkeit in einer Gruppe <1 ist. Die Untersuchung dieses Polymorphismus an weiteren Patienten, die regelmäßig in die topische Immuntherapie neu eingeschlossen werden, wird nötig sein, um diesen Zusammenhang genauer zu erfassen.

Anhang 1.1:

Patienten-Dokumentationsblatt

Datum:

Name:

Geburtsdatum:

Patient-Nr.:

Geschlecht: m

w

Erstmanifestation der Alopecia areata

Temporäre Remission ? Voll Teil keine

Typ der Alopecia areata zum Zeitpunkt der Anamneseerhebung seit:

Fleckförmig
Totalis / fere totalis
Universalis / fere universalis
Diffus
Ophiasis
Kombinationen
Kahlstellen am Kapillitium geschätzt: %

Nagelveränderungen: Tüpfel
 Querrillen
 Trachyonychie (Sandpapiernägel)
 Rote Lunulae
 Sonstiges

Weitere Erkrankungen: Asthma bronchiale seit:.....
 Atopisches Ekzem seit:.....
 Rhinoconjunctivitis allergica seit:.....
 Autoimmunerkrankungen seit:.....
Welche: Diabetes mellitus Typ I Hashimoto Thyreoiditis
 Kollagenose Vitiligo Gastritis A

Alopecia areata in der Familie

Wenn ja, bei wem?.....Nein

Autoimmunerkrankungen in der Familie

Wenn ja bei wem und welche ?.....Nein

Vorbehandlung in den letzten 6 Monaten

Cignolin
PUVA
Kortikosteroide -lokal
 -systemisch
Dapson
Sonstige Behandlung.....

Aktuelle Medikation.....

Kontrazeption? Wenn ja, wie.....nein

Foto: ja nein

Labor: Blutbild (Diff-BB) und BKS: ja nein
 Serumchemie und CRP: ja nein

Anhang 1.2:

Patienten-Dokumentationsblatt

Datum:

Name:

Geburtsdatum:

Patient-Nr.:

Geschlecht: m w

Woche.....

Letzte DCP-Konzentration:.....%

<u>Auswirkung</u>	Ja	Nein
Erythem	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Schuppung	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Juckreiz	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Erosion	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lymphknotenschwellung	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Blasenbildung	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Generalisiertes Ekzem	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonstiges.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Therapieerfolg

	Ja	Nein
Halbseiteneffekt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vollständiges Wiederwachstum	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
kosmetisch akzeptables Wiederwachstum	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
erneuter Haaraufall	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kein Haarwachstum trotz Ekzem	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kein Ekzem	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Heute verwendete DCP-Konzentration:.....%

Anhang 1.3:

Patienten-Dokumentationsblatt

Datum:

Name:

Geschlecht: m w

Einschlußkriterien

	Ja	Nein
Alter \geq 18 Jahre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Befall des Capillitiums von mindestens 30%	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Leidensdruck hoch	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bestanddauer von über 6-12 Monaten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Andere Therapieversuche	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Ausschlußkriterien

Schwangerschaft	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aktueller Kinderwunsch bei Frauen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

.....
Unterschrift Arzt

.....
Unterschrift Patient

7. Literaturverzeichnis

1. Akira S, Isshiki H, Nakajima T (1992) Regulation of expressions of the interleukin 6 gene: Structure and function of the transcription factor NF-IL6. *Ciba Found Symp*;167:47-62
2. Baar HMJ van, Vleuten CJM van der, Kerckhof PCM van de (1995) Dapsone versus topical immunotherapy in alopecia areata. *Br J Dermatol* 133:270-274
3. Becker JC, Varki N, Bröcker EB, Reisfeld RA (1996) Lymphocyte-mediated alopecia in C57/BL/6 mice following successful immunotherapy for melanoma. *J Invest Dermatol* 107:627-632
4. Braun-Falco O, Dorn M, Neubert U, Plewig G (1981) Trachyonychie: 20-Nägel-Dystrophie. *Hautarzt* 32:17-22
5. Castell JV, Geiger T, Gross V (1988) Plasma clearance, organ distribution and target cells of interleukin-6/hepatocyte-stimulating factor in the rat. *Eur J Biochem* 177:357-361
6. Colon EA, Popkin MK, Callies AL, Desser NJ, Hordinsky MK (1991) Lifetime prevalence of psychiatric disorders in patients with alopecia areata. *Clinic Psychiatry* 32:245-251
7. Cunliffe WJ, Hall R, Stevenson CJ (1969) Alopecia areata, thyroid disease, and autoimmunity. *Br J Dermatol* 81:877-881
8. Defilippi P, Pouphart P, Tavernier J, Fiers W, Content J (1987) Induction and regulation of mRNA encoding 26-kDa protein in human cell lines treated with recombinant tumor necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 4557
9. Delambre C, Teillac D, Brauner R, de Prost Y (1989) Autoimmune polyendocrinopathy and chronic mucocutaneous candidiasis. *Ann Dermatol Venereol* 116:117-121

10. Drake LA, Ceilley RI, Cornelison RL, Dobes WL, Dorner W, Goltz RW (1992) Guidelines of care for alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 26:247-250
11. Dressel D, Boehncke WH (1997) Alopecia areata but not androgenetic alopecia is characterized by a restricted and oligoclonal T-cell receptor repertoire among infiltrating lymphocytes. *J Cutan Pathol* 24:1-7
12. Feldmann KA, Kunte C, Wollenberg A, Wolff H (2002) Is topical tacrolimus effective in alopecia areata universalis? *Br J Dermatol* 147:1031-1032
13. Fishman D, Faulds G, Jefferey R (1998) The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 102:1369-1376
14. Freyschmidt-Paul P, Ziegler A, McElwee KJ, Happle R, Kissling S, Sundberg JP, Hoffmann R (2001) Treatment of alopecia areata in C3H/HeJ mice with the topical immunosuppressant FK506 (Tacrolimus). *Eur J Dermatol* 11:405-409
15. Freyschmidt-Paul P, Happle R, McElwee KJ, Hoffmann R (2003) Alopecia areata: treatment of today and tomorrow. *J Invest Dermatol Symp Proc* 8:12-17
16. Freyschmidt-Paul P, Happle R, Hoffmann R (2003) Alopecia areata. Klinik, Pathogenese und rationale Therapie einer T-Zell-vermittelten Autoimmunerkrankung. *Hautarzt* 54:713-722.
17. Galbraight GM, Miller D, Emerson DL (1988) Western blot analysis of serum antibody reactivity with human melanoma cell antigens in alopecia areata and vitiligo. *Clin Immunol Immunopathol* 48:317-324
18. Galbraight GM, Pandey JP (1995) Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) gene polymorphism in alopecia areata. *Hum Genet* 96:433-436

19. Gilhar A, Pillar T, Assay B, David M (1992) Failure of passive transfer of serum from patients with alopecia areata and alopecia universalis to inhibit hair growth in transplants of human scalp grafted onto nude mice. *Br J Dermatol* 126:166-171
20. Gollnick H, Orfanos CE (1990) Alopecia areata: pathogenesis and clinical picture. In: Orfanos EC, Happle R (eds) *Hair and hair diseases*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York
21. Gupta AK, Ellis CN, Cooper KD, Nickoloff BJ, Ho VC, Cham LS, Hamilton TA, Tellner DC, Griffiths CE, Voorhees JJ (1990) Oral cyclosporin for the treatment of alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 22:242-250
22. Happle R, Hausen BM, Wiesner-Menzel L (1983) Diphencyprone in the treatment of alopecia areata. *Acta Dermato Venerol (Stockh)* 63:49-52
23. Happle R (2002) Diphencyprone for the treatment of alopecia areata. More data and new aspects. *Arch Dermatol* 138:112-113
24. Heinrich P, Castell J, Andus T (1990) Interleukin 6 and the acute phase response. *Biochem J*: 265:621
25. Hirano T: Interleukin 6 in *The Cytokine Handbook*, 2nd ed. Academic Press, New York
26. Hoffmann R, Wenzel E, Huth A, Steen PHM van der, Schäufele M, Henninger HP, Happle R (1994) Cytokine mRNA-levels in alopecia areata before and after treatment with the contact allergen diphenylcyclopropanon. *J Invest Dermatol* 103:503-533
27. Hoffmann R, Eicheler W, Huth A, Wenzel E, Happle R (1996) Cytokines and growth factors influence hair regrowth in vitro: possible implications for the pathogenesis and treatment of alopecia areata. *Arch Dermatol Res* 288:153-156
28. Hoffmann R, Happle R (1996) Alopecia areata: Aktuelles über Ätiologie, Pathogenese, Klinik und Therapie. *Z Hautkr* 71:528-541
29. Hoffmann R, Happle R (1999) Alopecia areata. *Hautarzt* 50:222-231

30. Hoffmann R, Happle R (1999) Alopecia areata. *Hautarzt* 4:310-315
31. Jahromi MM, Millward BA, Demaine AG (2000) A polymorphism in the promoter region of the gene for interleukin-6 is associated with susceptibility to type 1 diabetes mellitus. *J Int Cyt Res* 20:885-888
32. Kalish RS, Gilhar A (2003) Alopecia areata: autoimmunity – the evidence is compelling. *J Investig Dermatol Symp Proc* 8:164-167
33. Khoury EL, Price V (1995) No cell-surface-reactive antibodies against cultured autologous melanocytes found in alopecia areata sera. *J Invest Dermatol* 104:24
34. Kishimoto T (1989) The biology of interleukin-6. *Blood* 74:1-10
35. Kishimoto T (1992) Interleukin-6 and its receptor; from cloning to clinic. *Int Arch Allergy Immunol* 99:172-177
36. Klarinet JP, Kern DE, Dower SK, Matis LA, Cheever MA, Greenberg PD (1989) Helper-independent CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes express IL-1 receptors and require IL-1 for secretion of IL-2. *J Immunol* 142:2187-2191
37. Lotz M, Jirik F, Kabouridis R, Tsoukas C, Hirano T, Kishimoto T, Carson D (1988) B cell stimulating factor 2/interleukin 6 is a costimulant for human thymocytes and T lymphocytes. *J Exp Med* 167:1253-1258
38. Madani S, Shapiro J (2000) Alopecia areata update. *J Am Acad Dermatol* 42:549-566
39. McElwee KJ, Rushton DH, Trachy R, Oliver RF (1997) Topical FK506: a potent immunotherapy for alopecia areata? Studies using the Dundee experimental bald rat model. *Br J Dermatol* 137:491-497
40. McDonagh AJ, Tazi-Ahnini R (2002) Epidemiology and genetics of alopecia areata. *Clin Exp Dermatol* 27:405-409

41. Muller SA, Winkelmann RK (1963) Alopecia areata: an evaluation of 736 patients. *Arch Dermatol* 88:290-297
42. Olsen E, Hordinsky M, McDonald-Hull S (1999) Alopecia areata investigational assessment guidelines. National Alopecia Areata Foundation. *J Am Acad Dermatol* 40:242-246
43. Paus R, Handjiski B, Czarnetzki B, Eichmüller S (1994) Biologie des Haarfollikels. *Hautarzt* 45:808-825
44. Paus R (1998) Principles of hair cycle control. *J Dermatol* 25:793-802
45. Paus R, Christoph T, Müller-Röver S (1999) Immunology of the hair follicle: A short journey into terra incognita. *J Invest Dermatol* 4:226-234
46. Paus R, Costarelis G (1999) The biology of hair follicles. *N Engl J Med* 341:491-497
47. Paus R, Müller-Röver S, Botchkarev V (1999) Chronobiology of the hair follicle: Hunting the hair cycle clock. *J Invest Dermatol* 4:338-345
48. Penders AJ (1968) Alopecia areata and atopy. *Dermatologica* 136:395-399
49. Price VH, Colombe BW (1996) Heritable factors distinguish two types of alopecia areata. *Dermatol Clin* 14:679-689
50. Price VH (1999) Treatment of hair loss. *N Eng J Med* 341:964-973
51. de Prost Y, Paquez F, Touraine R (1982) Dinitrochlorobenzene treatment of alopecia areata. *Arch Dermatol* 118:542-545
52. Roitt I, Brostoff J, Male D (1998) Immunology. In: Roitt I, Brostoff J, Male D Immunology. Times Mirror International Publishers Limited, London

53. Safavi KH, Muller SA, Suman VJ, Moshell AN, Melton LJ (1995) Incidence of alopecia areata in Olmsted county, Minnesota, 1975 through 1989. *Mayo Clin Proc* 70:628-633
54. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Ehrlich HA (1988) Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239:487-491
55. Schlüter B, Raufhake C, Erren M, Schotte H, Kipp F, Rust S, van Aken H, Assmann G, Berendes E (2002) Effect of the interleukin-6 promoter polymorphism (-174 G/C) on the incidence and outcome of sepsis. *Crit Care Med* 30:32-37
56. Schotte H, Schlüter B, Rust S, Assmann G, Domschke W, Gaubitz M (2001) Interleukin-6-Promotor polymorphism (-174 G/C) in Caucasian German patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 40:393-400
57. Shapiro J, Tan J, Ho V, Abbott F, Tron V (1993) Treatment of chronic severe alopecia areata with topical diphenylcyclopropenon and 5% minoxidil: a clinical and immunopathological evaluation. *J Am Acad Dermatol* 29:729-735
58. Shapiro J, Price VH (1998) Hair regrowth: therapeutic agents. *Dermatol Clin* 16:341-356
59. Sharma VK (1996) Pulsed administration of corticosteroids in the treatment of alopecia areata. *Int J Dermatol* 35:133-136
60. Van Snick J (1990) Interleukin 6: An Overview. *Annu Rev Immunol* 8:253-278
61. Steen PHM van der, Boezeman JBM, Duller P, Happle R (1992) Can alopecia areata be triggered by emotional stress? An uncontrolled evaluation of 178 patients with extensive hair loss. *Acta Derm Venerol (Stockh)* 72:279-280
62. Steen PHM van der, Baar HMJ van, Perret CM, Happle R (1991) Treatment of alopecia areata with diphenylcyclopropenon. *J Am Acad Dermatol* 24:253-257

63. Steen PHM van der, Hoffmann R, Raykowski S, Schäufele M, Happle R (1995) Alopecia areata. *Deutsches Ärzteblatt* 92:831-836
64. Swanson NA, Mitchell AJ, Leahy MS, Headington JT, Diaz LA (1981) Topical treatment of alopecia areata. *Arch Dermatol* 117:384-387
65. Takatsuki F, Okano A, Suzuku C, Chieda R, Takahara Y, Hirano T, Kishimoto T, Hamuro J, Akiyama Y (1988) Human recombinant Interleukin 6 / B cell stimulatory factor 2 augments murine antigen-specific antibody responses in vitro and in vivo. *J Immunol* 141:3072
66. Takai Y, Wong G, Clark S, Burakoff S, Herrmann F (1988) B cell stimulatory factor-2 is involved in the differentiation of cytotoxic T lymphocytes. *J Immunol* 140:508
67. Tarlow JK, Clay FE, Cork MJ, Blakemore AIF, McDonagh AJG, Messenger AG, Duff GW (1994) Severity of alopecia areata is associated with a polymorphism in the interleukin-1 receptor antagonist gene. *J Invest Dermatol* 103:387-390
68. Taylor CR, Hawk JLM (1995) PUVA treatment of alopecia areata partialis, totalis and universalis: audit of 10 years`experience at St John`s Institute of Dermatology. *Br J Dermatol* 123:1491-1493
69. Tazi-Ahnini R, Cork MJ, Gawkrödger DJ, Birch MP, Wengraf D, McDonagh AJ, Messenger AG (2002) Role of the autoimmune regulator (AIRE) gene in alopecia areata: strong association of a potentially functional AIRE polymorphism with alopecia universalis. *Tissue antigens* 60:489-495
70. Terry CF, Loukaci V, Green FR (2000) Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *J Biol Chem* 275:18138-1814
71. Toben DJ, Orentreich N, Fenton DA, Bystryn JC (1994) Antibodies to hair follicles in alopecia areata. *J Invest Dermatol* 102:721-724
72. Tosti A, Bardazzi F, Guerra L (1991) Alopecia totalis: Is treating non-responder patients useful? *J Am Acad Dermatol* 24:455-456

73. Tosti A, Bardazzi F, Piraccini BM, Fanti PA (1994) Idiopathic trachyonychia (twenty-nail dystrophy): a pathological study of 23 patients. *Br J Dermatol* 131:866-872
74. Uyttenhove C, Coulie PG, Van Snick J (1993) T cell growth and differentiation induced by interleukin-HP1/IL-6, the murine hybridoma/plasmacytoma growth factor. *J Exp Med* 167:1417-1427
75. Vogt A, Blume-Peytavi U (2003) Die Biologie des menschlichen Haarfollikels. *Hautarzt* 54:692-698
76. Walker AS, Rothman S (1950) Alopecia areata: A statistical study and consideration of endocrine influences. *J Invest Dermatol* 14:403-413
77. Wang SJ, Shohat T, Vadheim c, Shellow W, Edwards J, Rotter JI (1994) Increased risk for type I (insulin-dependent) diabetes in relatives of patients with alopecia areata. *Am J Med Genet* 51:234-239
78. Whiting DA (2003) Histopathologic features of alopecia areata: a new look. *Arch Dermatol* 139:1555-1559
79. Winter RJ, Kern F, Blizzard RM (1976) Prednisolone therapy for alopecia areata. *Arch Dermatol* 112:1549-1552
80. Wiseman MC, Shapiro J, MacDonald N, Lui H (2001) Predictive model for immunotherapy of alopecia areata with diphencyprone. *Arch Dermatol* 137:1063-1068
81. Yamamoto S, Kato R (1994) Hair growth-stimulating effects of cyclosporin A and FK506, potent immunosuppressants. *J Dermatol Sci* 7:47-54

8. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Markus Stockmeier
Geburtsdatum	23. Januar 1971
Geburtsort	Ingolstadt
Familienstand/Kinder	verheiratet/1 Sohn
Staatsangehörigkeit	deutsch
Religion	römisch-katholisch

Ausbildung und berufliche Tätigkeit

1977-1981	Grundschule Ingolstadt-Ringsee
1981-1990	Apian-Gymnasium Ingolstadt, mathematisch-naturwissenschaftlicher Zweig
1990-1992	Grundwehrdienst Bundesluftwaffe
1992-1999	Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
1999-2000	Arzt im Praktikum an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Ludwig-Maximilians-Universität München
2000-2003	Assistenzarzt an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Ludwig-Maximilians-Universität München
2003-2005	Assistenzarzt am Cutaris Zentrum für Haut-, Venen- und Lasermedizin, München
2005-dato	Niedergelassener Facharzt für Dermatologie und Venerologie, Ludwigstraße 12, 85049 Ingolstadt

Wissenschaftliche Vorträge

Münchener Dermatologische Gesellschaft (MDG)-Herbsttagung	10.11.1999:
Postmenopausale frontale fibrosierende Alopezie (Kossard)	

MDG-Frühjahrstagung 17.05.2000: SAHA-Syndrom

MDG-Herbsttagung 22.11.2000: Langerhans-Zellhistiozytose

MDG-Frühjahrstagung 15.05.2002: Progressive noduläre Histiozytose

Diaklinik der 18. Fortbildungswoche für praktische Dermatologie und Venerologie München,
21-26.07.2002: Progressive noduläre Histiozytose

Vereinigung Südostdeutscher Dermatologen:

Gründungsversammlung Pullach 1999: Postmenopausale frontal fibrosierende Alopezie
Kossard

Vereinigung Südostdeutscher Dermatologen:

1. Jahrestreffen, Leipzig 2000: Diaklinik Trichologie

Effektive Methoden zur Behandlung von Haarausfall

Städtische Kliniken Dortmund, Veranstalter: Prof. Dr. med. P. Frosch, 04.04.2001

Minoxidil 5%-Erste Erfahrungen im Einsatz bei Alopecia areata

11. Bundeskongress des Alopecia areata Deutschland e.V.

Westfälische Wilhelms-Universität Münster, 09.06.2001

Topische Therapien der androgenetischen Alopezie

4. Tagung der Deutsch-Ungarischen Dermatologischen Gesellschaft, Düsseldorf 29.08.-
01.09.2002

Comparison of intense pulsed light and pulsed dye laser for the treatment of port wine stains:
a left-right trial of efficacy and adverse effects.

24th annual meeting of the American society for laser medicine and surgery, Dallas, Texas,
04.04.2004

Wissenschaftliche Veröffentlichungen

Stockmeier M, Kunte C, Sander CA, Wolff H (2002) Frontal fibrosierende Alopezie Kossard bei einem Mann. *Hautarzt* 53:409-411

Stockmeier M, Kunte C, Feldmann K, Messer G, Wolff H (2001) Folliculitis decalvans - Behandlung mit einer systemischen Rifampicin-Clindamycin-Kombinationstherapie bei 17 Patienten. *Akt Dermatol* 27:361-363

Stockmeier M, Feldmann K, Schaller M, Wolff H (2002) Progressive noduläre Histiozytose. In: Plewig G, Degitz K (Hrsg) *Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie 2002*, Band 18. Springer, Berlin, Heidelberg, New York

Niedermeier A, Stockmeier M, Prinz JC (2002) Kutane Myiasis: Ein ungewöhnliches Urlaubssouvenir aus Belize. In: Plewig G, Degitz K (Hrsg) *Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie 2002*, Band 18. Springer, Berlin, Heidelberg, New York

Bornhövd E, Schröder M, Stockmeier M, Sievers M, Prinz JC: Akrogerie: Eigene Entität oder Variante des Ehlers-Danlos-Syndroms Typ IV? In: Plewig G, Degitz K (Hrsg) *Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie 2002*, Band 18. Springer, Berlin, Heidelberg, New York