

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität München
Direktor: Prof.Dr.med.Dr.h.c. O. Braun-Falco

DINITROCHLORBENZOL - KONTAKTALLERGISIERUNGSZEIT

(DNCB-KAZ) ALS IMMUNSTATUS - UNTERSUCHUNG.

ANWENDUNG BEI PATIENTEN MIT MALIGNEM MELANOM

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Johannes Bogner

aus Vaterstetten bei München

1985



**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. G. Burg

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. O. Braun-Falco

Dekan: Prof. Dr. med. Spann

Tag der mündlichen

Prüfung: 5.12.1985

Meiner lieben Mutter
im Gedenken an meinen
Vater, der die Fertig-
stellung dieser Arbeit
nicht mehr miterleben
durfte

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. G. Burg

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. O. Braun-Falco

Dekan: Prof. Dr. med. Spann

Tag der mündlichen

Prüfung: 5.12.1985

Meiner lieben Mutter
im Gedenken an meinen
Vater, der die Fertig-
stellung dieser Arbeit
nicht mehr miterleben
durfte

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG, PROBLEMSTELLUNG UND ZIEL DER ARBEIT	1
1.1 Immunstatus	1
1.2 DNCB - Kontaktallergie	2
1.3 Malignes Melanom	7
1.4 Ziel der Arbeit	8
2 MATERIAL UND METHODEN	9
2.1 Patientengut	9
2.2 Material und Methode	11
3 ERGEBNISSE	15
3.1 Kontaktallergisierungszeit (DNCB-KAZ)	15
3.1.1 Häufigkeitsverteilung der DNCB-KAZ	15
3.1.2 Altersabhängigkeit der DNCB-KAZ	17
3.1.3 Geschlechtsabhängigkeit der DNCB-KAZ	17
3.2 DNCB-KAZ Immunstatus und malignes Melanom	19
3.2.1 Melanomtyp und DNCB-KAZ	19
3.2.2 Melanomstadium und DNCB-KAZ	21
3.2.3 DNCB-KAZ und histologische Prognoseparameter	21
3.2.3.1 Eindringtiefe	21
3.2.3.2 Prognostischer Index	22
3.2.4 Einfluß der Therapie auf die DNCB-KAZ	23
3.3 Zusammenhang zwischen DNCB-KAZ und Jahreszeit	25
3.3.1 Temperatur und DNCB-KAZ	27
3.3.2 Luftfeuchte und DNCB-KAZ	28
3.3.3 Lichtexposition und DNCB-KAZ	28
3.4 Vergleich von DNCB-KAZ und DNCB Schwellen- testung	32

4 DISKUSSION	35
4.1 Kontaktallergisierungszeit (DNCB-KAZ)	35
4.1.1 Sensibilisierungsphase und kontakt-allergische Reaktion	35
4.1.2 Altersabhängigkeit der DNCB-KAZ	39
4.1.3 Geschlechtsabhängigkeit der DNCB-KAZ	40
4.2. DNCB-KAZ als Parameter des Immunstatus beim malignen Melanom	41
4.2.1 Melanomtyp und DNCB-KAZ	42
4.2.2 Melanomstadium und DNCB-KAZ	43
4.2.3 DNCB-KAZ und histologische Prognose-parameter	44
4.2.4 Einfluß der Therapie auf die DNCB-KAZ	45
4.3 Zusammenhang zwischen DNCB-KAZ und Jahreszeit	47
4.4 Vergleich von DNCB-KAZ und DNCB Schwellentestung	49
5 ZUSAMMENFASSUNG	51
6 LITERATURVERZEICHNIS	54
7 ANLAGE	

Abkürzungen

ALM	= Akrolentiginöses Melanom
BCG	= Bacillus-Calmette-Guérin, Tuberkuloseimpfstoff
BMDP	= Biomedical computer and data analysis programs der University of California (38)
DNCB	= Dinitrochlorbenzol
DNCB-KAZ	= Dinitrochlorbenzol- <u>Kontaktallergisierungszeit</u>
DNFB	= Dinitrofluorbenzol
DTIC	= Dacarbazine
HLA	= Human leucocyte antigen
Ia	= Immunantwort-assoziierte Antigene
KLH	= Keyhole Limpet Haemocyanin
LHZ	= Langerhanszellen
LIF	= Leukozyten-Inhibitionsfaktor
LMF	= Leukozyten-Mitogenfaktor
LMM	= Lentigo maligna Melanom
MAF	= Makrophagen aktivierender Faktor
MIF	= Migrations-Inhibitionsfaktor
NM	= Noduläres Melanom
PHA	= Phytohämagglutinin
PI	= Prognostischer Index
SSM	= Superfiziell spreitendes Melanom
T _{DH}	= T-Effektorlymphozyt der Reaktion vom verzögerten Typ
T _K	= Killer-T-Lymphozyt

1 EINLEITUNG, PROBLEMSTELLUNG UND ZIEL DER ARBEIT

1.1 Immunstatus

Der Untersuchung des Immunstatus von Patienten oder Patientenkollektiven wird in verschiedensten klinischen und wissenschaftlichen Forschungsbereichen seit langem Interesse entgegengebracht. Dabei kam in den vergangenen Jahren und Jahrzehnten ein weites Spektrum von in-vivo und in-vitro Testen zur Anwendung. Das Ziel ist, einzelne Komponenten des Immunsystems in ihrem Funktionszustand zu überprüfen (114) : In vivo wie auch in-vitro - Ansätze am Tiermodell und im klinischen Versuch am Menschen stehen uns heute zahlreich zur Verfügung.

Eine Reihe von Krankheiten wurde im Zusammenhang mit möglichen Veränderungen des Immunstatus diskutiert. Dazu gehören unter anderem maligne Neoplasien (28), Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises sowie zahlreiche dermatologische Krankheitsbilder (18,71,114).

Unter den Neoplasien wird dabei dem malignen Melanom als bösartigstem Tumor der Haut besondere Bedeutung beigegeben. Die Prognose hängt möglicherweise vom Funktionszustand des Immunapparates ab (93,103).

In diesem Zusammenhang scheint es von Wichtigkeit, eine Testmethode zu besitzen, welche mit bestmöglicher Genauigkeit Rückschlüsse über die Immunitätslage eines Patienten oder Patientenkollektivs zuläßt. Ein entscheidender Parameter ist dabei die zelluläre Immunität (61,84,93). In vivo Tests zur Einschätzung der zellulären Immunantwort wurden von zahlreichen Untersuchern durch die Erzeugung einer Kontaktallergie mit 1-Chlor-2,4-dinitrobenzol (DNCB)

mit Schwellentestung nach einem fixen Zeitintervall durchgeführt. Die Interpretation der Ergebnisse führte zu gegensätzlichen Auffassungen. Zur exakteren Quantifizierung der DNCB - Kontaktallergie entwickelten Burg und Przybilla ein Verfahren (111), bei welchem die bisher übliche Epikutan - Sensibilisierung mit anschließender Schwellentestung durch die Messung der sogenannten Kontaktallergisierungszeit (DNCB-KAZ) ersetzt wurde.

Es bestand nun die Frage, ob es bei einem größeren Kollektiv von Patienten Unterschiede in der DNCB-KAZ gibt, wie lange die durchschnittliche Allergisierungszeit ist, und welcher Unterschied sich zwischen einer Quantifizierung des DNCB - Tests durch DNCB-KAZ oder durch Bestimmung der Schwellenkonzentration nach eingetretener Sensibilisierung ergibt. In welchem Zusammenhang die Dauer der Kontaktallergisierung (DNCB-KAZ) und die Stärke der Auslösbarkeit im Schwellentest stehen war ebenfalls von Interesse.

1.2 DNCB - Kontaktallergie

1-Chlor-2,4-dinitrobenzol (DNCB) ist ein gelbliches, kristallines Pulver, das in Wasser unlöslich, in Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff und Aceton löslich ist (17). Es wirkt bei einer Konzentration von über 0,5 % an der Haut toxisch (34,36,78) und bewirkt eine toxische Kontaktdermatitis (8,14,72). Kreuzallergien (11,40,66) und mutagene Effekte (83) wurden befürchtet, aber nicht eindeutig bestätigt.

Unter den in-vivo - Tests der zellulären Immunreaktion (Tab. 1) zählen die Hauttests mit DNCB zu den sogenannten Neoantigen - Methoden: mit dem hochpotenten Kontaktaller-

gen hatten die zu testenden Personen keinen Vorkontakt. Bereits 1938 fand DNCB Anwendung bei der in-vivo Untersuchung der Kontaktallergie durch Haxthausen (73). Standardmethoden zur DNCB - Sensibilisierung und Testung wurden von mehreren Autoren vorgeschlagen (11,17,29,30, 44,53, Tabelle 12).

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">- Intrakutantests mit verschiedenen Recall - Antigenen (z.B. Bakterien, Pilze)- Epikutane Sensibilisierung mit primären Antigenen (= Neoantigene, z.B. DNCB, DNFB, KLH)*- Intrakutane Injektion von autologem Tumormaterial- Beurteilung der Leukozyten - Chemotaxis (z.B. Hautfenstertechnik nach Rebuck (113)) |
|---|

Tabelle 1: Nachweismethoden zu in-vivo Untersuchungen der zellvermittelten Immunreaktion

* DNCB = 2,4-Dinitrochlorbenzol

DNFB = Dinitrofluorbenzol

KLH = Keyhole Limpet Haemocyanin

Bei der Ausbildung der DNCB - Kontaktallergie sind die Sensibilisierungsphase und die Auslösephase zu unterscheiden. Die Sensibilisierungsphase gliedert sich in den afferenten und den efferenten Schenkel (Polak (108)). Das Kontaktallergen (DNCB) penetriert die Epidermis und verbindet sich dort mit Zelloberflächenprotein. Ein antigenspezifischer Vorläufer T-Lymphozyt erkennt das

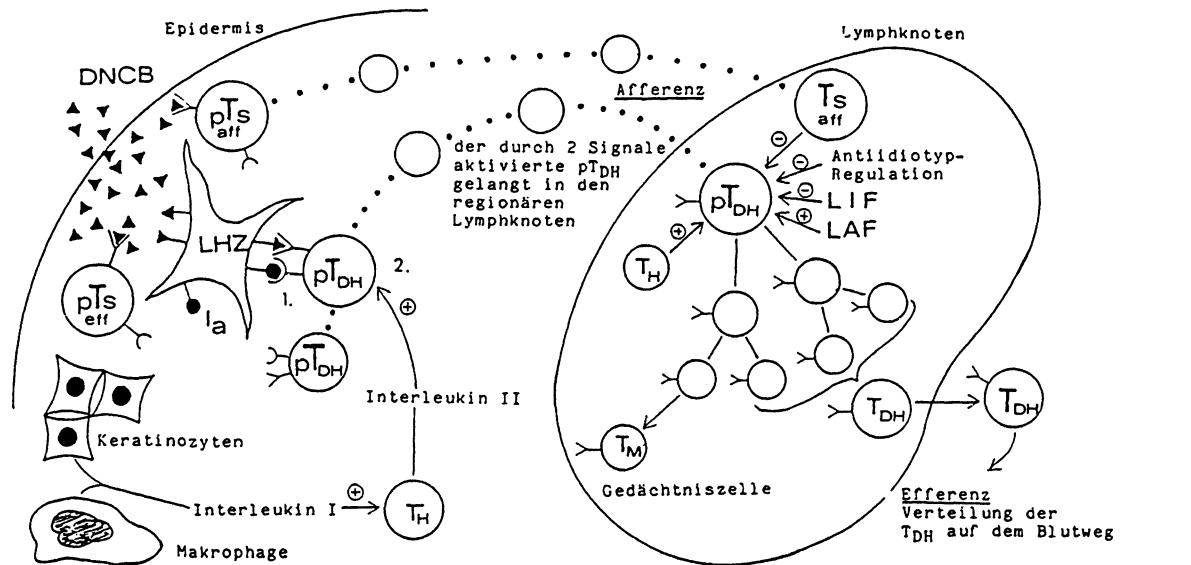


Abbildung 1: Sensibilisierungsphase der Kontaktallergie (nach Knop (80))
 DNCB = Dinitrochlorbenzol (Symbol ▶), LHZ = Langerhanszelle, Ia = Immunantwort - assoziiertes Zelloberflächenantigen, **pTs_{aff}** = Vorläufer - Suppressorzelle des afferenten Schenkels, **pTs_{eff}** = Vorläufer - Suppressorzelle des efferenten Schenkels, **pT_{DH}** = Vorläufer - T - Lymphozyt der Reaktion vom verzögerten Typ, **T_{DH}** = T-Effektorlymphozyt der Reaktion vom verzögerten Typ, **LIF** = Leukozyten - Inhibitionsfaktor, **Ts_{aff}** = Suppressorzelle des afferenten Schenkels, **TH** = Helferzelle, **LMF** = Leukozyten - Mitosefaktor, \oplus = Förderung, \ominus = Suppression.
 Erläuterung im Text

Antigen zusammen mit dem Ia-Antigen (Immunantwort - assoziiertes, genetisch kontrolliertes Zelloberflächenantigen) der Langerhanszelle, welche das Antigen präsentiert. Durch dieses Erkennen und ein weiteres Signal, das Interleukin II, wird der Vorläufer - T - Lymphozyt zur Differenzierung in einen T-Effektorlymphozyten der Spättypreaktion angeregt. Die Proliferation geschieht in der parakortikalen Zone des regionalen Lymphknotens (56,80). Neben T-Effektorlymphozyten entstehen auch Gedächtniszellen. Im efferenten Schenkel der Sensibilisierungsphase erfolgt die Verteilung der entstandenen Effektorlymphozyten auf dem Blutweg.

Alle Schritte der Sensibilisierung unterliegen regulierenden und modulierenden Einflüssen durch Suppressor- und Helferlymphozyten, durch Mediatoren, Interleukine und Antiidiotyp - Autoantikörper. Nähere Informationen über diese Interaktionen sind Abb. 1 zu entnehmen.

Bei der Auslösepahse reagieren die T-Effektorlymphozyten, welche nun überall in der Haut vorliegen, mit dem erneut dargebotenen Allergenen (Hapten + Zelloberflächenprotein). Geringe Konzentration reichen aus um die T-Effektorlymphozyten zu aktivieren. Durch Freisetzung von Zytokinen werden andere Lymphozyten, Makrophagen und Granulozyten an die Stelle des Antigenkontakte herangebracht und in einen aktiven Zustand versetzt. Die resultierenden lokale Entzündungsreaktion (72,90) ist das Ergebnis des Zusammenwirkens von basophilen Granulozyten, Mastzellen, Makrophagen und verschiedenartiger T-Lymphozyten (Abb. 2), (14,72). Ebenso wie die Sensibilisierungsphase steht auch die Auslösepahse der Kontaktallergie unter dem regulativen Einfluß von Suppressorlymphozyten und verschiedenartigen Lymphokinen (80), deren Wirkungsweise in Abb. 2 veranschaulicht wird.

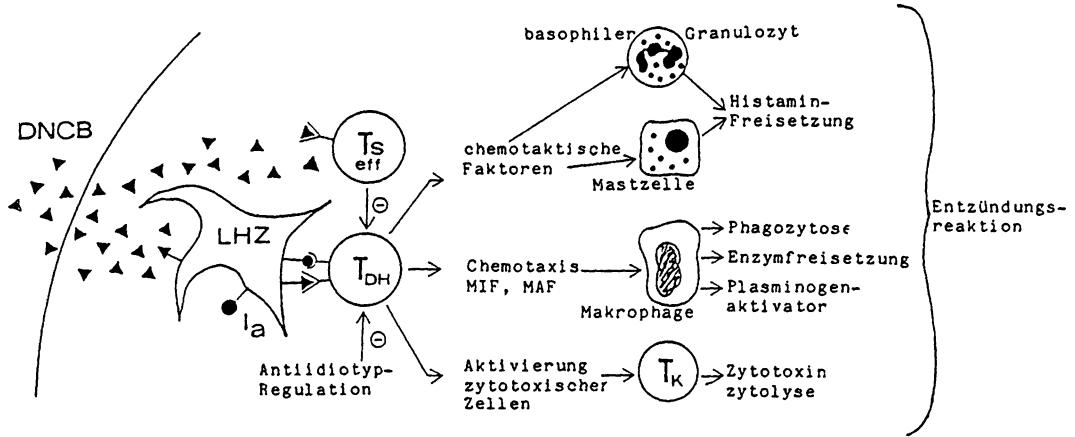


Abbildung 2: Auslösephase der Kontaktallergie (nach Knop (80))

DNCB = Dinitrochlorbenzol (Symbol \blacktriangleleft), LHZ = Langerhanszelle, Ia = Immunantwort - assoziiertes Antigen, T_{DH} = T-Effektorlymphozyt der Reaktion vom verzögerten Typ, \ominus = supprimierende Regulation, T_{eff} = Suppressorlymphozyt des efferenten Schenkels, MIF = Migrationsinhibitionsfaktor, MAF = Makrophagen aktivierender Faktor, T_K = Killer-T-Lymphozyt.
Erläuterung im Text.

Angesichts des phasenhaften und komplexen Verlaufes der zellulären Immunantwort stellt sich die Frage, inwiefern eine kontaktallergische Reaktion gegenüber DNCB als Parameter des Immunstatus quantifizierbar sein kann. Welche Phasen lassen sich erfassen, wenn außer der Stärke der Auslöserreaktion zusätzlich die Zeitspanne der Sensibilisierung gemessen wird?

1.3 Malignes Melanom

Die Anwendung der DNCB-KAZ - Methode erfolgte an Patienten mit malignem Melanom. Immer wieder wurde die Entstehung maligner Tumoren als Folge eines Versagens immunologischer Abwehrmechanismen betrachtet (19,71,100). Andererseits wurde aber auch ein primärer Immundefekt in diesem Zusammenhang bestritten (42,67,76,120).

Eine verfeinerte in-vivo Testung des DNCB - Immunstatus ist deshalb wünschenswert. Dabei besteht die Frage, ob mit der DNCB-KAZ - Methode bei verschiedenen Melanomtypen, Prognosegruppen und Therapiegruppen Unterschiede in der zellulären Immunantwort auf das Neoantigen DNCB gefunden werden können.

Die Zahl der die Prognose des malignen Melanoms bestimmenden Faktoren ist im Vergleich zu anderen Malignomen groß (74). Als relevante Kriterien für die Einschätzung des Metastasierungsrisikos im Einzelfall gelten heute Invasionstiefe (Level nach Clark (32)), Tumordicke und prognostischer Index (15).

1.4 Ziel der Arbeit

Zur Untersuchung des Immunstatus der zellulären Immunität gibt es unterschiedliche Hauttest - Methoden mit DNCB. Die in-vivo Testung des DNCB - Immunstatus durch Bestimmung der DNCB - Kontaktallergisierungszeit (DNCB-KAZ) und deren Anwendung an einem größeren Kollektiv von Patienten mit malignem Melanom wirft folgende Fragen auf:

1. DNCB-KAZ bei einem größeren Kollektiv von Patienten Mittelwert, Median, Streubreite, Minimum, Maximum; besteht eine Abhängigkeit von Alter und Geschlecht der Patienten?
2. Anwendung der DNCB-KAZ beim malignen Melanom: Immunstatus in Abhängigkeit von Melanomtyp, Stadium Prognose und Therapie.
3. Gibt es jahreszeitliche Schwankungen des DNCB-KAZ - Immunstatus?
Diese Frage stellte sich, nachdem bei der Auswertung signifikante Unterschiede zwischen Sommer- und Wintermonaten aufgefallen waren.
4. Welche Unterschiede bestehen zwischen DNCB-KAZ und herkömmlichen Verfahren zur Bestimmung des DNCB - Immunstatus? In welchem Verhältnis steht die DNCB-KAZ zur DNCB - Schwellentestung und welche Vorteile für die Quantifizierung des DNCB - Immunstatus ergeben sich aus der Messung der DNCB-KAZ?

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Patientengut

Die Untersuchungen wurden an 115 Patienten durchgeführt, die im Zeitraum von November 1980 bis März 1983 in der Dermatologischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München mit der Diagnose malignes Melanom behandelt wurden. Die DNCB-Sensibilisierung erfolgte im Mittel jeweils ca. 14 Tage nach der Exzision in Vollnarkose. In wenigen Ausnahmen wurde dieses Intervall unterschritten (z.B. 4 Tage nach Nachexzision). Bei 7 Patienten erfolgte die Sensibilisierung mehr als zwei Monate (drei bis acht Monate) nach der Operation. Das durchschnittliche Alter der Patienten betrug 50,8 Jahre, wobei zum Zeitpunkt der Sensibilisierung der jüngste Patient 19, der älteste 79 Jahre alt war. Das Geschlechtsverhältnis Männer/Frauen beträgt 46/69.

Nähere Angaben zur Diagnosegruppe, prognostischen Parametern und Therapie während der Zeit der Sensibilisierung gehen aus Tabelle 2 hervor.

Von den Melanom - Untergruppen war am stärksten das SSM* (54 Patienten = 47 %) und das NM* (48 Patienten = 41,7 %) vertreten. Die Überwiegende Mehrzahl der Patienten befand sich im Stadium I der Erkrankung (103 Patienten = 89,6 %). Bei 41 Patienten (= 35,7 %) lag eine zeitliche Überschneidung von DNCB-Testung und adjuvanten Immunchemotherapie mit DTIC und BCG vor. Es wurde angestrebt, die DNCB-Sensibilisierung vor Beginn der Chemotherapie zu beenden. 67 Patienten (= 58,3 %) standen entsprechend ihrem Stadium oder Metastasierungsrisiko nicht unter Chemotherapie (Tab. 2).

* siehe Abkürzungen, Seite III

	Absolut	Prozent
Anzahl	115	100
Geschlecht		
männlich	46	40
weiblich	69	60
Alter		
Durchschnitt	50,8	-
jüngster Patient	19 Jahre	-
ältester Patient	79 Jahre	-
Melanomtyp		
SSM	54	47
NM	48	41,7
ALM	4	3,5
LMM	3	2,6
andere (*)	6	5,2
Level (Eindringtiefe)		
II	10	8,7
III	40	34,8
IV	46	40
V	5	4,3
k.A.	14	12,2
Stadium		
Stadium I	103	89,6
Stadium II	8	7
Stadium III	4 (**)	3,5
Prognostischer Index		
niedriges Risiko	29	25,2
mittleres Risiko	46	40
hohes Risiko	21	18,3
k.A.	19	16,5

Therapie			
adjuvante Therapie			
DTIC und BCG	41		35,7
keine adjuvante			
Therapie	67		58,3
k.A.	7		6,1

Tabelle 2: Angaben über Geschlecht, Alter, Diagnoseaufschlüsselung und Therapie der Patienten. Abkürzungen s. Abkürzungsverzeichnis, Seite III

- (*) histologische "nicht klassifizierbares" Melanom bzw.
keine Angabe über Primärtumor bei Stadium II
- (**) bei 2 dieser 4 Patienten handelte es sich um Hautmetastasen bei unbekanntem Primärtumor
- k.A. = keine Angabe, resultierend aus der Tatsache, daß die histologische Begutachtung im erstbehandelnden Haus vorgenommen worden war

2.2 Material und Methode

Sowohl zur Bestimmung der Kontaktallergisierungszeit, als auch bei der Schwellentestung wurden handelsübliche Al-Testpflaster verwendet (Al - Test, imeco, Södertälje, Schweden). Die Befestigung derselben erfolgte mit Fixomull®-stretch Pflaster der Firma Beiersdorf AG. DNCB wurde in Salbenform appliziert. Als Salbengrundlage diente Eucerin anhydricum. DNCB - Salbe folgender Konzentrationen wurde

verwendet: 2 %, 0,05 %, 0,04 %, 0,02 %, 0,01 %, 0,005 %, 0,002 % und 0,001 %. Zur praktikablen Handhabung der Salben dienten Einmalspritzen zu 5 ml und 20 ml der Firma Braun Melsungen AG. DNCB - Salbe 0,05 % wurde mit Hilfe von Tuberkulinspritzen appliziert.

Zur Sensibilisierung wurden rund 5 mg der 2 %igen DNCB - Salbe mittels Al - Testpflaser meist an der linken Oberarmaußenseite appliziert. Das entspricht 0,1 mg DNCB pro Al - Testpflaser - Feld. Dieses Pflaster mit der 2 %igen DNCB - Salbe verblieb für 2 Tage auf derselben Stelle. Danach wurde es entfernt und durch ein Pflaster mit 0,05 %iger DNCB - Salbe am homolateralen Unterarm (Beugeseite) ersetzt. Den Patienten wurden nun 0,05 %ige DNCB - Salbe in einer Tuberkulinspritze sowie eine ausreichende Anzahl von Testpflastern mitgegeben, mit dem Auftrag, die DNCB - Salbe nicht abzuwaschen und jeden Tag am Applikationsort zu erneuern. Die Patienten waren angewiesen, das Volumen des Salbenstranges in etwa der Größe eines Glassstecknadelkopfes anzupassen. Das erste Auftreten einer lokalen Reaktion mit dem Datum notiert. Die Beendigung der DNCB - Applikation bei Auftreten einer deutlichen Rötung der Haut am Auftragsort und umgehende Wiedervorstellung zur Beurteilung und Protokollierung der Reaktion wurde den Patienten ausdrücklich aufgetragen. Zusätzlich erhielten die Patienten Anweisungen: ein Merkblatt zur DNCB - Anwendung mit Hinweisen auf notwendige Vorsichtsmaßnahmen im Umgang mit dieser Substanz (siehe Anlage).

Die Terminierung der Schwellentestung geht aus Abbildung 3 hervor. Bei 74 der 115 Patienten führten wir zusätzlich eine DNCB - Schwellentestung im Anschluß an die erfolgte Sensibilisierung durch. Abhängig vom Zeitpunkt des Wiedererscheinens der Patienten nach Auftreten der lokalen Reaktion (= Zeitpunkt eingetretener Sensibilisierung) vergingen bis zur Schwellentestung 0 bis 6 Tage, bei zwei Patienten 11 bzw. 12 Tage. Die Kontaktallergisierungszeit (DNCB-KAZ) ergab sich aus der Zeit seit der ersten DNCB - Applikation bis zum Auftreten der kontaktallergischen Reaktion. Die Bewertung der lokalen Reaktion wurde nach üblichen Kriterien für Epikutantests (7) durchgeführt.

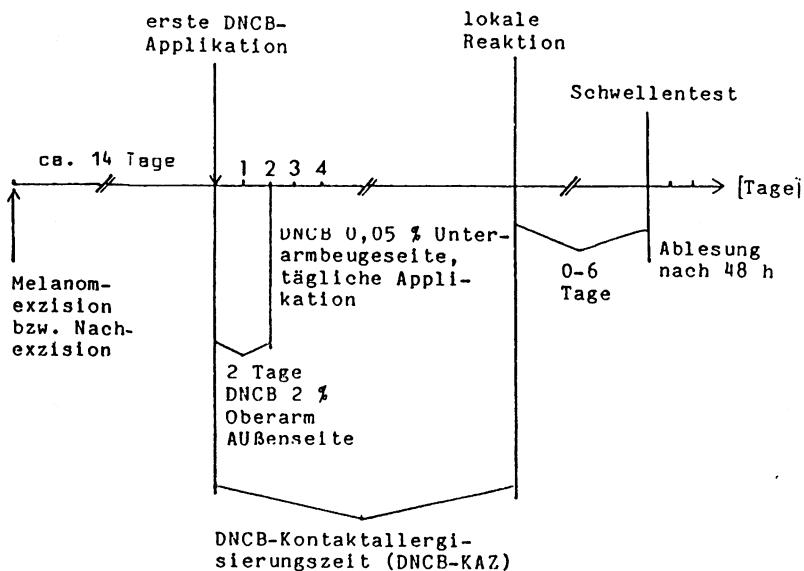


Abbildung 3: Zeitlicher Verlauf von Sensibilisierung und Schwellentestung

Zur Schwellentestung wurden absteigende Konzentrationen DNCB-Salbe (0,04 %, 0,02 %, 0,01 %, 0,005 %, 0,002 %, 0,001 %) mit Al - Testpflaser am Unterarm aufgebracht und markiert. Die Ablesung erfolgte nach 48 Stunden nach den üblichen Kriterien für Epikutantests (7). Die Schwellenkonzentration wurde jeweils als niedrigste eindeutig positiv gewertete Reaktion angegeben.

Bei den Meßwerten für Temperatur, Luftfeuchte und Global-Lichteinstrahlung handelt es sich um Monatsmittelwerte der Monate 8/80 bis 3/83. Sie wurden vom Wetteramt München an den Meßorten München-Riem und Hohenpeißenberg ermittelt und freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte im Rechenzentrum des Instituts für Biomathematik unter Verwendung von Programmen des Department of Biomathematics der University of California, Los Angeles (BMDP - Programme (38)).

3 ERGEBNISSE

3.1 Kontaktallergisierungszeit (DNCB-KAZ)

3.1.1 Häufigkeitsverteilung der DNCB-KAZ

Bei der statistischen Auswertung der Sensibilisierungszeiten ergab sich ein Mittelwert von 13,9 ($\pm 8,7$) Tagen. Der Median lag bei 11,5 Tagen. Die kürzeste Allergisierungsdauer betrug 6 Tage, die längste lag bei 62 Tagen. Die Häufigkeit der einzelnen aufgetretenen Werte geht aus Tabelle 3 hervor. Die Verteilung der DNCB-KAZ Werte ist auf Abbildung 4 zu sehen.

DNCB-KAZ (Tage)	6	7	8	9	10	11	12
Häufigkeit absolut	2	1	9	12	21	14	15
relativ (%)	1,7	0,9	7,8	10,4	18,3	12,2	13,0

13	14	15	16	17	18	19	22,23,25,26 27,30,31,36 49,58,62
3	7	4	6	5	3	2	jeweils 1
2,6	6,1	3,5	5,2	4,6	2,6	1,7	zus. 9,6

Tabelle 3: Aufgetretene Allergisierungszeiten und ihre Häufigkeit (absolut und relativ)

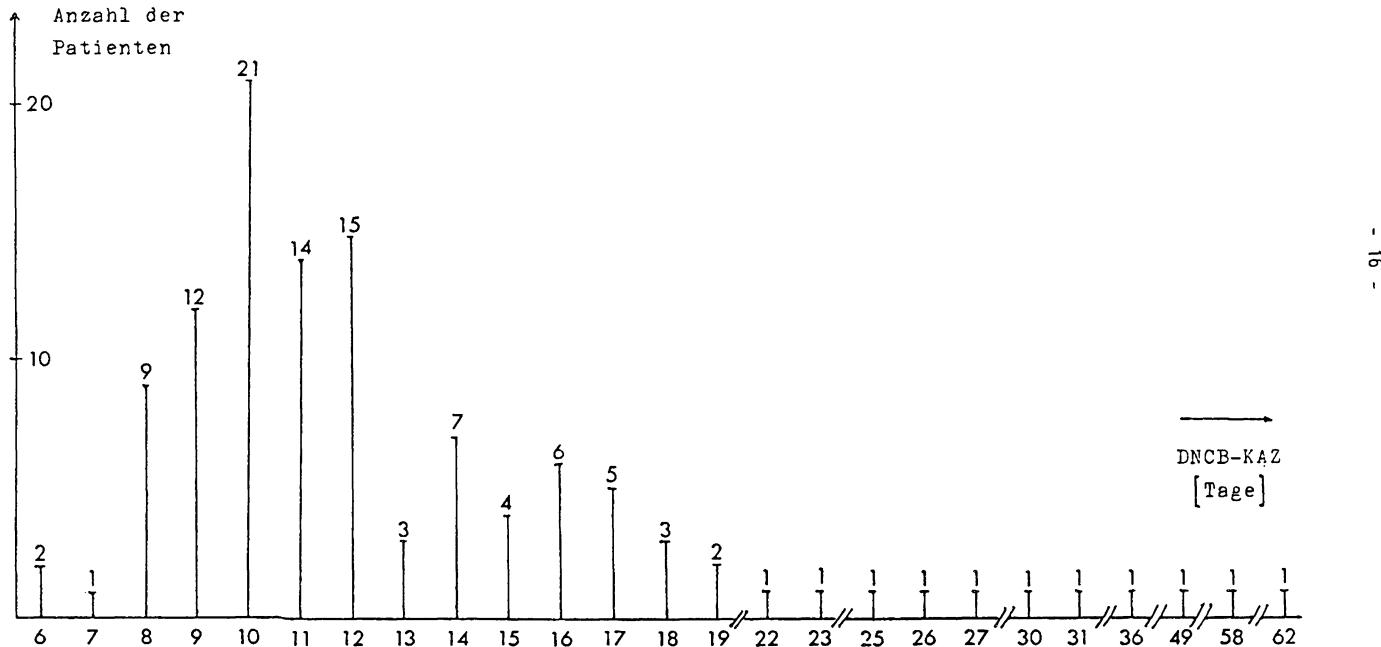


Abbildung 4: Graphische Darstellung der Verteilung der D N C B - K A Z Werte

3.1.2 Altersabhängigkeit der DNCB-KAZ

Zur Untersuchung der Abhängigkeit der DNCB-KAZ Ergebnisse vom Alter der Patienten wurde die Berechnung der Regression beider Parameter vorgenommen (Abb. 5). Für die 115 Patienten ergab sich bei dieser Regressionsberechnung eine Korrelation der Variablen DNCB-KAZ und Alter. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,25. Diese Abhängigkeit ist statistisch signifikant ($p < 0,01$ für $n=115$). Als formelmäßiger Zusammenhang zwischen DNCB-KAZ und Alter der Patienten lässt sich somit angeben:

$$\text{DNCB-KAZ [Tage]} = \text{Alter [Jahre]} \times 0,165 + 6 \text{ [Tage]}$$

Für das mittlere Alter des Patientenkollektivs von 50,8 Jahren gilt ein mittlerer DNCB-KAZ Wert von 13,9 Tagen. Zur Beurteilung und zum Vergleich von Untergruppen (Diagnose Prognose, Therapie) im Hinblick auf ihre Immun-situation ist es also von Wichtigkeit, auch die Altersver-teilung der einzelnen Kollektive zu berücksichtigen.

3.1.3 Geschlechtsabhängigkeit der DNCB-KAZ

Die Berechnung der mittleren DNCB-KAZ für die männlichen Patienten ergab 14,1 Tage gegenüber 13,8 Tagen für die weiblichen Patienten. Das Durchschnittsalter der männlichen Patienten lag bei 52,9 Jahren, das der weiblichen bei 49,3 Jahren (Tab. 4). Der Unterschied ist gering und statistisch nicht signifikant. Eine Abhängigkeit der DNCB-KAZ vom Geschlecht der Patienten konnte also nicht gefunden werden.

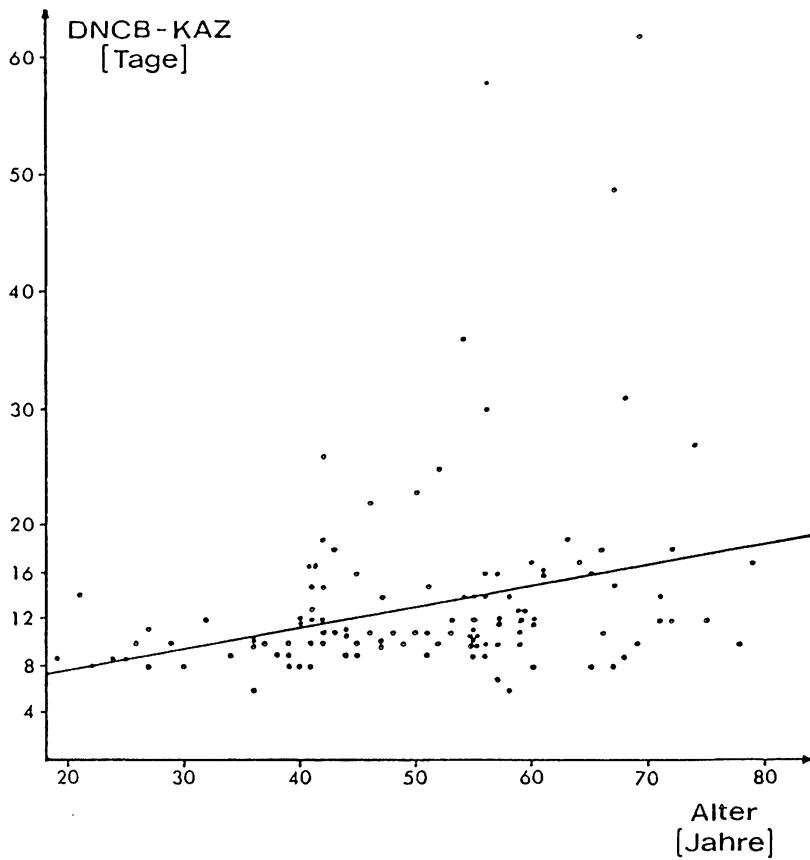


Abbildung 5: Altersabhängigkeit der DNCB-KAZ nach Regression und Darstellung der Regressionsgeraden DNCB-KAZ / Alter (Berechnung nach (38))

Geschlecht	männlich	weiblich
Patientenzahl	46	69
mittlere DNCB-KAZ (Tage)	14,1	13,8
Standardab- weichung (Tage)	± 8,7	± 8,3
kürzeste DNCB-KAZ (Tage)	6	6
längste DNCB-KAZ (Tage)	58	62
Altersdurch- schnitt (Jahre)	52,9	49,3

Tabelle 4: Gegenüberstellung der DNBK-KAZ Werte männlicher und weiblicher Patienten: eine Geschlechtsabhängigkeit der DNBK-KAZ besteht nicht

3.2 DNBK-KAZ Immunstatus und malignes Melanom

3.2.1 Melanomtyp und DNBK-KAZ

Zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Melanomtyp und DNBK-KAZ erfolgte eine Einteilung der Patienten nach Diagnosen (Tab. 5). Für jede dieser Gruppen wurde der Mittelwert der DNBK-KAZ berechnet. Patienten mit superfiziell

Melanom-Diagnose	SSM	NM	ALM	LMM	andere (*)
mittlere DNCB-KAZ (Tage)	14,4	13,6	10,0	23,3	10,7
Standardabweichung (Tage)	± 8,2	± 8,7	± 1,6	± 22,2	± 2,8
kleinste DNCB-KAZ (Tage)	6	6	8	10	8
größte DNCB-KAZ (Tage)	58	62	12	49	16
Patientenzahl	54	48	4	3	6
Altersdurchschnitt (Jahre)	53,5	47,7	51,3	58,7	46,8

Tabelle 5: DNCB-KAZ Werte und Altersdurchschnitt von Patientengruppen mit unterschiedlichen Melanomtypen (Abkürzungen s. Abkürzungsverzeichnis)

(*) = nicht eindeutig klassifizierbares Melanom oder unbekannter Primärtumor bei Stadium II oder III

spreitendem Melanom hatten eine mittlere DNCB-KAZ von 14,4 Tagen, Patienten mit nodulärem Melanom 13,6 Tage (Tab. 5). Größere Unterschiede zeigten sich zwischen Patientern mit akrolentiginösem Melanom (10,0 Tage) und Patienten mit *Lentigo maligna* Melanom (23,3 Tage) sowie mit der Gruppe, die keinem dieser Melanomtypen zugeordnet werden konnte (10,7 Tage).

Diese Unterschiede der verschiedenen Gruppen folgen in ihrer Tendenz den Mittelwerten für das Alter (Tab. 5) und sind nicht statistisch signifikant.

3.2.2 Melanom – Stadium und DNCB-KAZ

Acht Patienten befanden sich zum Zeitpunkt der DNCB – Sensibilisierung im Stadium II der Melanomerkkrankung, 4 Patienten im Stadium III (Tab. 2 und 6). Die DNCB-KAZ Werte sind mit 13,8 und 12,5 Tagen dem Wert für Stadium I (13,9 Tage) sehr nahe und unterscheiden sich nur unwesentlich. Eine Berechnung auf statistische Signifikanz erscheint bei der kleinen Fallzahl nicht sinnvoll (Tab. 6).

3.2.3 DNCB-KAZ und histologische Prognoseparameter

3.2.3.1 Eindringtiefe (Level)

Entsprechend den histologischen Eindringtiefen (Level nach Clark (32)) wurden die Mittelwerte der DNCB-KAZ gebildet (Tab. 7). Eine mit 17 Tagen verlängerte Allergisierungszeit fiel bei Patienten mit Level II auf. Bei Level V war die DNCB-KAZ relativ kurz: 11,6 Tage. Level II und V haben geringe Fallzahlen. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Level – Gruppen sind nicht statistisch signifikant.

Melanom-stadium	I	II	III
Patienten-zahl	103	8	4
mittlere DNCB-KAZ (Tage)	13,9	13,8	12,5
Standardab-weichung (Tage)	± 8,7	± 5,3	± 2,5
kürzeste DNCB-KAZ (Tage)	6	9	10
längste DNCB-KAZ (Tage)	62	25	16
Altersdurch-schnitt (Jahre)	51,2	46,6	51,1

Tabelle 6: DNCB-KAZ - und Altersdurchschnittswerte von Patienten verschiedener Melanom-Stadien

3.2.3.2 Prognostischer Index (PI)

Nach dem histopathologischen Prognoseparameter "Prognostischer Index" (Produkt aus Mitosenzahl und Tumordicke (122)) ergeben sich drei Gruppen: niedriges (PI = 0-1), mittleres (PI = 1,1-13) und hohes Metastasierungsrisiko wies eine geringfügig längere Kontaktallergisierungszeit auf (14,9 Tage) als die Patientengruppe mit niedrigem (13,9 Tage) und hohem (13,7 Tage) Metastasierungsrisiko (Tab. 8). Dieser sehr geringe Unterschied ist statistisch nicht signifikant.

Eindringtiefe (Level n. Clark)	II	III	IV	V	(*) k.A.
mittlere DNCB-KAZ (Tage)	13,6	17,0	12,7	11,6	10,4
Standardabwei- chung (Tage)	± 6,5	± 12,7	± 5,0	± 1,7	± 3,2
kleinste DNCB-KAZ (Tage)	8	8	6	10	6
längste DNCB-KAZ	30	62	31	14	17
Patienten- zahl	10	40	46	5	14
mittleres Alter (Jahre)	56,0	52,4	50,5	51,0	43,6

Tabelle 7: DNCB-KAZ Werte von Patientengruppen mit unter-
schiedlichen Levels (Eindringtiefe nach Clark (32))

3.2.4 Einfluß der Therapie auf die DNCB-KAZ

Patienten, welche kurz vor oder während der Sensibilisierung mit DNCB unter adjuvanter Immunchemotherapie (Dacarbazine und BCG) standen, hatten eine durchschnittliche Allergisierungszeit von 14,8 Tagen (Tab. 2 und Tab. 9). Das ist ein Tag mehr als die mittlere DNCB-KAZ der Patienten ohne zytostatische Behandlung (13,8 Tage) und 3,1 Tage länger als die DNCB-KAZ

(*) = keine Angabe bei Patienten im Stadium II oder Erstbehandlung auswärts

Prognostischer Index: Metastasierungsrisiko	niedrig PI = 0-1	mittel PI = 1,1-13	hoch PI 13	(*) k.A.
mittlere DNCB-KAZ (Tage)	13,9	14,9	13,7	12,0
Standardabweichung (Tage)	± 10,4	± 10,1	± 5,5	± 3,6
kürzeste DNCB-KAZ (Tage)	8	6	9	6
längste DNCB-KAZ (Tage)	62	58	31	18
Patientenzahl	29	46	21	19
mittleres Alter (Jahre)	51,3	48,2	55,8	50,6

Tabelle 8: DNCB-KAZ Werte und Durchschnittsalter in Bezug zum Metastasierungsrisiko laut Prognostischem Index (124)

(*) = keine Angabe bei Patienten im Stadium II oder Erstbehandlung auswärts

der Patienten, für welche Zeitpunkt oder Art der Therapie aus den Krankenblättern nicht eindeutig hervorging (Tab. 9). Keiner dieser Unterschiede ist statistisch signifikant.

Therapie	zyto- statisch	nicht zyto- statisch	keine (*) Angabe
mittlere DNCB-KAZ (Tage)	14,8	13,8	10,7
Standardab- weichung (Tage)	± 10,4	± 7,8	± 3,8
kürzeste DNCB-KAZ (Tage)	6	8	6
längste DNCB-KAZ (Tage)	58	62	17
Patientenzahl	41	67	7
mittleres Alter (Jahre)	50,6	50,8	52,4

Tabelle 9: DNCB-KAZ Werte und Durchschnittsalter von
Patienten mit und ohne Chemotherapie

(*) Angabe über Zeitpunkt oder Art der Therapie
unvollständig bzw. unklar.

3.3 Zusammenhang zwischen DNCB-KAZ und Jahreszeit

Bei der Auswertung der DNCB-KAZ Ergebnisse fiel eine jahres-
zeitliche Schwankung auf: in den Wintermonaten war die Aller-
gisierungszeit im allgemeinen kürzer als in den Sommermona-
ten. Daraufhin erfolgte eine genauere Auswertung des Zusam-
menhangs von jahreszeitlich variablen Größen (Temperatur,
relative Luftfeuchte und Lichteinstrahlung) und der DNCB-KAZ.

Die gemessenen Werte wurden im Freien bestimmt. Von einer hypothetischen mittelbaren Wirkung der klimatischen Faktoren auf den Organismus wurde ausgegangen, auch wenn die Patienten nicht unmittelbar im Freien dem Wechsel von Außentemperatur, Luftfeuchte und Lichteinstrahlung ausgesetzt waren.

Für je zwei Monate wurde ein DNCB-KAZ Mittelwert gebildet: mit 11,4 Tagen fiel die DNCB-KAZ im Januar und Februar am kürzesten, mit 15 Tagen im September und Oktober am längsten aus (Abb. 6).

Für die statistische Auswertung wurden aktuelle, d.h. im Monat der Sensibilisierung vorherrschende Temperatur-, Feuchtigkeits- und Lichtwerte auf einer speziellen Datei jedem einzelnen DNCB-KAZ Wert zugeteilt. Zusätzlich erfolgte die Zuordnung der Werte ein, zwei und drei Monate vor dem Sensibilisierungsmonat, da aufgrund einer vorläufigen graphischen Darstellung mit einer Phasenverschiebung zu rechnen war. Die statistische Prüfung des Zusammenhangs zwischen DCNB-KAZ und jahreszeitabhängigen Parametern erfolgte wiederum durch Berechnung von Regression und Korrelationskoeffizient. Tabelle 10 gibt eine Übersicht über die dabei aufgetretenen Korrelationen und statistischen Signifikanzen.

Zwischen der Altersverteilung und der Jahreszeitabhängigkeit besteht kein Zusammenhang. Das mittlere Alter der Patienten in allen untersuchten Monaten ist nahezu identisch. Der Einflußfaktor "Alter" spielt somit für das Zustandekommen der jahreszeitlichen Schwankungen der DNCB-KAZ keine Rolle.

Temperatur/Luftfeuchte/Lichteinstrahlung

	"aktuell"	1 Monat vorher	2 Monate vorher	3 Monate vorher
Korrelationskoeffizient Temperatur/DNCB-KAZ	0,21	0,30	0,30	0,24
statistische Signifikanz ($p < 0,01$)	nein	ja	ja	ja
Korrelationskoeffizient Luftfeuchte/DNCB-KAZ	-0,07	-0,11	0,23	-0,25
statistische Signifikanz ($p < 0,01$)	nein	nein	nein	ja
Korrelationskoeffizient Lichteinstrahlung/DNCB-KAZ	0,08	0,24	0,30	0,29
statistische Signifikanz ($p < 0,01$)	nein	ja	ja	ja

Tabelle 10: Korrelation zwischen den jahreszeitabhangigen Größen Temperatur, relative Luftfeuchte und Lichteinstrahlung (Globalstrahlung) und den DNBKAZ Werten: Phasenverschiebung um ein bis drei Monate

3.3.1 Temperatur und DNBKAZ

Das Monatsmittel der Tagesdurchschnittstemperaturen in Grad Celsius (gemessen in München-Riem) diente als Bezugsgröße. Die besten Korrelationen zwischen DNBKAZ und Temperatur ergaben sich mit den Werten ein und zwei Monate von Sensibilisierung (Tab. 10). Abbildung 7 zeigt die Regressionsgerade DNBKAZ / Temperatur 2 Monate vor Sensibilisierung.

3.3.2 Luftfeuchte und DNCB-KAZ

In gleicher Weise wie zur Temperatur wurde die DNCB-KAZ auch zum Monatsmittel der relativen Luftfeuchte in Beziehung gesetzt. Als Bezugsgröße dienten hier Monatsmittelwerte der relativen Luftfeuchte (in %), Meßort München-Riem. Die Korrelation geht wiederum aus Tabelle 10 hervor. Der Regressionsrechnung zufolge besteht die eindeutigste Korrelation mit der Feuchte drei Monate vor Sensibilisierung (Abb. 8).

3.3.3 Lichtexposition und DNBK-KAZ

Bei den Meßwerten für die Lichteinstrahlung handelt es sich um Messungen der Globalstrahlung in Joule/cm², Meßort Hohenpeissenberg. Als Zusammenhang ergab sich: je höher die Globalsstrahlung, desto länger die DNBK-KAZ (Tab. 10, Abb. 9).

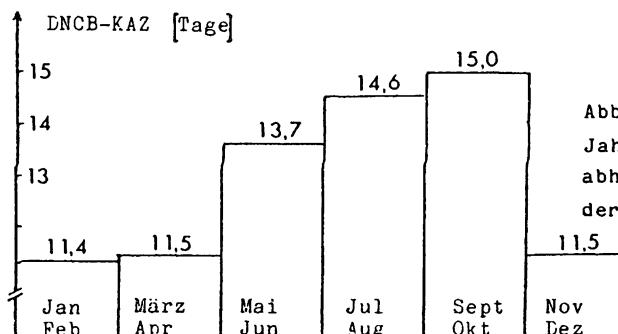


Abbildung 6:
Jahreszeit-
abhängigkeit
der DNBK-KAZ

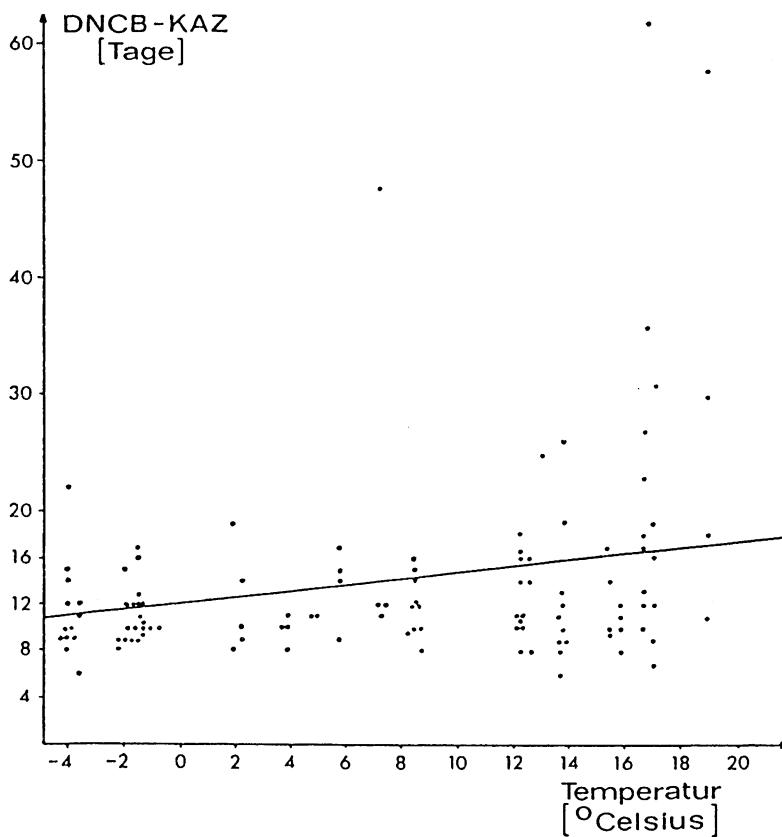


Abbildung 7: Temperaturabhängigkeit der DNCB-KAZ: der Korrelationskoeffizient DNCB-KAZ / Monatsdurchschnittstemperatur (2 Monate vor Sensibilisierung) beträgt 0,30. Je niedriger die Temperatur, desto kürzer die DNCB-KAZ; Regressionsrechnung nach (38)

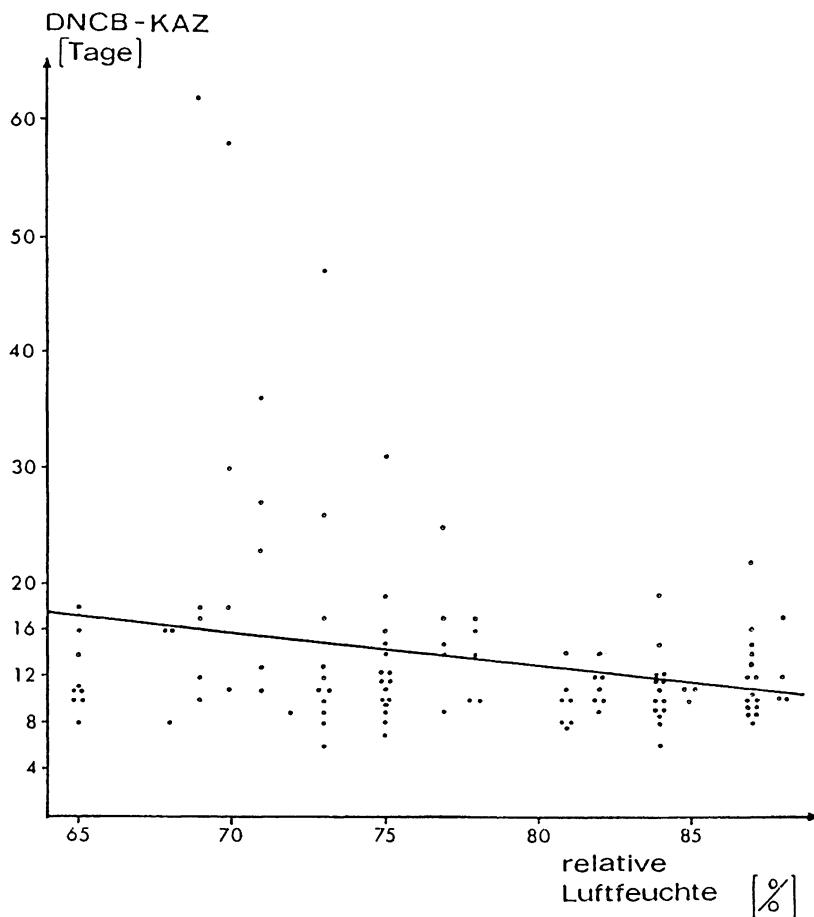


Abbildung 8: Abhängigkeit der DNCB-KAZ von der mittleren relativen Luftfeuchte; der Korrelationskoeffizient DNCB-KAZ / mittlere relative Luftfeuchte (3 Monate vor Sensibilisierung) beträgt -0,25. Je höher die Feuchte, desto niedriger die Allergisierungszeit; Regressionsrechnung nach (38)

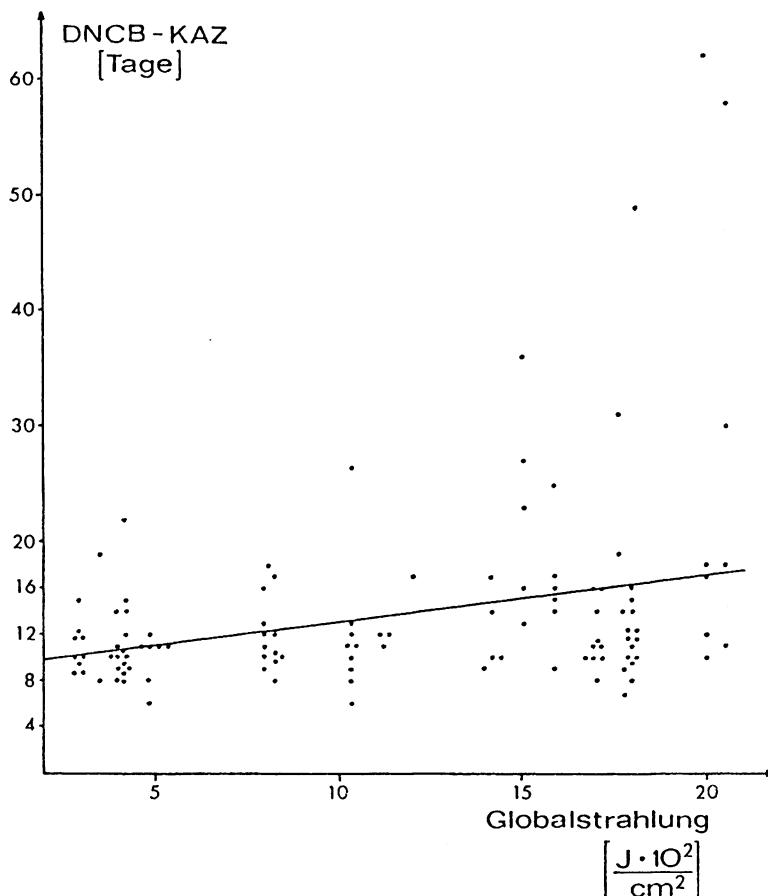


Abbildung 9: DNCB-KAZ und Lichteinstrahlung der Korrelationskoeffizient DNCB-KAZ / Sonnenlicht - Globalstrahlung 2 Monate vor Sensibilisierung beträgt 0,30. Je größer die Lichteinstrahlung, desto länger die DNCB-KAZ; Regressionsrechnung nach (38)

3.4 Vergleich von DNCB-KAZ und DNCB Schwellentestung

Von 74 getesteten Patienten zeigten zwei bei keiner der Schwellenkonzentrationen eine eindeutig positive Reaktion (trotz lokaler Reaktion in der Sensibilisierungsphase). 72 Patienten reagierten im Schwellentest positiv, 16 davon bei 0,04 % DNCB, 13 bei 0,02 %, 20 bei 0,01 %, 11 bei 0,005 %, 11 bei 0,002 % und 1 Patient bei 0,001 % DNCB (Tab. 11).

Wegen geringer Fallzahlen bei den niedrigen Schwellenkonzentrationen wurden für die weitere Auswertung die "empfindlichen" Patienten, welche bei 0,005, 0,002 und 0,001 % DNCB reagiert hatten, in eine Gruppe zusammengefaßt.

Schwellenkonzentration (DNCB)	Anzahl absolut	Häufigkeit relativ
0,04 %	16	21,6 %
0,02 %	13	17,6 %
0,01 %	20	27,0 %
0,005 %	11	14,9 %
0,002 %	11	14,9 %
0,001 %	1	1,3 %
"keine positive Reaktion"	2	2,7 %
Summe	74	100,0 %

Tabelle 11: Häufigkeiten der einzelnen Schwellenkonzentrationen bei der Schwellentestung mit DNCB

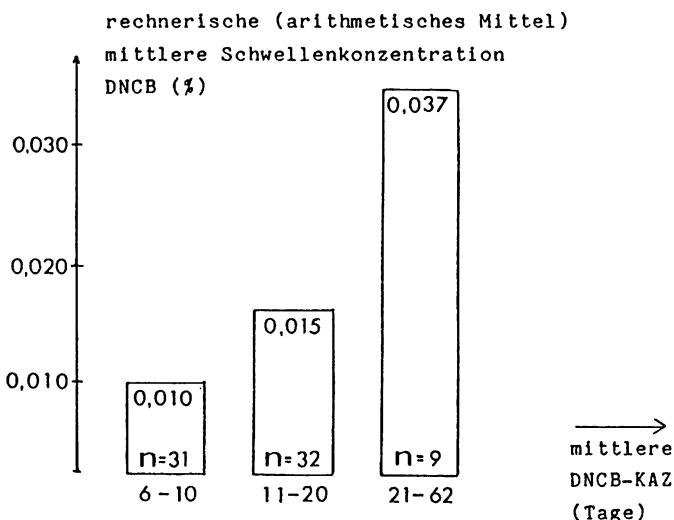


Abbildung 10: Schwellenkonzentration in Abhängigkeit von der DNCB-KAZ: Aus den tatsächlichen getesteten Konzentrationen errechnete Werte: Die DNCB-KAZ Gruppen unterscheiden sich nicht bezüglich Alter und Jahreszeit

Zur Beurteilung des Zusammenhangs von DNCB-KAZ und Schwellentestung erfolgte eine Einteilung der Patienten in drei Gruppen nach DNCB-KAZ Werten: 6 bis 10 Tage, 11 bis 20 Tage und 21 bis 62 Tage (Abb. 10). Für jede der drei Gruppen wurde daraufhin eine mittlere Schwellenkonzentration rechnerisch ermittelt: 0,010 %, 0,015 % und 0,037 % DNCB. Die Unterschiede sind statistisch signifikant mit $p < 0,05$ (für 0,010 % / 0,015 %) und $p < 0,01$ (für 0,015 % gegenüber 0,037 %) nach dem Brown-Forsythe Test für ungleiche Varianzen (38).

Umgekehrt wurde auch die mittlere DNCB-KAZ aller Patienten mit jeweils derselben Schwellenempfindlichkeit berechnet (Abb. 11). Ein deutlicher und statistisch signifikanter Unterschied ließ sich hier zwischen den Schwellenkonzentrationen 0,04 % (24,4 Tage DNCB-KAZ) und 0,02 % (12,2 Tage DNCB-KAZ) feststellen ($p < 0,01$ nach dem Brown-Forsythe Test für ungleiche Varianzen (38)). Alle anderen Schwellenkonzentrationen zeigten nahezu gleiche mittlere Kontaktallergisierungszeiten (Abb. 11).

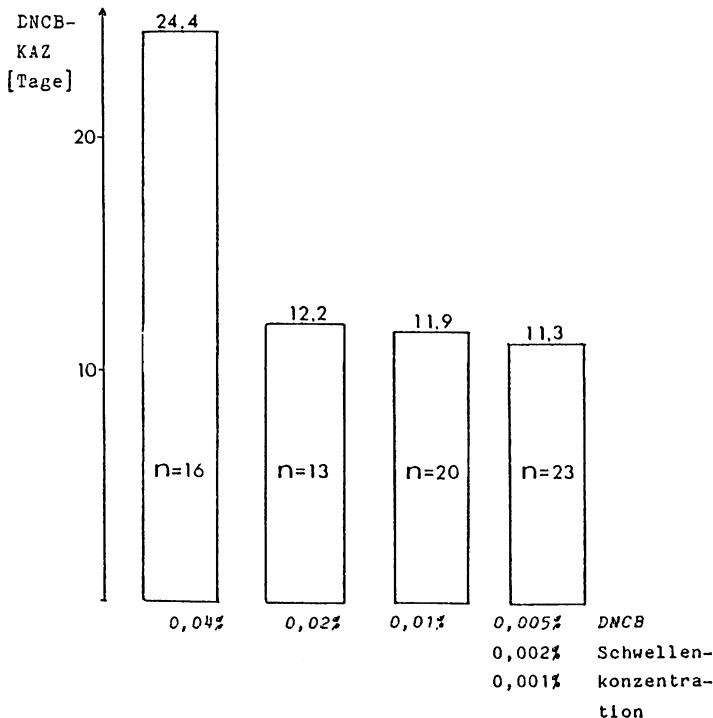


Abbildung 11: Mittlere DNCB-KAZ von Patientengruppen mit jeweils gleicher Schwellenkonzentration

4. DISKUSSION

4.1 Kontaktallergisierungzeit (DNCB-KAZ)

4.1.1 Sensibilisierungsphase und kontaktallergische Reaktion

Die von Burg und Przybilla (111) beschriebene Bestimmung der DNCB - Kontaktallergisierungszeit ist eine Methode zur quantitativen Erfassung der DNCB - Sensibilisierbarkeit, bei welcher ein Hauptakzent auf der Zeitdauer des Sensibilisierungsvorganges liegt.

Andere Untersucher verwenden Methoden, bei welchen der Eintritt der Sensibilisierung durch den Versuch einer Auslösereaktion nach einem fixen Intervall überprüft wird. Tabelle 12 gibt eine Übersicht über einige der in der Literatur vorgeschlagenen Methoden. In manchen Studien wurden 14 Tage bis zur Auslösereaktion abgewartet (10,11, 43,44,45). Foussereau (53) und Friedmann (57) arbeiteten mit einem Intervall von 30 Tagen zwischen Applikation der Sensibilisierungsdosis und Auslösereaktion. Foussereau (53) wies in diesem Zusammenhang bereits auf die Wichtigkeit der Länge dieses Intervalls hin.

Die Ergebnisse von Minimaldauer (6 Tage) und Verteilung der Werte für die DNCB-KAZ stehen in gutem Einklang mit anderen in-vivo-, aber auch in-vitro - Versuchen am Menschen und am Versuchstier (Meerschweinchen, Maus). Die Arbeiten von Frey und Wenk (56) deuteten 1958 darauf hin, daß für die Sensibilisierungsphase beim Meerschweinchen eine Zeitdauer von mindestens 6 Tagen erforderlich ist,

Autor	Jahr	Patienten-zahl	DNCB-Applikation			Intervall- zwischen Sensibili-sierung und Auslöse-reaktion
			Sensibi-lisierung	Auslöse-reaktion	Technik (Sensibili-sierung)	
Bleumink et al.	1974 (11)	122	2 %	0,3 % 0,1 % 0,003 %	Azetonlösung Pinselung	14 Tage
Catalona et al.	1972 (30)	103	2 mg in Azeton	50 µg	Pinselung und Pflasterver-schluß für 24h	7-14 Tage spontanes "flare up"
Eilber/Morton (44)	1975	156	2 mg in Azeton	100, 50 25 und 12,5 µg	Azetonlösung Pinselung	14 Tage
Foussereau et al.	1975 (53)	61	10 %	1 % Patch	Azetonlösung Pinselung	30 Tage
Remy/Stuttgen (117)	1972	130	5 %	0,15 % in 70%igem Alkohol	Antrocknen Uhrglasver-band	14-20 Tage
Roses et al.	1979 (120)	182	20 %	0,03 % Patch	Azetonlösung Pinselung	14 Tage

Tabelle 12: DNCB-Immunstatus Testmethoden

für die Maus fand Maguire (96,97) eine Zeit von 5 bis 6 Tagen. Nach einmaliger Stimulation mit DNCB als Allergen beschrieben Magnusson und Kligman (95), daß beim Meerschweinchen der Sensibilisierungsgrad ein Maximum zwischen dem 9. und 14. Tag erreichte (DNCB-KAZ: Median 11,5, Mittel 13,9 Tage).

DNCB - Studien am Menschen in-vivo stehen sowohl mit der DNCB-KAZ Minimalzeit von 6 Tagen als auch mit der in den Ergebnissen beschriebenen Verteilung in Einklang. 1938 berichtete Haxthausen (73) von 15 DNCB - sensibilisierten Patienten. In den meisten Fällen trat die spontane Lokalreaktion nach 14 Tagen auf. Catalona (28,30) und Skog (126) berichteten ebenfalls von einer derartigen Reaktion 7 bis 14 Tage (bzw. 6 bis 24 Tage) nach Applikation der Sensibilisierungsdosis. Skog gab bereits eine durchschnittliche Sensibilisierungsdauer von 12,6 Tagen an (126). Erklärt wird dieses spontane "flare up" in der Literatur durch Allergenteste, welche am Applikationsort über mehrere Tage verbleiben und nach eingetretener Sensibilisierung zur kontaktallergischer Reaktion führen.

Auf die Zeitspanne der DNCB - Kontaktallergisierung gibt es auch in-vitro - Hinweise (37,102,112). Nach 6 bis 10 Tagen befinden sich nach Baer (6) genügend Effektorlymphozyten in der Haut, um eine Auslösereaktion zu vermitteln. Die Untersuchungen von Miller (102) mit menschlichen Leukozytenkulturen, welche auf zellgebundenes "DNCB - Antigen" reagierten, zeigten einen ersten Anstieg der Proliferation nach 6 Tagen. Das Maximum der in-vitro Reaktion auf "DNCB - Antigen" lag bei 14 Tagen, was dem Mittelwert der DNCB-KAZ entspricht.

Es fiel auf, daß bei einzelnen Personen die DNCB - Sensibilisierung erst nach drei und mehr Wochen abgeschlossen war. Dies kann möglicherweise auf eine Blockierung immunbiologischer Vorgänge bei der Sensibilisierung (afferenter, efferenter Schenkel, Antigenerkennung, Effektorzellproliferation) zurückgeführt werden. Dabei kann auch die Entstehung einer spezifischen Immuntoleranz durch Antiodiotyp-Autoantikörper eine Rolle spielen (80).

Zur Klärung dieser stark verlängerten Sensibilisierungszeit muß aber nicht notwendigerweise (nur) eine Funktionsbeeinträchtigung der zellulären Immunantwort herangezogen werden: auch lokale Faktoren wie Permeabilität und Dicke der Epidermis könnten für solche "Ausreißer" verantwortlich sein (95).

Die Ergebnisse von Johson (76) weisen darauf hin, daß eine fehlende (in diesem Zusammenhang: verspätete) DNCB - Reaktivität auch auf eine vorübergehende unspezifische Beeinträchtigung der Entzündungsreaktion eher zurückzuführen ist, als auf einen spezifischen Defekt der zellulären Immunantwort. Eine Aktivierung von Toleranz - Mechanismen ist ebenfalls denkbar (6,31).

Wenn andere Untersucher mit Sensibilisierungsmethoden, welche die Allergisierungszeit außer acht lassen (Tab. 12), bei einem bestimmten Prozentsatz der getesteten Patienten keine Reaktivität fanden, so mag das auch darin seine Erklärung haben, daß die Zeitdauer der Sensibilisierung länger gewesen wäre, als das Intervall zwischen der Erstapplikation von DNCB und dem Auslöseversuch (23,30,43,44).

Die Berücksichtigung der Dauer der Sensibilisierungsphase bei der Untersuchung des DNCB - Immunstatus ist somit wichtig. Sie trägt dazu bei, die in-vivo Beurteilung der zellulären Immunantwort - eine Reaktion, deren Komplexität in-vitro Studien oft auf Teillaspekte beschränkt - quantifizieren zu können.

4.1.2 Altersabhängigkeit der DNCB-KAZ

Die DNCB-KAZ zeigt eine lineare Korrelation mit dem Alter der Patienten. Eine Vielzahl vorliegender Studien weist auf Veränderungen der Immunantwort im Alter hin (in-vitro: 1,2,12,64,69,119,127,130,133, in-vivo: 3,21,55,106,119,131, im Tierversuch: 3,12,32,55, und beim Menschen 1,2,25,26,50, 59,69,119,127,132,133).

Die Ergebnisse der DNCB-KAZ geben erstmals einen Hinweis auf einen linearen Zusammenhang zwischen Alter und zellvermittelter Immunreaktion in-vivo. Roberts - Thomson et al. fanden bei älteren Patienten eine signifikant erniedrigte Lymphozytenproliferation nach Stimulation mit Phytohämagglutinin (119). Diese in-vitro Ergebnisse können mit der DNCB-KAZ in-vivo verifiziert werden. Außerdem kann dies als Hinweis auf die gute Empfindlichkeit und Quantifizierbarkeit des DNCB-KAZ - Immunstatus gesehen werden. Die Abnahme der Immunität mit dem Alter betrifft in erster Linie die tyhmusabhängigen Lymphozyten (106). Die proliferative Antwort von B-Lymphozyten zeigt keine signifikante Altersabhängigkeit (133). Übereinstimmung scheint in der Auffassung zu bestehen, daß altersgebundene Veränderungen im Immunsystem nicht die Zellzahlen, sondern Funktionen der Zellen und deren Interaktionen betreffen (21,105,106,119). Bösing - Schneider (12) und Callard (21) gingen auf die vermehrte Aktivität von Suppressorzellen im Alter ein.

Auf eine Altersabhängigkeit der allergischen Reaktion vom verzögerten Typ wies schon 1927 Freund hin (55). Bei Meerschweinchen beobachtete er eine Altersabhängigkeit der Tuberkulinreakтивität. Canetti (25) und Turk (131) konnten

dies auch beim Menschen nachweisen. Roberts - Thomson (119) fand einen Zusammenhang von Mortalität und Reaktion im Hauttest mit Recall - Antigenen bei alten Menschen.

Casavant (27) zeigte, daß die DNCB - Sensibilisierbarkeit bei über 70jährigen abnimmt. In einigen DNCB - Studien wurde die Altersverteilung der Patienten berücksichtigt, da die Ergebnisse auf eine Altersabhängigkeit der DNCB - Reaktion hinwiesen (57,111,120). Dagegen sind Ergebnisse von Untersuchungen, welche die Altersverteilung der Patientenkollektive außer acht lassen (23,43,76,100,117) mit Vorbehalt aufzunehmen.

4.1.3 Geschlechtsabhängigkeit der DNCB-KAZ

Die DNCB-KAZ Werte von Männern und Frauen unterscheiden sich höchstens gemäß dem unterschiedlichen Durchschnittsalter von 49,3 und 52,9 Jahren. Die Kontaktallergisierungszeit ist also nicht geschlechtsabhängig.

In-vitro Untersuchungen von Fournier (52) mit gemischter Lymphozytenreaktion schienen darauf hinzuweisen, daß die Lymphozyten älterer Frauen eine vergleichsweise stärkere Reaktion zeigen. Greenberg (64) fand, daß Lymphozyten HLA-B8 - positiver Frauen eine geringere Stimulierbarkeit zeigen als Lymphozyten männlicher Personen mit identischem HLA-Muster. Ein geschlechtsabhängiger Unterschied der Relation T - Lymphozyten / B - Lymphozyten scheint nicht zu bestehen.

In-vivo Studien der Kontaktallergie mit DNCB am Menschen (10,11) und am Meerschweinchen (95) zeigten keiner ge-

schlechtsspezifischen Unterschied. Dies stimmt mit den DNCB-KAZ Ergebnissen überein; ein Unterschied zwischen den Geschlechtern in der DNCB - Sensibilisierbarkeit besteht nicht. Dies wäre auch teleologisch nicht begründet.

4.2 DNCB-KAZ als Parameter des Immunstatus beim malignen Melanom

Die Untersuchungen der DNCB-KAZ beim malignen Melanom haben eine Korrelation zwischen histologischer Klassifikation, Level, prognostischem Index und der DNCB - Kontaktallergisierungszeit nicht erkennen lassen.

Es ist bekannt, daß immunologische Mechanismen gegen maligne entartete Zellen und gegen die Entwicklung von Neoplasien, speziell auch das maligne Melanom, wirksam sind (82). Patienten mit verschiedenen Immundefekt-Syndromen entwickeln mit signifikant gesteigerter Wahrscheinlichkeit Neoplasien (61,62,107). Es wurde vielfach gezeigt, daß sowohl Lymphozyten als auch Antikörper von Melanompatienten in vitro mit Melanomzellen reagieren können (75, 82,103,120).

Kokoschka und Micksche (82) haben zahlreiche klinische Beobachtungen zusammengestellt, die möglicherweise mit immunologischen Mechanismen erklärt werden müssen: Spontanregressionen, partielle Depigmentierungen im Primärtumor, Depigmentierungen fern vom Primärtumor und das Auftreten von Halo - Naevi.

Ob nun eine Immuninsuffizienz Ursache eines verstärkten Tumorwachstums oder die Folge eines bestehenden Tumors ist bleibt fraglich (18). Götz (61) vertritt die Meinung, daß Immuninsuffizienz sicher nicht gleichzusetzen sei mit dem onkogenen Prinzip. Daß die Immunogenität eines Tumors auch vom Immunstatus des Wirtsorganismus abhängen kann scheint eher einleuchtend (87,88).

Es ist weiterhin Gegenstand der Diskussion, ob Untersuchungen zur Beurteilung der zellulären Immunantwort (in vivo und in-vitro) eine Einschätzung von Prognose und klinischem Verlauf ermöglichen können.

In manchen Studien (27,39,44) wurde auf einen nachweisbaren Immundefekt im Frühstadium maligner Melanome hingewiesen. Mit der DNCB-KAZ Methode lassen sich diese Beobachtungen nicht bestätigen.

4.2.1 Melanomtyp und DNCB-KAZ

Entsprechend dem klinischen Erscheinungsbild und der histologischen Diagnose unterscheidet man verschiedene Melanomtypen (32,101). Dabei spielt auch die Ausbreitungsrichtung eine Rolle: Melanome mit biphasischem Wachstumsmuster wachsen zunächst horizontal. Zu dieser Gruppen gehören:

- Superfiziell spreitendes Melanom (SSM)
- Lentigo - maligna Melanom (LMM)
- Akrolentiginöses Melanom (ALM)

Ein primär vertikales, monphasisches Wachstumsmuster weist das noduläre Melanom (NM) auf.

Bei der Einteilung der getesteten Patienten nach verschiedenen Melanomtypen fiel auf, daß Patienten mit Lentigo maligna Melanom eine relativ lange durchschnittliche Allergisierungszeit benötigen. Dazu ist jedoch zu bemerken, daß die Patienten eine andere Altersverteilung zeigen als Patienten mit NM und SSM. Die verlängerte DNCB-KAZ erklärt sich also aus der beschriebenen Altersabhängigkeit durch das höhere Durchschnittsalter der Patienten mit LMM. Die etwas verkürzt scheinende DNCB-KAZ von ALM - Patienten ist statistisch nicht signifikant. Auch in anderen Arbeiten über DNCB - Reaktivität von Melanompatienten gibt es keine Angaben über unterschiedlichen Immunstatus bei verschiedenen Melanomtypen (23,120). Aus der Tatsache, daß die DNCB-KAZ verschiedener Melanomtypen keine signifikanten Unterschiede aufweist, kann geschlossen werden, daß die Bestimmung der Wachstumsrichtung nicht primär von einer nachweisbaren Immuninsuffizienz abhängt.

4.2.2 Melanomstadium und DNCB-KAZ

Der Verlauf der Melanomerkrankung wird in drei klinische Stadien eingeteilt (22,41,48):

- Stadium I : Es liegt nur der Primärtumor vor
 - Stadium II: Primärtumor und Befall regionärer Lymphknoten
 - Stadium III: Nachweisbare Fernmetastasierung
- Zwischen DNCB - Sensibilisierbarkeit und Melanomstadium fanden Eilber und Nizze (44) eine signifikante Korrelation. Einige Untersucher fanden unterschiedliche Sensibilisierbarkeit im Stadium I und Stadium II (10,117), andere wiesen auf derartige Unterschiede nur zwischen Frühstadium und Spätstadium (Stadium III) (23,81) hin. Einige in-vitro

Untersuchungen mit Lymphozytenstimulation gaben ebenfalls Hinweise auf eine Veränderung des Immunstatus entsprechend dem klinischen Melanomstadium (9,20,58). Gross (67), Pritchard (110) und Ehring (42) fanden dagegen keine signifikanten Unterschiede der DNCB - Reaktivität zwischen den einzelnen Melanomstadien. Knopf und Wätzig (81), die neben der DNCB - Sensibilisierung eine Reihe weiterer Immunstatus Parameter (in-vivo und in-vitro) untersuchten, kamen zu dem Ergebnis, daß weder zwischen Melanompatienten der Stadien I und II noch zwischen Melanompatienten und gesunden Kontrollpersonen ein Unterschied in der immunologischen Reaktionsbereitschaft nachzuweisen ist. Dies entspricht auch den Ergebnissen der DNCB-KAZ: Hinweise auf eine Veränderung des Immunstatus im Zusammenhang mit dem Übergang auf das nächsthöhere klinische Stadium konnten nicht bestätigt werden.

4.2.3 DNCB-KAZ und histologische Prognoseparameter

Als relevante histologische Kriterien für die Einschätzung des Metastasierungsrisikos gelten beim malignen Melanom Invasionsteife (Level nach Clark (32)), Tumordicke, mitotische Aktivität und prognostischer Index (15,122). Letzterer ist das Produkt aus Tumordicke und Anzahl der Mitosen. Die Einteilung der Levels (I bis V) entspricht einer histologischen Stadieneinteilung. Während bei Level I der Tumor noch intraepidermal liegt und die Basalmembran nicht durchbrochen ist sind bei Level V bereits Tumorzellen in der Subkutis zu finden. Zwischen dem prognostischen Index und dem klinischen Verlauf besteht eine hinreichend gute Korrelation. Wäre der klinische Verlauf des malignen Melanoms entscheidend (bzw. nur) vom Vorliegen einer abgeschwächten Immunantwort abhängig, so sollte man eine Korrelation des

Immunstatus mit diesem relativ sicheren Prognoseparameter erwarten. Ähnliches gilt für die Eindringtiefe. Die DNCB-KAZ Ergebnisse zeigen jedoch keine Korrelation zur Eindringtiefe und zum prognostischen Index.

Dieses Ergebnis steht wiederum in Einklang mit in-vivo DNCB-Studien (35,42,110) wie auch mit der in-vitro Untersuchung von Karavodin (77), der zu dem Schluß kam, daß die Quantifizierung von T-Zell-Subpopulationen keinen Hinweis auf die Prognose erbringt. Camacho et al. (23) hingegen haben bei der DNCB-Testung von Melanompatienten eine Korrelation des DNCB-Immunstatus mit dem Stadium gefunden, für das Stadium II sogar einen Zusammenhang mit der Prognose. In dieser Studie wurde ein Patient als DNCB - positiv betrachtet, wenn nach dem fixen Intervall von 14 Tagen eine Sensibilisierung eingetreten war, als DNCB - negativ, wenn dies nicht der Fall war. Eine Berücksichtigung der Altersverteilung der Patienten fand nicht statt.

4.2.4 Einfluß der Therapie auf die DNCB-KAZ

Die adjuvante Immunchemotherapie mit Dacarbazine (DTIC) und BCG wird entsprechend dem Stadium und der Prognose der Erkrankung angewendet. Die alkylierende Wirkung (82) von Dacarbazine könnte auch Zellen des Immunsystems beeinflussen. Die Anwendung einer BCG - Impfung hingegen hat die Stimulation der zellulären Immunantwort zum Ziel. Patienten mit adjuvanter Immunchemotherapie hatten eine mittlere DNCB-KAZ von 14,8 Tagen gegenüber 13,8 Tagen der nicht behandelten Patienten, wobei sich die beiden Kollektive nicht in ihrer Altersverteilung unterschieden. Der DNCB-KAZ Unterschied ist nicht statistisch signifikant.

Nach Landthaler (86) profitieren Melanompatienten im Stadium I mit niedrigem und mittlerem prognostischem Index nicht von der adjuvanten Immunchemotherapie. Mit der DNCB-KAZ ließ sich kein signifikanter Unterschied im Immunstatus nachweisen, so daß kein direkter Hinweis auf Erfolgsaussichten einer immunmodulierenden Therapie für diese Patientengruppe besteht.

Bei Patienten mit hohem prognostischen Index (Stadium I) waren die 3-Jahres-Überlebensraten der Gruppe mit adjuvanter Immunchemotherapie (Dacarbazine + BCG) besser (97 %) als die der Gruppe un behandelten Patienten bzw. der Patienten mit Therapieabbruch (68 %). Die Gruppe mit alleiniger BCG-Therapie nahm eine Mittelstellung ein (80 %). Ein Hinweis auf eine eingeschränkte DNCB-KAZ-Immunantwort liegt nicht vor. Es ist also möglich, daß der Therapieerfolg mehr auf der zytostatischen Therapie mit Dacarbazine als auf der Immunstimulation mit BCG beruht.

Penn (107), Magnusson (95) und andere (24,47,116) wiesen auf die Unterdrückung der zellgebundenen Immunität durch Alkylantien hin. Johnson (76) führte die fehlende DNCB-Sensibilisierbarkeit unter anderem auf Chemotherapeutika zurück. Andererseits wurde auch berichtet, die Chemo-therapie habe keinen (nachhaltigen) immunsuppressiven Effekt (118). Cyclophosphamid und Levamisol sollen sogar eine Steigerung der zellulären Immunantwort im Tierversuch (96) und beim Menschen (91) verursachen können. Dies kann Folge der Unterdrückung der Bildung von Antiidiotyp-Antikörpern mit Angriff an der Suppressor-Zellen sein (80).

4.3 Zusammenhang zwischen DNCB-KAZ und Jahreszeit

Die DNCB-KAZ Werte zeigten eine deutliche und statistisch signifikante Korrelation zu jahreszeitabhängigen Größen wie Umgebungstemperatur, relative Luftfeuchte und Lichteinstrahlung. Diese Korrelationen treten mit einer Latenz von ein bis drei Monaten gegenüber den genannten Umweltveränderungen am deutlichsten zutage (Phasenverschiebung, Tab. 10).

1931 beobachteten Mayer und Sulzberger (99), daß Meerschweinchen im Winter mit Neoarsphenamin und Ursol leichter sensibilisiert werden konnten als im Sommer. Baer und Hooton (4) fanden, daß die Kontaktsensibilisierung von Meerschweinchen mit Pentadecylkatechol im Winter deutlich stärker ausfiel als im Frühjahr und im Sommer. Dagegen berichtete Godfrey (60), daß die Sensibilisierung mit Dinitrophenyl - Thiocyanat von November bis Februar bei Meerschweinchen zu deutlich schwächerer Kontaktallergie führte als in den anderen Monaten.

Von Biorhythmen unterschiedlicher Periodizität wurde wiederholt in der Literatur berichtet: Zirkadianrhythmus (50,51, 63,79,109,115), Monatsrhythmus (50,63) und Jahresrhythmus (16,85,115,124). Brock (16) wies nach, daß bei Mäusen Biorhythmen der Lymphozytenproliferation mit Jahresperiodik auch unter konstanten Umgebungsbedingungen und ohne Zeitgeber persistieren. Mehrere Autoren berichteten über jahreszeitliche Schwankungen verschiedenster Parameter beim Menschen: Leukozyten, Immunglobuline, Plasmaproteine, Anti-A/B - Titer (124), Cortisol, Renin, Thyroxin sowie Aldosteron (85). Beim Menschen muß jedoch zunächst die Frage offenbleiben, ob es sich um endogene oder umgebungsabhängige

Schwankungen handelt. Immerhin scheint es eventuell dia-gnostisch oder therapeutisch von Wichtigkeit, festzustellen, daß solche Schwankungen bestehen, und mit Hilfe der DNCB-KAZ faßbar sind. Rockwell berichtetet 1955 über verstärkte DNCB-Sensibilisierung durch Umgebungsbedingungen (118): Kälte und Feuchte (40° Fahrenheit und 61 - 77 % Luftfeuchtigkeit) förderten die Kontakt-sensibilisierung bei Meerschweinchen.

Zahlreiche Faktoren müssen zur Erklärung der jahreszeitlichen Schwankungen der DNCB-KAZ diskutiert werden. Die Phasenverschiebung könnte dafür sprechen, daß nicht haupt-sächlich endogene Faktoren, sondern Einflußgrößen der Um-gebung, zur jahreszeitlichen Schwankung führen. Es ist z.B. denkbar, daß Temperatur und Luftfeuchte auf die Permeabili-tät der Haut Einfluß nehmen: das Antigen (bzw. Hapten) penetriert besser bei Okklusion durch Kleidung im Winter. Oder: die vermehrte Perspiration bei höheren Umgebungs-temperaturen behindert das Eindringen in die Haut.

Die längere DNCB-KAZ im Sommer kann auch im Zusammenhang mit der vielfach höheren Globalstrahlung (Sonnenlicht) stehen, die mit einer verstärkten Einstrahlung von UV-Licht gekoppelt ist. Streilein (129), Strauß (128), Baer (6) und einige andere Autoren (70,88,104) berichten von einer Hem-mung der DNCB - Sensibilisierbarkeit unter UV - Bestahlung. Patienten, welche mit Methoxypsoralen und UV - A behandelt wurden, zeigten eine signifikant geringere DNCB - Reakti-vität (104,128).

Geht man davon aus, daß durch UV - Licht eine funktionelle Beeinträchtigung der Langerhanszellen und damit der Antigen-präsentation induziert wird (6,129), so könnte dies eine Erklärung für die Korrelation zwischen Lichteinstrahlung und DNCB-KAZ ergeben. Die Latenzzeit ließe sich dann auf eine kumulative Wirkung der Lichteinstrahlung auf Langer-hanszellen schließen.

4.4 Vergleich von DNCB-KAZ und DNCB Schwellentestung

Zwischen den DNCB-KAZ Werten und den Ergebnissen der Schwellentestung besteht eine Korrelation, die interessanterweise nicht durchweg umkehrbar ist. Patienten mit kurzer Sensibilisierungszeit zeigten einen höheren Sensibilisierungsgrad in der Schwellentestung als Patienten mit langen Sensibilisierungszeiten. Andererseits war zwischen den fünf Schwellenkonzentrationen von 0,001 % bis 0,02 % DNCB (Faktor 20) kein Unterschied in der mittleren DNCB-KAZ festzustellen. Der Unterschied bestand aber zwischen den Schwellenkonzentrationen 0,02 % und 0,04 % (Faktor 2). Patienten, die im Schwellentest bei 0,04 % DNCB positiv reagierten hatten eine auffällig lange mittlere DNCB-KAZ von 24,4 Tagen gegenüber 12,2 Tagen bei 0,02 % DNCB. Die Interpretation dieser Ergebnisse gelingt, wenn man postuliert, daß Sensibilisierungsdauer und Sensibilisierungsgrad von unterschiedlichen Induktionsphasen abhängen, deren quantitatives Verhältnis zueinander variabel ist. Nach den Vorstellungen von Polak (108) ist die Sensibilisierungsdauer auf das Zusammenspiel von afferentem und efferentem Schenkel der zellulären Immunantwort zurückzuführen (Abb. 1 und 2), während der erreichte Sensibilisierungsgrad möglicherweise nur vom efferenten Schenkel abhängt. Mit anderen Worten: wie schnell genügend Effektorlymphozyten für eine Auslösereaktion gebildet werden zeigt die Kontaktallergieszeit. Wieviele Effektorlymphozyten zum Zeitpunkt des Auslöserversuchs (*Schwellentest*) in der Haut bereitstehen, um eine kontaktallergische Reaktion zu vermitteln, zeigt die Schwellenkonzentration.

Es ist vorstellbar, daß bei unbeeinträchtigtem Zusammenspiel beider Phasen der zellulären Immunantwort die Zeitdauer der Blastentransformation und die quantitative Pro-

liferation zu dem Ergebnis führen, daß sowohl eine "normale" DNCB-KAZ als auch eine niedrige Schwellenkonzentration gemessen wird: es besteht die beschriebene Relation zwischen DNCB-KAZ und Schwellenkonzentration. Es ist auch denkbar, daß bei der "schlechten" (hohen) Schwellenkonzentration von 0,04 % DNCB gehäuft eine gekoppelte Beeinträchtigung von afferentem und efferentem Schenkel der Immunantwort ange troffen wird: für die Patienten mit 0,04 % Schwellenkonzentration erklärt dies die lange mittlere DNCB-KAZ von 24,4 Tagen.

Besonders lange Sensibilisierungszeiten (die längste DNCB-KAZ betrug 62 Tage) können auch auf die vermehrte Wirksamkeit oder Anzahl von Suppressorzellen zurückzuführen sein (123).

Die fehlende Korrelation zwischen den anderen Schwellenkonzentrationen und der DNCB-KAZ erklärt sich dann so: die Zahl der bereitgestellten Effektorlymphozyten (afferenter Schenkel) unterscheidet sich bei Patienten mit unterschiedlichen Schwellenkonzentrationen während die Zeitdauer beider Phasen der Immunantwort im Normbereich liegt. Die DNCB-KAZ Werte der niedrigen Schwellenkonzentrationen unterschieden sich nicht.

Offenbar spiegeln DNCB-KAZ und Schwellentest verschiedene Phasen der zellulären Immunantwort wieder. Durch die zusätzliche Beachtung der Sensibilisierungszeit mit der DNCB-KAZ gewinnt die DNCB - Immunstatus Untersuchung an Quantifizierbarkeit und Aussagekraft.

5 ZUSAMMENFASSUNG

In der Literatur sind mehrfach Standardverfahren zur Ermittlung des 2,4-Dinitrochlorbenzol (DNCB) - Immunstatus beschrieben. Die Erzeugung einer Kontaktallergie mit dem hochpotenten Kontaktallergen DNCB dient der Testung der zellulären Immunantwort vom verzögerten Typ.

Die DNCB - Kontaktallergisierungszeit (DNCB-KAZ) ist eine neue Methode zur Testung des DNCB - Immunstatus, bei welcher der Hauptakzent auf der Messung der Zeit (in Tagen) liegt, die einzelne Personen benötigen, um nach dem Primärkontakt mit DNCB eine kontaktallergische Reaktion zu entwickeln. Dadurch wird eine bessere Quantifizierbarkeit DNCB - Immunstatus gegenüber der herkömmlichen DNCB - Schwellentestung angestrebt.

Angewendet wurde die DNCB-KAZ Methode an 115 Patienten mit der Diagnose malignes Melanom. Die Tests wurden im Zeitraum von November 1980 bis März 1983 durchgeführt. Bei 74 der 115 Patienten folgte nach eingetretener Sensibilisierung zusätzlich eine Schwellentestung.

Bei der DNCB-KAZ wird DNCB in Salbenform (Eucerin anhydricum) verwendet. Zur Sensibilisierung dienen die Konzentrationen 2 % (Applikation für 2 Tage, Oberarmaußenseite) und 0,05 % (tägliche Applikation, Unterarmbeugeseite) bis zum Auftreten der lokalen Reaktion als Sensibilisierungserfolg. Der Schwellentest ist ein Epikutantest mit niedrigen DNCB - Konzentrationen (in Stufen, von 0,001 % bis 0,04 %).

Die mittlere DNCB-KAZ lag bei 13,9 (\pm 8,7) Tagen, der Median bei 11,5 Tagen. Die minimale DNCB-KAZ betrug 6 Tage, die maximale 62 Tage. Es ergab sich eine statistisch signifi-

kante lineare Korrelation ($p < 0,01$) zwischen dem Alter der Patienten und der DNCB-KAZ nach folgender Regressionsformel:

$$\text{DNCB-KAZ [Tage]} = \text{Alter [Jahre]} \times 0,165 + 6 \text{ [Tage]}$$

Bisher bekannte Berichte über die Altersabhängigkeit der Immunantwort werden anhand dieses erstmals linear aufgetretenen Zusammenhangs diskutiert.

In der Anwendung auf das maligne Melanom zeigten sich für Gruppen von Patienten mit verschiedenen Melanomtypen, Stadien und verschiedener Prognose (Level, prognostischer Index) durchwegs keine statistisch signifikanten Unterschiede der DNCB-KAZ. Ein Immundefekt einzelner Gruppen konnte mit der DNCB-KAZ nicht nachgewiesen werden. Die in der Literatur beschriebene Beeinträchtigung des DNCB-Immunstatus von Patienten verschiedenener Melanomstadien wurde nicht bestätigt. In Zusammenschau mit Therapieergebnissen wird die fragliche Notwendigkeit einer immunstimulierenden Therapie mit BCG neu bedacht. Unter adjuvanter Immunchemotherapie (Dacarbazine und BCG) ergab sich keine signifikante Veränderung der DNCB-KAZ

Die DNCB-KAZ war in den Sommermonaten durchschnittlich länger als in den Wintermonaten. Eine statistisch signifikante Korrelation ($p < 0,01$) zu den jahreszeitabhängigen Größen Umgebungstemperatur, relative Luftfeuchte und Lichteinstrahlung (Sonnenlicht) besteht mit einer Latenz von einem bis drei Monaten. Das beschleunigte Eintreten der Kontaktallergie in den Wintermonaten sowie immunmodulierende Einflüsse der UV-Einwirkung werden in diesem Zusammenhang besprochen.

Patienten mit kurzer DNCB-KAZ hatten niedrigere Schwellenkonzentrationen als Patienten mit langer DNCB-KAZ. Patienten, die im Schwellentest nur auf die höchste Konzentration (0,04 % DNCB) längere DNCB-KAZ als Patienten mit niedrigen Schwellenkonzentrationen (12,2 Tage).

Es besteht ein deutlicher Hinweis darauf, daß mit beiden Methoden unterschiedliche Sequenzen der zellulären Immunantwort erfaßt werden. Eine bessere Quantifizierbarkeit des DNCB - Immunstatus ist mit der DNCB - KAZ zu erreichen.

6 LITERATURVERZEICHNIS

1. Adler, W.H., Nagel, J.E.: Studies on immune function in a human population. In: Immunological aspects of aging (ed: D. Segre, L. Smith), Marcel Dekker, Inc., New York-Basel, 1981
2. Augener, W., Cohnen, G., Reuter, A., Brittinger, G.: Decrease of T-Lymphocytes during ageing. Lancet, 1, 1164 (1974)
3. Baer, H., Bowser, R.T.: Antibody production and development of contact sensitivity in guinea pigs of various ages. Science 140, 1211-1216 (1963)
4. Baer, H. Hooton, M.: Effect of season of immunization on the induction of delayed contact sensisitivty in the guinea pig. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 51, 140-143 (1976)
5. Baer, R.L.: Allergic eczematous sensitization in man 1936 and 1964. J. Invest. Derm. 43, 223-229 (1964)
6. Baer, R.L., Gigli, I.: Überempfindlichkeit und Immun-toleranz bei Kontaktallergie. Hautarzt 33, 1-4 (1982)
7. Bandmann, H.J., Fregert, S.: Epicutantestung. Einführung in die Praxis, 2. Überarbeitete Auflage, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1982
8. Beyer, C., Taube, K.M.: Die Wirkung von DNCB auf Enzyme der Haut: vorläufige Mitteilung. Dermatol. Monatsschr. 167, 497-499 (1981)

9. Bickhardt, R., Kunze, I.: Beiträge zur immunologischen Reaktionsbereitschaft beim malignen Melanom. Z. Hautkr. 49/8, 315-333 (1974)
10. Bleumink, E., Nater, J.P.: DNCB reactivity in patients with skin carcinoma. Dermatologica 148, 44-46 (1974)
11. Bleumink, E., Nater, J.P., Schraffordt Koops, H., The, T.H.: A standard method for DNCB sensitization testing in patients with neoplasms. Cancer 33, 911-915 (1974)
12. Bösing-Schneider, R.: Age-related changes in nude spleen cell function. In: Immunology and Ageing (ed: N. Fabris), Martinus Nijhoff Publishers, The Hague-Boston-London 1982
13. Braun-Falco, O.: Maligne Melanome der Haut aus dermatologischer Sicht. Chirurg 45, 345-356 (1974)
14. Braun-Falco, O., Burg, G.: Histochemische und cytochemische Untersuchungen bei der allergischen DNCB - Kontaktdermatitis des Meerschweinchens. Arch. klin. exp. Derm. 239, 307-322 (1970)
15. Braun-Falco, O., Schmoekel, Ch.: Prognostische Parameter bei malignen Melanomen. Hautarzt 32, Suppl 5, 2-5 (1981)
16. Brock, M.A.: Seasonal rhythmicity in lymphocyte blastogenic responses of mice persists in a constant environment. J. Immunol. 130, 2586-2588, (Nr. 6, June 1983)

17. Burg, G., Braun-Falco, O.: 1-Chlor-2,4-dinitrobenzol (DNCB) - Salbe zur Sensibilisierung, Testung und Behandlung von Patienten mit malignem Melanom. *Deutsch. Med. Wochenschr.* 102, 210-211 (1977)
18. Burg, G., Rehle, T.: Immunological Work Up. In: *New Trends in Allergy* (ed: J. Ring, G. Burg), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1981
19. Burnet, F.M.: An immunological approach to ageing. *Lancet* 2, 358-360 (1970)
20. Bystryn, J.C.: The immunobiology of human malignant melanoma. *Int. J. Derm.* 19, 375-378 (1980)
21. Callard, R.E.: Aging of the immune system. In: *Handbook of Immunology in Aging* (ed: T. Makinodan, M.B. Kay Marguerite), Chemical Rubber Company Press, Los Angeles 1981
22. Callen, J.P.: Malignant Melanoma. *Arch. Dermatol.* 114, 369-370 (1978)
23. Camacho, E.S., Pinsky, C.M., Braun, D.W. Golbey, R.B. Fortner, J.G., Wanebo, H.J., Oettgen, H.F.: DNCB reactivity and prognosis in 419 patients with malignant melanoma. *Cancer* 47, 2446-2450 (1981)
24. Campbell, A.C., Hersey, P.: Effects of anti-cancer agents on immunological status. *Br. J. Cancer* 28, 254-261 (1973)

25. Canetti, G. Lacaze, H.: Données nouvelles sur l'évolution et la signification de l'allergie tuberculinique. Les grandes tendances évolutives de tuberculeux allergie et réinfection.
Ann.Inst. Pasteur 65, 435 (1940) zitiert nach Turk, 1967
26. Cape, R.D.T.: The aging human. In: Aging and Immunity (ed: S.K. Singhal, N.R. Sinclair, C.R. Stiller), Elsevier/North-Holland, New York-Amsterdam-Oxford, 1979.
27. Casavant, C.H., Stites, D.P.: Assessing cellular immune function. In: Handbook of Immunology in Aging (ed: T. Makinodan, M.B. Kay Marguerite), Chemical Rubber Company Press, Los Angeles, 1981
28. Catalona, W.J., Chretien, P.B.: Abnormalities of quantitative dinitrochlorobenzene sensitization in cancer patients. Correlation with tumor stage and history. Cancer 31, 353-356 (1973)
29. Catalona, W.H., Taylor, P.T.Jr., Chretien, P.B.: Quantitative dinitrochlorobenzene contact sensitization in a normal population. Clin. Exp. Immunol. 12, 325-333 (1972)
30. Catalona, W.J., Taylor, P.T.Jr., Rabson, A.S., Chretien, P.B.: A method for dinitrochlorobenzene contact sensitization. A clinicopathological study. New Engl. J. Med. 286, 399-403 (1972)

31. Claman, H.N., Miller, S.D.: Immunoregulation of contact sensitivity. *J. Invest. Derm.* 74, 263-266 (1980)
32. Clark, W.H., From, L., Bernardino, E.A., Mihm, M.C.: The histogenesis and biological behavior of primary human malignant melanoma of the skin. *Cancer Res.* 29, 705-727 (1969)
33. Corberand, J., Nguyen, F., Laharrague, P., Fontanilles, A.M., Gleyzes, B., Girard, E., Sénergas, C.: Polymorphonuclear functions in aging adult humans. In: *Immunology and Ageing* (ed: N. Fabris), Martinus Nijhoff Publishers, The Hague-Boston-London 1982
34. Cronin, E.: *Contact Dermatitis*. Langman Group Ltd., London 1980
35. Currie, G.A.: Immunological aspects of human cancer. In: *Clinical Aspects of Immunology* (ed: P.J. Lachmann, D.K. Peters), Blackwell Scientific Publications, Oxford 1982.
36. McDaniel, D.H., Blatchley, D.M., Welton, W.A.: Adverse systemic reaction to dinitrochlorobenzene. *Arch Derm. (Chicago)* 118, 371 (1982)
37. Dattner, A.M., Mann, D.L., Levis, W.R.: Studies on the contact sensitization of man with simple chemicals: V. Clonal priming allows direct in-vitro assessment of autologous HLA-associated factors required for immune response to dinitrochlorobenzene. *J. Invest. Derm.* 73, 246-249 (1979)

38. Dixon, W.J. (ed.): BMDP Statistical Software.
University of California Press Ltd. Berkeley 1981
39. Dizon, Q.S., Southam, C.M.: Abnormal cellular response
to skin abrasion in cancer patients. *Cancer* 16, 1288-
1292 (1963)
40. Djawari, D., Körner, E., Haneke, E.: Kreuzallergien
nach Sensibilisierung mit Dinitrochlorbenzol (DNCB).
Hautarzt 31, 198-202 (1980)
41. Doering, Ch., Orfanos, C.E.: Neues zum malignen
Melanom: Richtlinien zur Prognose und Therapie (Ber-
liner Behandlungsschema). *Dt. Derm.* 31, Heft 3, 261-
266 (1983)
42. Ehring, F., Loth, H.: DNCB skin test in cases of
malignant melanoma. *J. Cancer Res. clin. Oncol.* 102,
185-187 (1981)
43. Eilber, F.R., Morton, D.L.: Impaired immunologic
reactivity and recurrence following cancer surgery.
Cancer 25, 362-367 (1970)
44. Eilber, F.R., Nizze, J.A., Morton, D.L.:
Sequential evaluations of general immune competence
in cancer patients: correlation with clinical course.
Cancer 35, 660-665 (1975)
45. Epstein, W.L., Kligman, A.M.: Transfer of allergic
contact-type delayed sensitivity in man.
J. Invest. Dermat. 28, 291-304 (1957)

46. Epstein, W.L., Kligman, A.M.: Some factors affecting the reaction of allergenic contact dermatitis. *J. Invest. Dermat.* 33, 231-243 (1959)
47. Epstein, W.L., Maibach, H.I.: Immunologic competence of patients with psoriasis receiving cytotoxic drug therapy. *Arch. Dermatol.* 91, 599-605 (1965)
48. Everall, J.D. Dowd, P.M.: Diagnosis, Prognosis and Treatment of Melanoma. *Lancet* 2, 286-289 (1977)
49. Fabris, N. (ed.): Immunology and Ageing. Martinus Nijhoff Publishers, The Hague-Boston-London 1982
50. Fernandes, G., Halberg, F., Good, R.A.: Circadian rhythm in T, B and natural killer cells. In: Recent Advances in the Chronobiology of Allergy and Immunology (ed: M.H. Smolensky, A. Reinberg, J.P. McGovern), Pergamon Press, Oxford 1980
51. Fernandes, G. Yunis, E.J., Halberg, F.: Cicadian aspects of immune responses in the mouse. In: Chronobiology in Allergy and Immunology (ed: J.P. McGovern, M.H. Smolensky, A. Reinberg), Charles C. Thomas, Springfield 1977
52. Fournier, C., Han Ping Chen, Charreire, J.: Auto-rosettes and autologous mixed lymphocyte reaction in humans: two age- und sex- related Models. In: Immunology and Ageing (ed: N. Fabris), Martinus Nijhoff Publishers, The Hague-Boston-London 1982

53. Foussereau, J., Herrmann, B., Grosshans, E., Petitjean, J., Maleville, J.: Value of a new technique of sensitization to dinitro-2,4-chlorobenzene. *Contact Dermatitis* 1975, 1: 200-206
54. Franceschi, C., Licastro, F., Chiricolo, M., Zannotti, M., Fabris, N., Mocchegiani, E., Tabacchi, L., Barboni, F., Masi, M.: Selective deficiency of T-lymphocyte subset(s) in aged and in Down's syndrome subjects. In: *Immunology and Ageing* (ed: N. Fabris), Martinus Nijhoff Publishers, The Hague-Boston-London 1982
55. Freund, J.: The influence of age on the skin sensitivity of tuberculous guinea pigs. *J. Immunol.* 13, 285-293 (1927)
56. Frey, J.R., Wenk, P.: Über die Funktion der regionalen Lymphknoten bei der Entstehung des Dinitrochlorbenzol-Kontaktekzems am Meerschweinchen. *Dermatologica* 116, 243-265 (1958)
57. Friedmann, P.S., Moss, C., Shuster, S., Simpson, J.M.: Quantitation of sensitization and responsiveness to dinitrochlorobenzene in normal subjects. *Br. J. Dermatol.* 1983/7 109, 86-88, Suppl 25 (1983)
58. De Gast, G.C., The, T.H., Schraffordt Koops, H., Huiges, H.A. Oldhoff, J., Nieweg, H.O.: Humoral and cell-mediated immune response in patients with malignant melanoma. I. In vitro lymphocyte reactivity to PHA and antigens following immunization. *Cancer* 36, 1289-1297 (1975)

59. Gelfand, E.W.: Disorders of cellular immunity in man. In: Inflammation, Immunity and Hypersensitivity. Cellular and Molecular Mechanisms (ed: H.Z. Movat), Harper & Row Publishers, New York-San Franzisko-London, 1979
60. Godfrey, H.P.: Seasonal induction of contact sensitivity and of lymph node T lymphocytes in guinea pigs. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 49, 411-414 (1975)
61. Götz, H.: Tumorimmunologie. In: Praxis der Immunologie. Grundlagen, Methoden, Klinik (ed: K.O. Vorlaender), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1976
62. Golub, E.S.: Die Immunantwort. Einführung in die Immunbiologie. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1982
63. McGovern, J.P., Smolensky, J.P., Reinberg, A.: Circadian and circannual rhythmicity in cutaneous reactivity to histamine and allergenic extracts. In: Chronobiology in Allergy and Immunology (ed: J.P. McGovern, M.H. Smolensky, A. Reinberg), Charles C. Thomas, Springfield 1977
64. Greenberg, L.J.: Aging and immune function in man: influence of sex and genetic background. In: Aging and Immunity (ed: S.K. Singhal, N.R. Sinclair, C.R. Stiller), Elsevier/North Holland, New York-Amsterdam-Oxford, 1979
65. Grond, K. Tilz, G.P. Kresbach, H., Kerl, H.: Regression multipler Hautmetastasen eines Melanomalignoms unter Immuntherapie. Z.Hautkr. 50/6, 233-244 (1975)

66. De Groot, A.C., Nater, J.P., Bleumink, E., De Jong, M.C.: Does DNCB therapy potentiate epicutaneous sensitization to non-realated contact allergens? Clin. Exp. Dermat. 6, 139-144 (1981)
67. Gross, L.: Immunological defect in aged population and its relationship to cancer. Cancer 18, 201-204 (1965)
68. Habermehl, A.: Grundbegriffe statistischer Prüfverfahren. Entscheidungshilfen auf dem Fundament der Wahrscheinlichkeitsrechnung. Deutsches Ärzteblatt - Ärztliche Mitteilungen 79/36, 44-52 (1982)
69. Hallgren, H.M., Yunis, E.J.: Immune function, immune regulation, and survival in an aging human population. In: Immunological Aspects of Aging (ed: D. Segre, L. Smith), Marcel Dekker, Inc., New York-Basel, 1981
70. Haniszko, J., Suskind, R.R.: The effect of ultraviolet radiation on experimental cutaneous sensitization in guinea pigs. J. Invest. Dermatol. 40, 183 (1963)
71. Van der Harst - Oostveen, C.J.G.R., Van Vloten, W.A.: Delayed-type hypersensitivity in Patients with mycosis fungoides. Dermatologica 157, 129-135 (1978)
72. Hartman, A., Hoedemaeker, P.J., Nater, J.P.: Histological aspects of DNCB sensitization and challenge tests. Br. J. Dermatol. 94, 407-416 (1976)
73. Haxthausen, H.: Some problems concerning the pathogenesis of allergic eczemas, elucidated by experiments on sensitization with dinitrochlorobenzene. Acta Dermatoven. 20, 257-272 (1938)

74. Heite, H.J.: Erkennung und Bedeutung prognostischer Faktoren beim malignen Melanom der Haut. In: Dermatologie in Praxis und Klinik für die fachärztliche Weiterbildung in vier Bänden (ed: G.W. Korting), Thieme-Verlag, Stuttgart-New York 1980
75. Ishii, Y., Maylight, G.: Immundiagnosis of human melanoma: Characterization of human melanoma antigens and their detection in sera of melanoma patients by radioimmunoassay. *Oncology* 39, 23-28 (1982)
76. Johnson, M.W., Maiback, H.I. Salmon, S.F.: Skin reactivity in patients with cancer. *N. Engl. J. Med.* 284, 1255-1256 (1971)
77. Karavodin, L.M., Giuliano, A.E., Golub, S.H.: T-lymphocyte subsets in patients with malignant melanoma. *Cancer Immunol. Immunother.* 11, 251-254 (1981)
78. Kerl, H.; Burg, G., Braun-Falco, O.: Quantitative and qualitative dynamics of the epidermal and cellular inflammatory reaction in primary toxic and allergic dinitrochlorobenzene contact dermatitis in guinea pigs. *Arch.Dermatol.Forsch.* 249, 207-226 (1974)
79. Knapp, M.S., Pownall, R.: Biological rhythms in cell-mediated immunity: findings from rats and man and their clinical relevances. In: *Recent Advances in the Chronobiology of Allergy and Immunology* (ed: M.H. Smolensky, A. Reinberg, J.P. McGovern), Pergamon Press, Oxford 1980

80. Knop, J.: Immunologische Grundlagen des allergischen Kontaktekzems. *Hautarzt* 35, 617-622, 1984
81. Knopf, B., Wätzig, V.: Unspezifische immunologische Untersuchungen bei Patienten mit malignem Melanom der Stadien I und II. *Dermatol. Monatsschr.* 168, 24-33 (1982)
82. Kokoschka, E.M., Micksche, M.: Immunologie und Therapie des malignen Melanoms.
Wiener klin. Wochenschr. 89, 612-622 (1977)
83. Kratka, J., Goerz, G., Vizethum, W., Strobel, R.: Dinitrochlorobenzene: influence on the cytochrome p 450 system and mutagenic effects.
Arch. Dermatol. Res. 266, 315-318 (1979)
84. Lachmann, P.J., Mitchison, N.A.: The immune response to tumors. In: *Clinical Aspects of Immunology* (ed: P.J. Lachmann, D.K. Peters), Blackwell Scientific Publications, Oxford 1982
85. Lagogue, M., Reinberg, F.: Circannual and circadian rhythms in plasma corticosterin, renin activity, thyroxine and in urinary aldosterone of five healthy young Parisian males. *Chronobiologia* 4, 126-141 (1977)
86. Landthaler, M., Hohenleutner, U., Hohenleutner, Braun-Falco, O.: Adjuvante Therapie maligner Melanome im Stadium I.
Zentralblatt Haut- u. Geschlechtskrankheiten 149, 1192 (1983/84).
87. Lawler, E.M., Outzen, H.C., Prehn, R.T.: Effect of different immunization and challenge procedures on in-vivo tumor immunogenicity tests.
Cancer Immunol. Immunother. 11, 87-91 (1981)

88. Lawler, E.M., Prehn, R.T.: Influence of immune status on host immunogenicity of tumors induced with two doses on methylchloranthrene.
Cancer Immunol. Immunother. 13, 194-197 (1982)
89. Levis, W.R., Lincoln, P.M., Dattner, A.M.: Effect of ultraviolet light on dinitrochlorobenzene-specific antigen presenting function.
J. Immunol. 121, 1496-1500 (1978)
90. Levis, W.R., Whalen, J.J., Miller, E.Jr.: Studies on the contact sensitization of man with simple chemicals II. Lymphokine production in allergic contact dermatitis to dinitrochlorobenzene.
J. Invest. Dermatol. 62, 2-6 (1974)
91. Lewiski, U.H., Mavlight, G.M., Hersh, E.M.: Cellular immune modulation after a single high dose of levamisole in patients with carcinoma.
Cancer 46, 2185-2194 (1980)
92. Macher, E., Chase, M.W.: The influence of excision of allergic depots on onset of delayed hypersensitivity and tolerance. J. Exp. Med. 129, 103-121 (1969)
93. Macher, E., Sorg, C.: Immunologie und Immuntherapie des malignen Melanoms. In: Dermatologie in Praxis und Klinik für die fachärztliche Weiterbildung in vier Bänden (ed: G.W. Korting), Thieme-Verlag, Stuttgart-New York 1980
94. MacKie, R.M.: The management of cutaneous malignant melanoma. Clin. exp. Derm. 7, 99-102 (1982)

95. Magnusson, B., Kligman, A.M.: Allergic Contact Dermatitis in the Guinea Pig. Identifications of Contact Allergenes. Charles C. Thomas Publisher, Springfield 1970
96. Maguire, H.C. Jr., Ettore, L. von: Enhancement of dinitrochlorobenzene (DNCB) contact sensitization by cyclophosphamide in the guinea pig.
J. Invest. Dermatol. 48, 39-43 (1967)
97. Maguire, H.C. Jr., Jaffee, B.D.: Regional lymph node x-radiation suppresses allograft rejection.
Arch. Dermatol. Res. 272, 283-291 (1982)
98. El-Mahrouky, A.S., Dawson, D.V., Paulson, D.F., Sanfilippo, F.: The predictive value of 2,4-dinitrobenzene skin testing in patients with bilharzial bladder cancer. J. Urol. 129/3, 499-501 (1983)
99. Mayer, R.L., Sulzberger, M.D.: Zur Frage der jahreszeitlichen Schwankungen der Krankheiten. Der Einfluß der Kost auf experimentelle Sensibilisierung.
Arch. Dermatol. Syph. 163, 245-262 (1931)
100. Meneghini, C.L., Angelini, G., Bonifazi, E.: Immunity in tumors of the skin. Studies on cell-mediated immune reactions. Arch. Derm. Forsch. 252, 203-209 (1975)
101. Mihm, M.C., Clark, W.H., From, L.: The clinical diagnosis classification and histogenetic concepts of the early stages of cutaneous malignant melanoma.
N. Engl. J. Med. 284, 1078-1082 (1971)
102. Miller, A.E., Levis, W.R.: Lymphocyte transformation during DNCB contact sensitization: An in-vitro - in-vivo evaluation of the primary immune response in man. J. Clin. Invest. 52, 1925-1930 (1973)

103. Misgeld, V.: Zur Immunologie des Melanomalignoms.
Hautarzt 24, 511-519 (1973)
104. Moss, G., Friedmann, P., Shuster, S.: Inhibition of delayed hypersensitivity skin reactions in patients on methoxypsoralen photochemotherapy.
Lancet 2, 922 (1980)
105. Olafsson, J.H., Lindholm, L., Roupe, G.: Inhibitory effect of transplanted syngeneic thymus fragments, thymus epithelium and thymocytes on the increased contact sensitivity reaction in the adult thymectomized mouse. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 67, 93-95 (1982)
106. Paul, W.E.: Aging and immunity: Summary and perspectives. In: *Aging and Immunity* (ed: S.K. Singhal, N.R. Sinclair, C.R. Stiller) Elsevier/North Holland, New York-Amsterdam-Oxford 1979
107. Penn, I.: Depressed immunity and the development of cancer. *Clin. exp. Immunol.* 46, 459-474 (1981)
108. Polak, L.: Immunological aspects of contact sensitivity. An experimental study. Karger-Verlag, Basel-New York 1980
109. Pownall, R., Knapp, M.S., Kowanko, I.C., Byrne, D., Stockdale, H., Minors, S.: Phase relationships of corticosteroids, leucocytes and cellular immunity in vivo. In: *Recent Advances in the Chronobiology of Allergy and Immunology* (ed: M.H. Smolensky, A. Reinberg, J.P. McGovern), Pergamon Press, Oxford 1980

110. Pritchard, D.I., Ritts, R.E., Taylor, W.F., Miller, C.G.: A prospective study of immune responsiveness in human melanoma. *Cancer* 41, 2165-2173 (1978)
111. Pryzbilla, B., Burg, G., Thieme, C.: Dinitrochlorobenzene contact allergy time (DNCB-CAT). A new model for quantitative evaluation of cellular immunity. *Arch. Derm. Forsch.* 273, 187 (1982)
112. Ray, M.C., Tharp, M.D., Sullivan, T.J.: Contact hypersensitivity reactions to dinitrofluorobenzene mediated by monoclonal IgE anti-DNP antibodies. *J. Immunol.* 131, 1096-1102 (1983)
113. Rebuck, J.W., Crawley, J.H.: A method of studying leukocyte function in vivo. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 59, 755-805 (1955)
114. Rehle, T.: Der Wert des Immunstatus in der Dermatologie. Dissertation, München 1982
115. Reinberg, A., Schuller, E., Clench, J., Smolensky, M.H.: Cicadian and circannual rhythms of leukocytes, proteins and immunoglobulins. In: Recent Advances in the Chronobiology of Allergy and Immunology (ed: M.H. Smolensky, A. Reinberg, J.P., McGovern), Pergamon Press, Oxford 1980
116. Rella, W., Leber, J., Kotz, R.: Untersuchungen zur zellulären Immunität während und nach hochdosierter Methotrexattherapie bei Osteosarkompatienten. *Wiener klin. Wochenschr.* 89, 751-759 (1977)

117. Remy, W., Stuttgen, G.: Die DNCB-Sensibilisierung beim Menschen in analytischer Sicht.
Z. Haut- Geschl. Kr. 47, 361-364 (1972)
118. Rockwell, E.M.: Study of several factors influencing contact irritation and sensitization.
J. Invest. Dermatol. 24, 35-49 (1955)
119. Roberts-Thomson, I.C., Whittingham, S., Young-chaiyud, U., MacKay, I.R.: Ageing, immune response, and mortality. Lancet 2, 368 (1974)
120. Roses, D.F., Campion, J.F., Harris, M.N., Gumpert, S.L.: Malignant melanoma. Delayed hypersensitivity skin testing. Arch. Surg. 114, 35-38 (1979)
121. Roth, J.A., Eilber, F.R., Morton, D.L.: Effect of Adriamycin and high-dose Methotrexate chemotherapy on in vivo and in vitro cell mediated immunity in cancer patients. Cancer 41, 814-819 (1978)
122. Schmoeckel, C., Braun-Falco, O.: Prognostic index in malignant melanoma. Arch. Dermatol. 114, 871-873 (1978)
123. Semma, M., Sagami, S.: Induction of suppressor T-cells to DNFB contact sensitivity by application of sensitizer through Langerhans cell - deficient skin.
Arch. Dermatol. Res. 271, 361-364 (1981)
124. Shaw, D.H., Stone, W.H.: "Seasonal" variation of naturally occurring iso-antibodies of man. In: Transactions of the sixth Congress of the European Society of Haematology (ed: A. Videbaek), Karger, Basel 1958

125. Skog, E.: Experimental studies on hypersensitivity to 2,4-dinitrochlorobenzene and tuberculin in animals. I. Passive transfer of hypersensitivity to 2,4-dinitrochlorobenzene. *Acta derm. venerol.* 35, 93-106 (1955)
126. Skog, E.: Spontaneous flare-up reactions induced by different amounts of 1,3-dinitro-4-chlorobenzene: frequency of reactions, time of appearance and histology. *Acta derm. venerol.* 46, 386-395 (1966)
127. Smith, M.A., Evans, J., Steele, C.M.: Age-related variation in proportions of circulating T-cells. *Lancet* 2, 922 (1974)
128. Strauß, G.H., Graeves, M., Price, M., Bridges, B.A., Hall-Smith, P., Vella-Briffa, D.: Inhibition of delayed hypersensitivity reaction in the skin (DNCB test) by 8-methoxypsoralen photochemotherapy. *Lancet* 2, 556-559 (1980)
129. Streilein, J.N., Toews, G.T., Gilliam, J.N., Bergstresser, P.R.: Tolerance of hypersensitivity to 2,4-dinitro-1-fluorobenzene: the role of Langerhans cell density within epidermis. *J. Invest Derm.* 74, 319-322 (1980)
130. Strelkauskas, A.J., Hallgren, H.M., Yunis, E.J.: Autoantibodies to a regulatory T-cell subset in human aging. In: *Immunological Aspects of Aging* (ed: D. Segre, L. Smith), Marcel Dekker Inc., New York-Basel 1981
131. Turk, J.L.: *Delayed Hypersensitivity*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam 1967

132. Walford, R.L.: The Immunologic Theory of Aging.
Munksgaard, Copenhagen 1969
133. Weksler, M.L.: Immune senescence in man. In: Immunology and Ageing (ed: N. Fabris), Martinus Nijhoff Publishers, The Hague-Boston-London 1982
134. Zirbs, W.: Immunitätslage beim malignen Melanom.
Dissertation, München 1980

7. ANLAGE

DERMATOLOGISCHE KLINIK UND POLIKLINIK DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT (Direktor: Prof.Dr.Dr.h.c. O. Braun-Falco)
Frauenlobstr. 9-11, 8000 München 2 - Allergologie -

M E R K B L A T T

zur Diagnostik mit DNCB-Salbe

DNCB (= Dinitrochlorbenzol) ist eine Substanz, gegenüber der nahezu alle Menschen mit einer normal funktionierenden körpereigenen Abwehr die Kontaktallergie entwickeln. Die Substanz eignet sich daher zur Stützung des Immunsystems, wie sie auch bei Ihnen vorgesehen ist.

Sie erhalten an einer Ihnen gut zugänglichen Körperstelle (normalerweise an der Innenseite des linken Unterarmes) ein Testpflaster mit 0,05 %iger DNCB-Salbe aufgeklebt; dieses sollten Sie täglich durch ein neues Pflaster ersetzen, auf das Sie ein etwa glasstecknadelkopfgroßes Stück Salbe aus der Ihnen mitgegebenen Spritze auftragen. Die behandelte Stelle muß stets gut durch das ebenfalls zur Verfügung gestellte Pflaster abgedeckt sein und darf nicht mit Wasser in Berührung kommen. Bemerken Sie eine Reaktion (Rötung, deutlicher Juckreiz) in dem behandelten Feld, dann stellen Sie sich bitte umgehend bei uns vor. Sollte Ihnen dies nicht sofort möglich sein, muß die Behandlung nach Auftreten einer deutlichen Rötung abgebrochen werden; notieren Sie dann bitte Art der Reaktion sowie Datum und Uhrzeit ihres Auftrittens.

Da es sich bei DNCB um ein hochwirksames Kontaktallergen sowie um eine in höherer Konzentration oder an Schleimhäuten unmittelbar reizende Substanz handelt, sind folgende Vorsichtsmaßnahmen zu beachten:

- 1.) Substanz nur mit dem beigegebenen Pflaster, nicht mit den Fingern auf die behandelte Hautstelle auftragen;
- 2.) falls Salbe auf andere Hautbereiche gelangt, sofort mit viel Wasser und Seife abwaschen (auch unterhalb des Fingernagels gründlich reinigen!);
- 3.) Schleimhäute und Augen nicht mit der Salbe in Berührung bringen;
- 4.) Substanz vor Kindern sichern;
- 5.) behandelte Hautareale stets sicher abgepflastert halten.

Lebenslauf

Am 5. Februar 1960 wurde ich, Johannes Bogner, als Sohn des Bankkaufmannes Johann Bogner und seiner Ehefrau Anna Bogner, geb. Kneißl, in München geboren.

1966 wurde ich an der Grundschule Vaterstetten eingeschult, 1970 erfolgte der Übertritt auf das Staatliche Gymnasium Vaterstetten. Dort machte ich im Jahr 1979 das Abitur. Ebenfalls seit 1979 bin ich Stipendiat der Bayerischen Begabtenförderung.

Zum Wintersemester 1979/80 nahm ich das Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München auf. 1981 absolvierte ich dort das Physikum, 1982 den ersten und 1984 den zweiten Teil der ärztlichen Prüfung. Seit 1984 befinde ich mich im Praktischen Jahr zu ärztlichen Ausbildung.