

Zum aktuellen Stand der Labordiagnostik für die ZahnMedizin

Volker von Baehr

Es ist die Aufgabe des verantwortungsbewusst tätigen Zahnarztes, im Vorfeld einer Behandlung die für jeden Patienten individuell optimale Lösung des Zahnersatzes auszuwählen und dabei eventuell bereits bestehende Sensibilisierungen oder Entzündungsprozesse zu berücksichtigen. Bei auftretenden Beschwerden nach Einbringung von Zahnersatz sollten allergische und entzündliche Reaktionen als mögliche Ursache erwogen und entsprechende Laboruntersuchungen veranlasst werden.

Die rasante Entwicklung der Dentalersatzstoffe, die Implantologie, aber auch die Erweiterung des Wissens über immuntoxikologische Phänomene und die erkannte Bedeutung systemischer Entzündungsreaktionen hat die Labordiagnostik für die Zahnmedizin in den letzten Jahren umfassend erweitert. Für einige Fragestellungen ist der Lymphozytentransformationstest (LTT) in seiner Standardausführung an Grenzen gestoßen, z.B. bei der Titanunverträglichkeit. Auch für den Nachweis vieler komplexer Ersatzstoffe, einschließlich der Acrylate, mussten Standardprotokolle des LTT individuell modifiziert werden. Sensibilisierungen auf organische Abbauprodukte wie Mercaptane und Thioether sind auf Grund dessen körpereigenen Ursprungs mit dem LTT gar nicht nachweisbar, sondern erforderten hochsensitive Zytokinanalysen. Effektorzelltypisierungen erlauben heute auch die sichere Zuordnung zum latenten oder zytotoxischen Reaktionstyp bei bestehender Sensibilisierung. Dieses ist hilfreich, denn jeder Zahnarzt möchte sicher gehen, dass eine Materialentfernung auch wirklich zur Besserung des Befindens seines Patienten beiträgt. Was vor Jahren unmöglich schien, wird heute von vielen Medizinern und Zahnmedizinern als beinahe selbstverständlich diagnostisch angewendet.

Einleitung

In der Bundesrepublik Deutschland ist inzwischen jeder vierte Bürger von einer Allergie betroffen, wobei die Liste potentieller Allergene nahezu täglich länger wird. Jeder dritte Patient, älter als 40 Jahre, leidet zudem an einer der klassischen systemischen Entzündungserkrankungen wie Diabetes, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, anderen Autoimmunerkrankungen, chronischen Infektionen oder Herz-Kreislaufkrankungen. Die Menschen werden älter. Schon dadurch, aber auch durch bessere Diagnostik und umfassendere therapeutische Maßnahmen werden die Krankheitsbilder komplexer. Eingriffe in die biologische Integrität der Menschen sind zur täglichen Routine geworden. Gemeint sind medikamentöse Therapien, Einbringung verschiedenster Fremdmaterialien in den Organismus in der Zahnmedizin, Orthopädie oder Chirurgie, Bluttransfusionen, Hormonersatztherapien,

immunstimulierende oder immunsuppressive Behandlungen. Häufig vergisst man, dass jedes Eingreifen in den Organismus komplexe Auswirkungen auf diesen hat.

Diese Entwicklungen bleiben auch für die moderne Zahnmedizin nicht ohne Folgen. Immer seltener sitzt ein rundum gesunder Patient frei von jeder Sensibilisierung oder anderweitiger Krankheitsprädisposition im Behandlungsstuhl. Noch vor wenigen Jahren standen nahezu ausschließlich Allergien auf Metalle im Fokus des Interesses. Für diese Problematik haben sich der Lymphozytentransformationstest (LTT) und seine Durchführungsvarianten als valide diagnostische Labormethoden etabliert. Die rasante Entwicklung der Dentalersatzstoffe, der Implantologie aber auch die Erweiterung des Wissens über immuntoxikologische Phänomene und die erkannte Bedeutung systemischer Entzündungsreaktionen hat die Labordiagnostik für die Zahnmedizin in den letzten Jahren umfassend erweitert. Für einige Fragestellungen ist der LTT in seiner Standardausführung an Grenzen gestoßen. Zum Beispiel konnte die Problematik der „Titanunverträglichkeit“, erst erfolgreich durch breite Anwendung von zytokinbasierten Testmethoden aufgearbeitet werden. Für den Nachweis vieler komplexer Ersatzstoffe einschließlich der Acrylate mussten Standardprotokolle des LTT individuell modifiziert werden. Der Einsatz von nativen (Patienten-eigenen) Materialien stellte hohe Ansprüche an die Materialaufarbeitung im Vorfeld der Testungen. Sensibilisierungen auf organische Abbauprodukte wie

Kontakt:

Dr. med. Volker von Baehr
Institut für Medizinische Diagnostik
Nicolaistraße 22
D-12247 Berlin-Steglitz
Phone +49-30-77001-220
Fax +49-30-77001-236
Mail v.baehr@IMD-Berlin.de
<http://www.zahnarzt-diagnostik.de>

Mercaptane und Thioether sind auf Grund ihres körpereigenen Ursprungs mit dem LTT gar nicht nachweisbar, sondern erforderten hochsensitive Zytokinanalysen. Ähnliche Untersuchungen (Effektorzelltypisierung) erlauben heute auch die sichere Zuordnung zum latenten oder zytotoxischen Reaktionstyp bei bestehender Sensibilisierung. Dieses ist hilfreich, denn jeder Zahnarzt möchte sicher gehen, dass eine Materialentfernung auch wirklich zur Besserung des Befindens seines Patienten beiträgt. Was vor Jahren unmöglich schien, wird heute von vielen Medizinerinnen und Zahnmedizinerinnen als beinahe selbstverständlich diagnostisch angewendet.

Weit mehr als früher sieht man heute zahnmedizinische Problematiken im Zusammenhang mit bestehenden systemischen Entzündungserkrankungen. Bekannte Grunderkrankungen müssen auch bei der Auswahl der Labordiagnostik berücksichtigt werden. Häufig führt erst die Kombination allergologischer, immunologischer, toxikologischer und molekularbiologischer Testmethoden zum Ziel.

Es ist die Aufgabe des verantwortungsbewusst tätigen Zahnarztes, im Vorfeld einer Behandlung die für jeden Patienten individuell optimale Lösung des Zahnersatzes auszuwählen und dabei eventuell bereits bestehende Sensibilisierungen oder Entzündungsprozesse zu berücksichtigen. Nach Einbringung von Zahnersatz sollten bei auftretenden Beschwerden allergische und entzündliche Reaktionen als mögliche Ursache erwogen und entsprechende Laboruntersuchungen veranlasst werden. Sehr häufig erfordert die Diagnostik und insbesondere die Therapie die Abstimmung und Kooperation mit anderen Fachgebieten.

Hochsensitive Zytokinanalysen sind hilfreich für die Fokussuche

Nicht selten steht zu Beginn einer Behandlung die Frage im Raum, ob beim Patienten eine Entzündungsreaktion im Zahn-Kieferbereich vorliegt. Da derartige Entzündungsreaktionen in der Regel nicht lokalisiert bleiben sondern systemische Auswirkungen haben, ist dieses nicht nur bei lokaler Beschwerdesymptomatik relevant, sondern auch bei einer Reihe von internistischen systemischen Erkrankungen wie zum Beispiel Autoimmunerkrankungen, Rheuma, Urtikaria oder Allergien. Röntgen und Computertomographie sind nicht in allen Fällen ausreichend sensitiv. Die sensitivsten Entzündungsmarker im Blut sind das Interleukin-1-beta (IL1 β), Interleukin-6 (IL6) und Interferon-gamma (IFN γ). Erhöhte Serumwerte dieser Zytokine zeigen uns aber nicht nur die Entzündung an, sondern helfen auch bei der Ursachendiagnostik. IFN γ ist ein lymphozytärer Aktivierungsmarker, der insbesondere bei Typ-IV-Sensibilisierungen ansteigt. Dagegen deuten Erhöhungen des IL6 auf Nekrose und des IL1 β auf myelomonozytär initiierte Entzündungen hin (bakterielle Infektionen, Fremdkörperreaktionen). Eine Lokalisierung ist durch Blutspiegelbestimmungen allerdings prinzipiell nicht möglich.

Typ-IV-Sensibilisierungen können lokale und/oder systemische Entzündungsreaktionen hervorrufen

Auch wenn Allergien bei weitem nicht die einzige Ursache von Zahnersatzmaterialunverträglichkeiten sind, haben sie auf Grund der allgemein ansteigenden Sensibilisierungsrate auf Metalle, Acrylate und andere komplexe Werkstoffe eine ständig wachsende Bedeutung. Eingebroughte potentielle Kontaktallergene stellen bei bestehender Sensibilisierung einen Fokus und permanenten Reiz dar. Die wichtigsten Auslöser von Typ-IV-Sensibilisierungen im zahnärztlichen Bereich sind Metalle und methacrylathaltige Prothesenkunststoffe, Füllungsmaterialien und Kompositzemente. Freie Metallionen sowie auch Kunststoffmono-

und oligomere wirken dabei als Haptene, das heißt sie verändern körpereigene Eiweiße so, dass diese vom Immunsystem als fremd erkannt werden und somit eine Immunantwort auslösen können. Die Symptomatik bei allergisch bedingten Unverträglichkeitsreaktionen auf Zahnersatzmaterialien ist in der Regel unspezifisch, d.h. ein ursächlicher Zusammenhang zum auslösenden Fremdstoff lässt sich zumeist nicht sicher belegen. Lokale Zeichen können Stomatitiden, Lichen ruber planus, Gingivitis oder Parodontitis sein. Als Lokalsymptome werden u.a. Zungenbrennen sowie Kiefer- und Zahnschmerzen angegeben. Bedingt durch die bei chronischer Allergenstimulation auftretende systemische Immunaktivierung können neben einer Lokalsymptomatik auch Allgemeinsymptome wie Kopfschmerzen, Migräne, Neuralgien, Muskelschmerzen, Arthralgien, Fibromyalgie, Parästhesien, gesteigerte Müdigkeit, Schlafstörungen und depressive Verstimmungen auftreten. Diese Krankheitsbilder werden oft fälschlich dem psychosomatischen Formenkreis zugeordnet.

Labordiagnostik von zellulären Sensibilisierungen – Epikutantest oder Lymphozytentransformationstest ?

Der Epikutantest (ECT) wurde vor mehr als 45 Jahren für die Allergenidentifizierung bei einer bestehenden Kontaktallergie der Haut entwickelt. Das Testprinzip beruht darauf, dass allergenspezifische T-Lymphozyten in das mit dem Testallergen versetzte Hautareal einwandern und damit eine makroskopisch wahrnehmbare Hautinfiltration nach 24 bis 72 Stunden hervorrufen. Trotz großer Fortschritte bei der Standardisierung der Testallergene sind die „Schwachstellen“ des ECT nicht zu vermeiden. Das sind besonders die subjektive Bewertung bei der Testablesung und die Abhängigkeit des Ergebnisses von der Hautbeschaffenheit der Testperson. Die Allergene müssen erst bis in die unteren Hautschichten gelangen. Negative ECT-Ergebnisse bei bestehender klinisch gesicherter Sensibilisierung sind nicht selten (15; 16; 20). Rustemeyer zeigte für Nickel, dass von 74 Patienten mit klinisch gesicherter Nickelsensibilisierung lediglich 40 einen positiven ECT aufwiesen, was einer Sensitivität von lediglich 54% entspricht (21). Verschiedene Studien zeigten Intra-Assay-Reproduzierbarkeiten (ECT jeweils zweifach zeitgleich beiderseits der Wirbelsäule auf dem Rücken eines Patienten durchgeführt) zwischen lediglich 56% (18) und 92% (4). Eine Zusammenfassung der vorliegenden Studien zur Reproduzierbarkeit des ECT wurde 2004 von Iris Ale publiziert (12). Dabei wurde die Ratio nicht reproduzierbarer Reaktionen in den neun erfassten Studien mit 4,2 bis 43,8% (!) angegeben. (siehe auch Seite 22 – Stellungnahme des dbu)

Auch ist die vorbeugende präventive Hauttestung im Rahmen der Planung von neuem Zahnersatzmaterial sehr kritisch zu sehen, da über den ECT eine Sensibilisierung möglich ist. Prinzipiell sollte der ECT zurückhaltend eingesetzt werden bei Testung von potentiell sensibilisierenden oder karzinogenen Substanzen.

Der Lymphozytentransformationstest (LTT) ist die derzeit einzige umfangreich validierte Labormethode zum Nachweis einer spezifischen zellulären Sensibilisierung. Die Grundlage des Testes wurde erstmals 1960 beschrieben und hat sich seitdem durch Entwicklungen der Zellkulturtechniken und Analyseverfahren zu einem reproduzierbaren und hochsensitiven Verfahren im Rahmen der medizinisch-biologischen Forschung und Routinediagnostik entwickelt. Der Test beruht auf dem Prinzip der Antigen-(Allergen)-induzierten Zellteilung von entsprechend spezifischen Gedächtnis-T-Lymphozyten. Gemessen wird die DNA-Synthese im Testansatz und in der Kontrolle ohne Allergenzusatz. Eine positive Reaktion im LTT beweist das Vorhandensein von Allergen-spezifischen

Lymphozyten (Gedächtniszellen) im Blut des Patienten. Die heute verwendeten optimierten LTT-Varianten haben durch Zusatz von rekombinantem Interferon-alpha zur Lymphozytenkultur eine hohe Sensitivität und Spezifität erlangt (3; 18).



Abb. 1: Ablauf des LTT. Sämtliche Laborschritte finden unter Sterilbedingungen in einem Zellkulturlabor statt.

Bis vor wenigen Jahren hatte der LTT und von ihm abgeleitete Testvarianten noch eine geringere Sensitivität und waren dem Epikutantest allenfalls gleichwertig. Die Spezifität war durch nicht seltene grenzwertige Reaktionen eingeschränkt, was die Interpretation der Ergebnisse erschwerte. Die zwischen den Laboren differierenden LTT-Methoden und die damals fehlende Standardisierung erklären, weshalb die Bewertung des LTT in der wissenschaftlichen Literatur vor dem Jahr 2000 sehr unterschiedlich ausfiel. Neben Arbeiten, die dem LTT schon damals eine hohe Sensitivität und Spezifität sowie klinische Relevanz bescheinigten (27; 19; 9), finden sich auch Publikationen über häufige falsch positive Ergebnisse (7). Während der letzten 5 Jahre hat sich der Stellenwert des LTT sowie die Datenlage in der Literatur grundlegend geändert (10, 13). Die heute in immunologischen Speziallabors angewandte LTT-Technologie ist sehr verlässlich und zeichnet sich durch hohe Sensitivität und Spezifität aus. Dazu haben die Weiterentwicklungen der Zellkulturtechniken und –medien, die Qualität der zur Zellstimulation verwendeten Antigene/ Allergene und nicht zuletzt die grundlegend verbesserten Messmethoden der Festphase-3H-Thymidinbestimmung beigetragen. Der LTT gehört seit Frühjahr 2003 zu den nach DIN EN 17025 bzw. seit Januar 2005 nach DIN EN 15189 akkreditierten Prüfverfahren.

Indikationen für die Veranlassung des LTT für Zahnersatzmaterialien:

1. Verdacht auf eine bestehende Hypersensitivität gegen bereits vorhandene Zahnersatzmaterialien bei lokaler und/oder uncharakteristischer Allgemeinsymptomatik. Die Fragestellung ist kurativ: Ist ein Ersatz des vorhandenen Zahnersatzmaterials notwendig?
2. Ausschluss einer vor dem Einbringen von Zahnersatzmaterial bereits bestehenden Typ IV-Hypersensitivität gegen Zahnersatzmaterialien. Präventive Fragestellung: Welche Materialien sollten verwendet bzw. nicht verwendet werden?

Arztlicher Befundbericht			
Patient	Tagebuch-Nr.	Geburtsdatum	Institut für Medizinische Diagnostik Berlin Nicolausstr. 22, 12247 Berlin Tel. (030) 77001-220, Fax. (030) 77001-236
2576345			
Eingang 07.04.08	Ausgang 14.04.08		
Lymphozytentransformationstest Kombi-Präventionsprofil Dentalcheck			
Gold	SI	Kupfer	SI
Platin	1,0	Zinn	1,0
Silber	1,2	Kobalt	1,0
Quecksilber	5,7	HEMA	1,0
Palladium	1,0	MMA	7,0
Chrom	1,3	TEGDMA	1,0
Nickel	1,0	HEMA, 2-Hydroxyethylmethacrylat Methylmethacrylat (= MMA/PMMA) TEGDMA: Triethylenglycol-dimethacrylat	
Leerwert (Negativkontrolle)	1289	Normalwert < 3000 cpm	
Antigenkontrolle	37778	cpm	29,3
Mitogenkontrolle (PWM)	76542	cpm	59,4
Befund: Im LTT Nachweis einer zellulären Sensibilisierung im Sinne einer Typ IV- Immunreaktion gegenüber Gold, anorganischem Quecksilber und auch Methylmethacrylat. Bei einer Quecksilbersensibilisierung sollte das Amalgam unter optimalem Schutz vollständig entfernt werden. Bei der neuen Versorgung ist unbedingt darauf zu achten, dass keine Gold-haltige Legierung verwendet wird. Auf die MMA-Sensibilisierung ist bei Prothesenkunststoffen zu achten. In Kompositen oder Kompositklebern ist MMA unseres Wissens nicht enthalten.			

Abb. 2: Befund LTT-Kombiprofil Metalle + Acrylate (Dental-Check®) bei einer 44-jährigen Patientin. Die Testung erfolgte vorbeugend vor geplanter Neuversorgung nach Amalgamentfernung. Die Sensibilisierung auf organisches Quecksilber war bekannt.

Komplexe Werkstoffe können im LTT als Nativmaterial getestet werden.

Bei Metalllegierungen ist in der Regel die Legierungskomposition bekannt. Da der prozentuale Anteil jedes Metalls aus allergologischer Sicht von geringerer Bedeutung ist, wird hier der Einzeltestung der Metalle im Profil (LTT-Metalle) zumeist der Vorzug gegeben. Anders ist dieses bei Materialien wie Kompositen, Zementen, Primern oder Wurzelfüllmaterialien, wo die beinhalteten Substanzen häufig nicht exakt angegeben werden können bzw. eine standardisierte Einzelallergentestung der Inhaltsstoffe vom Labor nicht angeboten werden kann. Hier besteht die Möglichkeit, Materialproben mit ins Labor zu senden, welche dann nach Aufarbeitung direkt im LTT eingesetzt werden können. Dentallabore stellen diese verwendeten oder zur Verwendung anstehenden Materialproben zumeist unproblematisch zur Verfügung. Ein positives Ergebnis im LTT beweist die Sensibilisierung auf zumindest ein darin enthaltenes Kontaktallergen und beantwortet damit die wichtigste Frage – wird das getestete Material vertragen oder nicht? Ein negatives Resultat schließt die Sensibilisierung auf alle Inhaltsstoffe aus.

Vielen Dank für Ihre Überweisung.
Wir haben folgenden Befund erhoben:

Ärztlicher Befundbericht

Patient	Tagebuch-Nr. 2655434	Geburtsdat.	Institut für Medizinische Diagnostik Berlin Nicolaistraße 22, 12247 Berlin Tel. (030) 77001-220, Fax. (030) 77001-236
Eingang 20.03.07	Ausgang 27.03.07		

Untersuchung/Material: **Lymphozytentransformationstest Profil - Nativmaterialien** (Heparinblut)

Patient	Kontrollproband
Kunststoffspäne Oberkieferprothese	Kontrollproband
1:50	1:1
1:250	1:0
1:1000	1:1
Kunststoffspäne Unterkieferprothese	
1:50	1:1
1:250	1:0
1:1000	1:0
Metall-Schleifmaterial Zahn 3/5	
1:50	1:0
1:250	1:0
1:1000	1:0

Basalwert 1285 cpm Antigenkontrolle 34,4 SI PWM 49,4 SI

Ergebnisse von >3 bei der Antigenkontrolle (Tetanus/CMV/Influenza) und > 8 bei der Mitogenkontrolle PWM sichern die Auswertbarkeit der Untersuchung.

Befund:
Der vorliegende Befund zeigt eine deutliche zelluläre Sensibilisierung im Sinne einer Typ IV-Immunreaktion gegenüber dem aus der Unterkieferprothese gewonnenen Kunststoffmaterial. Somit liegt hier gegenüber mindestens einem darin enthaltenen Kontaktallergen eine Sensibilisierung vor. Wir empfehlen (falls bekannt) die Einzeltestung der enthaltenen Acrylate.

Abb. 3: Der LTT-Nativmaterial wurde mit dem Ziel durchgeführt, das für die Beschwerden verantwortliche Dentalmaterial zu lokalisieren. Der Kunststoffteil der Unterkieferprothese wurde hier eindeutig als "allergener Fokus" identifiziert.

Bei Kunststoffen sollten auch Typ I-Sensibilisierungen mit dem Basophilen-Degranulationstest (BDT) ausgeschlossen werden!

Sensibilisierungen auf Metalle und Acrylate beruhen zumeist auf der Existenz allergenspezifischer Lymphozyten, d.h. sie sind Typ IV-vermittelt und werden im LTT nachgewiesen. Wohingegen die äußerst seltenen IgE-vermittelten Typ I-Sensibilisierungen oder Pseudoallergien auf Metalle in der Praxis vernachlässigbar sind, haben wir bei Methacrylaten eine andere Situation. Bei der vor allem auch in der Berufsgruppe der Zahnärzte und Dentaltechniker nicht selten auftretenden Methacrylat-Hypersensitivität sind neben der klassischen Typ IV-zellulär vermittelten Kontaktensibilisierung in einigen Fällen auch respiratorische oder konjunktivale Symptome nachweisbar (14). Diese Symptome sind durch zelluläre Typ IV-Immunreaktionen nicht erklärbar, so dass hier zumindest von einer begleitenden IgE-vermittelten oder Pseudo-Typ-I-allergischen Sensibilisierung ausgegangen werden muss. Man sollte also auch beim Patienten an eine diesbezügliche Form der Sensibilisierung denken. Da eine IgE-Antikörper-Testung gegen Methacrylate im RAST bisher nicht verfügbar ist, steht für die Diagnostik ausschließlich der Basophilen-Degranulationstest (BDT) zur Verfügung. Etabliert sind die Testungen auf Methylmethacrylat, Hydroxyethylmethacrylat (HEMA), Triethylenglycol-dimethacrylat (TEGDMA), Diurethandimethacrylat und BIS-GMA. Alternativ sind auch im BDT Testungen auf native Kunststoffaufbereitungen möglich.

Eine Sensibilisierung muss nicht mit einer lokalen Symptomatik an der Kontaktstelle einhergehen.

Vor allem in der zahnärztlichen Praxis wird bis heute vielfach angenommen, dass eine klinisch relevante Sensibilisierung zwingend mit einer (oralen) Lokalsymptomatik einhergehen muss. Dieses ist nicht der Fall. Es ist bekannt, dass die orale Mukosa auf Grund ihrer immunologischen Besonderheiten eher wenig reaktiv ist und nicht in jedem Fall einer Typ-IV-Sensibilisierung bei Allergenkontakt mit einer Entzündung an Ort und Stelle reagieren muss (26; 16). Die Lipidzusammensetzung der Mukosa unterscheidet sich deutlich von der der Epidermis (23). Viele Substanzen dringen durch das fehlende Stratum corneum schneller in die Mukosa ein und werden durch die starke Durchblutung des Stratum reticulare sofort abtransportiert (22). Intraepithelial können Fremdstoffe in der Mukosa vermutlich durch Cytochrom-P 450 einer Biotrans-

formation unterliegen (28). Ob und wie zusätzlich die ca. 400 Bakterienarten im Mundraum die Immunantwort beeinflussen, ist bisher nur unzureichend geklärt (25). Es ist somit fraglich, ob alle auf die Mukosa gelangenden Fremdsubstanzen intraepithelial zu einer identischen Haptenaufbereitung wie in der Hautepidermis führen.

Zu den Zellen, die hauptsächlich für die Initiierung einer lokalen Entzündungsreaktion verantwortlich sind, gehören die Langerhanszellen. Funktionelle Unterschiede zwischen Langerhans-Zellen aus der Epidermis und der oralen Mukosa sind beschrieben. So tragen Langerhans-Zellen der Mukosa vermehrt den Fc epsilon RI-Rezeptor (1) und sind besonders zu einer allogenen T-Zell-Stimulation in vitro befähigt (11). Vergleichende Provokationstestungen an Schleimhaut und Haut haben gezeigt, dass die zur Auslösung einer Schleimhautreaktion notwendigen Allergenkonzentrationen 5-12mal höher sind, als an der Haut (17).

Für die Entwicklung einer allergischen Schleimhautreaktion gegen eine Fremdschubstanz ist es zudem entscheidend, wann und wo der Primärkontakt, das heißt der prägende immunologische Erkennungsprozess stattgefunden hat, an der Schleimhaut, der Haut oder zum Beispiel über den Darm. Die genannten Unterschiede machen verständlich, warum einerseits positive Hauttestreaktionen nicht immer auch mit oralen Manifestationen einhergehen, andererseits aber auch, dass kontaktallergische Schleimhautreaktionen sich nicht in jedem Fall an der Haut manifestieren (5). Ob der Nachweis einer allergischen Reaktion durch Testung am Erfolgsorgan, also an der Mundschleimhaut (Epimukosatestung) eine Alternative sein könnte, wurde zum Teil erfolgreich untersucht (2). Diese Methoden sind jedoch wegen des erheblichen Aufwandes und der Belastung des Patienten (5-12mal höhere Allergenkonzentrationen notwendig, siehe oben) nicht praktikabel (5).

Mit der Effektorzelltypisierung (Allergen-induzierte Zytokinsekretion) kann die aktuelle klinische Relevanz einer Sensibilisierung untersucht werden.

Der kausale Zusammenhang einer nachgewiesenen Typ IV-Sensibilisierung mit der bestehenden Klinik ist allein durch den LTT oder auch den Epikutantest nicht zu beweisen. Eine Sensibilisierung kann auch latent vorliegen, das heißt, nicht jeder Sensibilisierte hat eine klinisch manifeste Allergie. Die Effektorzelltypisierung ist dann von Bedeutung, wenn eine therapeutische Materialentfernung erwogen wird. Hier sollte vorher sichergestellt sein, dass sich die Beschwerden des Patienten nach der Entfernung auch wirklich bessern. Bei vorbeugenden Testungen wird man dagegen jede Sensibilisierung dahingehend berücksichtigen, dass das entsprechend positiv getestete Material nicht verwandt wird.

In den Fällen, in denen eine nachgewiesene Sensibilisierung nicht mit einer aktiven inflammatorischen Reaktivität auf das entsprechende Kontaktallergen assoziiert ist, handelt es sich aber keineswegs um falsch-positive Ergebnisse, sondern um balancierte Sensibilisierungen. Kausal beteiligt sind CD25+ regulatorische T-Zellen (T_{reg}-Zellen), die eine Immuntoleranz aufrechterhalten können (6). Die T_{reg}-Zellen vermitteln die Toleranz einerseits durch direkte Anergie-induzierenden Zellkontakt sowie zum Zweiten durch IL10-Sekretion (21). Durch die Effektorzelltypisierung erfolgt die Zuordnung einer Sensibilisierung zum zytotoxischen oder aber balancierten Reaktionstyp durch Analyse der allergeninduzierten Zytokinsekretion. Ein Überwiegen von IFN γ spricht für eine aktuelle zytotoxische Reaktion und sollte eine Materialentfernung zur Folge haben. Eine IL10-dominante Effektorzelltypisierung charakterisiert die Sensibilisierung dagegen als latent und balanciert.

Arztlicher Befundbericht		
Vielen Dank für Ihre Überweisung. Wir haben folgenden Befund erhoben:		
Patient	Tagesnummer	Geburtsdatum
	2576767	
Institut für Medizinische Diagnostik Berlin Nicolaistraße 22, 12247 Berlin Tel. (030) 77001-220, Fax -236		
Eingang	02.04.07	Ausgang 04.04.07
Allergen-induziertes TH1/TH2-Zytokinprofil (Effektorzelltypisierung)		
		Normalwert
IFN- γ (Material 1)	5,8	IU/ml < 0,3
IL-10 (Material 1)	< 5,0	pg/ml < 5,0
Testallergen: Gold		
IFN- γ (Material 2)	< 0,3	IU/ml < 0,3
IL-10 (Material 2)	377	pg/ml < 5,0
Testallergen: Methylmethacrylat		
Der Befund zeigt eine deutliche Freisetzung von IFN γ durch Gold, was für eine TH1-dominante zelluläre Sensibilisierung spricht. Eine Materialentfernung ist angeraten. Im Unterschied dazu liegt auf das Methylmethacrylat eine IL10-dominante latente (balancierte) Sensibilisierung vor, die aktuell nicht mit einer Entzündungsreaktion assoziiert ist (hier keine dringende Indikation für eine Entfernung).		

Abb. 4: Ergebnis der Effektorzelltypisierung bei einer 54-jährigen Patientin mit bekannter Sensibilisierung auf Gold und Methylmethacrylat (MMA). Die Untersuchung zeigt eine proinflammatorische Effektorreaktion ausschließlich auf Gold, was die Entfernung vorhandener Goldinlays zur Folge hatte.

Organische Zerfallsprodukte wie Mercaptane und Thioether können einen immunologischen Fokus darstellen

Marktote Zähne können ein Fokus für eine immunologische Unverträglichkeitsreaktion sein. Selbst mit noch so perfekten Methoden der Wurzelbehandlung gelingt es nicht, sämtliches zerfallenes Gewebe aus einem Zahn zu entfernen. Somit entstehen immer zerfallene Eiweißprodukte, aus denen potentiell immunogene Stoffe wie Mercaptane, Thioether und andere Substanzen entstehen. Die Toxizität dieser Produkte ist seit längerem bekannt, wobei die toxischen Effekte häufig allein nicht die beschriebenen Entzündungsreaktion erklären können. Diese haben immunologische Überempfindlichkeiten zur Ursache die damit zu erklären sind, dass das Immunsystem abgestorbenes körpereigenes Gewebe eliminieren muss. Auch wenn somit ein Angriff der Immunzellen auf organische Fäulnis- und Nekroseprodukte „normal“ ist, unterscheiden sich Patienten im Ausmaß aber auch der Art dieser Immunreaktionen. Man hat gefunden, dass es ähnlich zu Acrylaten oder Kontaktallergenen auch hier z.T. überschießende und dauerhafte Immunaktivierungen gibt bei denen letztlich die Entzündung selbst durch die andauernde Persistenz des auslösenden Reizes zum Problem wird.

Die Tatsache, dass anders als bei den allergischen Materialunverträglichkeiten hier nicht schon die bloße Sensibilisierung pathognomisch ist, sondern vielmehr die Art der damit assoziierten Immunreaktion, macht deutlich, warum hier nur zytokinbasierte Entzündungsanalysen einen diagnostischen Weg darstellen. Im LTT oder anderen klassischen Allergietests würde man die „normale“ Immunreaktion nicht von der zytotoxischen übersteigerten Immunreaktion unterscheiden können.

Die Diagnostik erfolgt mit der Effektorzelltypisierung auf Mercaptane, Thioether sowie in Sonderfällen auch Putreszin und Skatol. Der Grad der immunologischen Entzündung ergibt sich dabei nicht aus der Höhe der Immunreaktion sondern vielmehr aus dem Verhältnis von induziertem IFN γ (TH1) im Vergleich zum IL10 (T_{reg}).

Arztlicher Befundbericht		
Vielen Dank für Ihre Überweisung. Wir haben folgenden Befund erhoben:		
Patient	Tagesnummer	Geburtsdatum
	2573233	
Institut für Medizinische Diagnostik Berlin Nicolaistraße 22, 12247 Berlin Tel. (030) 77001-220, Fax -236		
Eingang	02.04.07	Ausgang 04.04.07
Allergen-induziertes TH1/TH2-Zytokinprofil (Effektorzelltypisierung)		
		Normalwert
IFN- γ Mercaptan	11,8	IU/ml < 0,3
IL-10 Mercaptan	< 5,0	pg/ml < 5,0
IFN- γ Thioether	15,3	IU/ml < 0,3
IL-10 Thioether	44,2	pg/ml < 5,0
IFN- γ Skatol	4,3	IU/ml < 0,3
IL-10 Skatol	< 5,0	pg/ml < 5,0
Der Befund zeigt eine deutliche Freisetzung von IFN γ durch die getesteten Eiweißzerfallsprodukte. Dieser Befund unterstützt den klinischen Verdacht auf eine durch diese Substanzen induzierte lokale oder systemische Entzündungsreaktion.		

Abb. 5: Ergebnis der in vitro-induzierten Zytokinsekretion (Effektorzelltypisierung) auf Schwefel-Eiweiß-Verbindungen bei einem Patienten mit vier Wurzel-behandelten Zähnen und einer seit 3 Jahren bestehenden Rheumatoidarthritis.

Titan ist ein besonderes Metall

Dass ausgewählte Patienten auf Titanimplantate Unverträglichkeitsreaktionen zeigen, ist durch orthopädische aber auch zahnmedizinische Fallbeispiele gut belegt. Im Unterschied zu anderen Metallen spielen die Typ IV-Sensibilisierungen hier allerdings nur eine untergeordnete Rolle. Titan liegt im Gegensatz zu Metallen wie Gold, Quecksilber oder Nickel nicht in freier ionisierter Form vor, da es in physiologisch vorkommenden pH-Wert-Bereichen in wässriger Lösung unmittelbar nach seiner Freisetzung oxidiert wird. Somit ist Titan, anders als die übrigen Metalle, nicht in der Lage, mit körpereigenen Proteinen zu reagieren und diese zu modifizieren. Typ IV-Sensibilisierungen scheiden somit (extrem niedrige pH-Wert-Zustände ausgenommen) als Unverträglichkeitsmechanismen aus.

Man geht heute davon aus, dass die Unverträglichkeiten von Titan durch eine verstärkte Entzündungsreaktion auf Abriebpartikel bedingt sind. Diese werden durch Gewebemakrophagen phagozytiert und induzieren die Ausschüttung von osteoresorptiven Zytokinen (TNF α , IL1). Das breite Wirkspektrum dieser proentzündlichen Schlüsselzytokine welches über den Ort ihrer Entstehung hinaus geht, erklärt die vielfachen Symptome der betroffenen Patienten.

In Kenntnis des tatsächlichen Mechanismus wird verständlich, weshalb weder der Lymphozytentransformationstest noch der Epikutantest in der Vergangenheit bei der Fragestellung „Titanunverträglichkeit“ verlässliche Ergebnisse erbringen konnte.

Der Titan-Stimulationstest und nicht der LTT erkennt die Titan-Unverträglichkeit.

Die neuerdings verwendeten Testverfahren zielen darauf ab, Blutmonozyten des Patienten in der Laborkultur zu Makrophagen zu differenzieren und dann mit Titanpartikeln entsprechender Größe zu provozieren. Der Grad der dabei induzierten Entzündungsantwort wird an Hand der angegebenen Schlüsselzytokine TNF α und IL1 gemessen (8). Hohe Werte im Test zeigen eine überschießende Entzündungsreaktion des Patienten und belegen das Vorliegen einer Titan-Unverträglichkeit. Der Fakt, dass diese Unverträglichkeit durch eine Entzündungsreaktion auf Abriebpartikel bedingt ist, erklärt, dass hier die individuelle Entzündungsbereitschaft des Patienten von großer Bedeutung ist. Mit welcher Intensität und Dauer proinflammatorische Zytokine nach Phagozytose der Partikel durch die Makrophagen freigesetzt werden, ist individuell verschieden und genetisch determiniert (siehe nächster Abschnitt). Die Tatsache, dass positive Titansti-

mulationsteste vor allem bei sogenannten High-Responder-Entzündungstypen zu finden sind, legt den Verdacht nahe, dass die Titanabriebprodukte hier Modellcharakter für immunogene Fremdpartikel haben. Allerdings ist diese Immunogenität nicht allein von der Partikelgröße abhängig sondern auch vom Material. In einer Studie der Universitätsklinik Essen wurde gezeigt, dass Aluminiumkeramikpartikel (Al_2O_3) eine im Vergleich zu Titan geringere Entzündung induzieren und Zirkoniumoxidpartikel von Makrophagen nicht als fremd erkannt werden (24).

Patient		Tagebuch-Nr.	Geburtsdatum	Ärztlicher Befundbericht	
[Redacted]		2534877	[Redacted]	Institut für Medizinische Diagnostik Berlin Neuhausstraße 22, 12247 Berlin Tel. (030) 77001-220, Fax. (030) 77001-238	
Eingang	16.04.07	Ausgang	17.04.07		
Titan-Stimulationstest			Normalwert		
TNF-alpha nach Titanstimulation			166	pg/ml	< 25
IL1-beta nach Titanstimulation			21	IU/ml	< 10
Befund: Nachweis einer deutlichen Induktion der Entzündungszytokine TNF-alpha und auch IL1-beta nach Stimulation der Patientenzellen mit Titanoxidpartikeln. Dieser Befund spricht für eine individuell erhöhte Entzündungsantwort des Patienten auf Titan. Eine Expositionsvermeidung sollte erfolgen.					

Abb. 6: Der Titanstimulationstest zeigt bei diesem Patienten eine deutliche Hyperreaktivität der Makrophagen nach Kontakt mit Titanoxidpartikeln. Die Verwendung von Titanimplantaten kann in diesem Fall nicht empfohlen werden.

Jeder Patient hat eine individuelle genetisch bedingte Entzündungsbereitschaft.

Gerade der Mechanismus der Titanunverträglichkeit verdeutlicht, dass nicht nur allergische Sensibilisierungen (T-Zell-spezifisch oder spezifisches IgE) sondern auch unspezifische Entzündungsreaktionen für Unverträglichkeiten verantwortlich sein können. Titanpartikel, bakterielle (anaerobe) Keime, Autoantigene etc. stellen aktivierende Entzündungsreize für Makrophagen dar. Mit welcher Intensität die Zytokine IL1, TNF α bzw. IL-1RA nach Aktivierung der Makrophagen freigesetzt werden, wird durch Polymorphismen in den Genen dieser Zytokine bestimmt und hat eine Graduierung der individuellen Entzündungsbereitschaft von Normal- bis hin zu sogenannten High-Respondern zur Folge. Unverträglichkeiten auf Titanpartikel treten daher gehäuft bei High-Responder-Patienten auf, da diese eine verstärkte Entzündungsantwort aufweisen.

Entzündungsreize sind somit kausale Faktoren für Parodontiden und andere entzündliche Prozesse. Sicherlich haben aber auch die spezifischen Sensibilisierungen über die Ausschüttung von IFN γ eine Makrophagenaktivierung zur Folge. Verantwortlich für die Zerstörung des Zahnhalteapparates ist letztlich aber dann die körpereigene Entzündungsreaktion. Die Häufigkeit und Ausprägung parodontaler Erkrankungen sind nachweislich an High-Responder-Genkonstellationen (v.a. Grad 2-4) gebunden und die Wahrscheinlichkeit, während der Erhaltungsphase weitere Zähne zu verlieren, war in Studien beim Vorliegen auch nur eines weiteren Risikofaktors (z.B. Rauchen) um das 7,7-fache erhöht. Die knochenresorbierende Wirkung von IL1 erklärt, warum Patienten die vermehrt IL1 ausschütten, nachweislich ein erhöhtes Risiko für einen Implantatverlust haben. Die Kenntnis des Entzündungsgrades erlaubt daher die Einschätzung von Misserfolgen vor aufwendigen orthopädischen und zahnmedizinischen Sanierungen, kann aber auch der Ursachendiagnostik bei verzögerter Einheilung dienen.

Da die Ausstattung aller Gewebemakrophagen identisch ist, beeinflusst die individuelle Entzündungsneigung alle Entzündungsherde im Körper. Daher ist es nicht verwunderlich, dass die ursprünglich im Rahmen der Parodontitis-Diagnostik untersuchte individuelle Entzündungsneigung inzwischen auch bei einer Vielzahl von Krankheiten

wie Osteoporose, Multipler Sklerose, Rheumatoid-Arthritis und anderen Autoimmunerkrankungen gleichermaßen bestätigt wurde.

Die moderne Labormedizin liefert der Zahnmedizin diagnostische Methoden für folgende Fragestellungen:

- Nachweis bestehender systemischer Entzündungsreaktionen
- Ursachendiagnostik bestehender systemischer Entzündungen (Fokussuche)
- Nachweis von immunologischen Sensibilisierungen bei klinischem Verdacht auf Werkstoffunverträglichkeiten
- Einschätzung der aktuellen klinischen Relevanz einer bestehenden Sensibilisierung
- Ausschluss von Sensibilisierungen bei hochsensiblen Patienten und Patienten mit bestehenden systemischen Entzündungserkrankungen vor prothetischer Neuversorgung, Endodontie und Implantation (präventive Testung)
- Individuelle genetisch bedingte Entzündungsbereitschaft (Grad 0 bis 4)

Der gezielte Einsatz verschiedener Testverfahren sowie die Interpretation der Ergebnisse und deren klinische Umsetzung erfordert einen engen Dialog zwischen Zahnarzt, Dental- und immunologischem Diagnostiklabor. Zukünftig sollte die intensive interdisziplinäre Kommunikation zwischen Zahnmedizin, Zahntechnik und anderen medizinischen Fachdisziplinen Grundlage für eine optimale Behandlung betroffener Patienten sein.



1. Allam JP, Novak N, Fuchs C, Asen S, Berge S, Appel T, Geiger E, Kochan JP, Bieber T. Characterization of dendritic cells from human oral mucosa: a new Langerhans' cell type with high constitutive Fc-epsilon-R1 expression. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112:141-8.
2. Axell T, Spiechowicz E, Glantz PO, Andersson G, Larsson A. A new method for intraoral patch testing. *Contact Dermatitis.* 1986;15:586-2.
3. Baehr V von et al. Improving the in vitro antigen specific T cell proliferation assay: the use of interferon-alpha to elicit antigen specific stimulation and decrease bystander proliferation. *J Immunol Methods.* 2001;251:63-71.
4. Bourke J.F., Batta K, Prais L, Abdullah A, Foulds I. The reproducibility of patch test. *Br J Dermatol.* 1999;140:102-5
5. Brasch J. et al. Reproducibility of patch tests, *J Acad Dermatol* 1994;31:584-91
6. Cavani A. et al. Human CD25+ regulatory T cells maintain immune tolerance to nickel in healthy, nonallergic individuals. *J. of Immunology* 2003;171:5760-8.
7. Cederbrant K, Hultman P, Marcusson JA, Tibbling L. In vitro lymphocyte proliferation as compared to patch test using gold, palladium and nickel. *Int Arch Allergy Immunol.*1997;112:212-217
8. Dörner T, Haas J, Loddenkemper C, von Baehr V, Salama A. Implant-related inflammatory arthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2006;2:53-6
9. Everness KM, Gawkrödger DJ, Botham PA, Hunter JA. The discrimination between nickel-sensitive and non-nickel-sensitive subjects by an in vitro lymphocyte transformation test. *Br J Dermatol.* 1990;122:293-8.
10. Hallab NJ. et al. Lymphocyte transformation testing for quantifying metal-implant-related hypersensitivity responses. *Dermatitis.* 2004;15:82-90.
11. Haseus B, Jontell M, Bergenholtz G, Eklund C, Dahlgren UI. Langerhans cells from oral epithelium are more effective in stimulating allogeneic t-cells in vitro than Langerhans cells from skin epithelium. *J Dent Res.* 1999;78:751-8.

12. Iris Ale S. et al. Reproducibility of patch test results : a concurrent right-versus left study using TRUE Test. *Contact Dermatitis* 2004;50: 304-12.
13. Lindemann M et al. ELISpot: a new tool for the detection of nickel sensitization. *Clin. Exp. Allergy* 2003;33:992-8
14. Lindstrom M, Alanko K, Keskinen H, Kanerva L. Dentist's occupational asthma, rhinoconjunctivitis, and allergic contact dermatitis from methacrylates. *Allergy*. 2002;57:543-5.
15. Lyzak W. et al. Diagnosis and treatment of an oral base-metal contact lesion following negative dermatological patch test. *Ann Allergy* 1994;73:161-5
16. Moneret-Vautrin D.A. Allergy to nickel in dental alloys. *Europ. Annals of Allergy and Clin Immunol* 2004;36:311-2
17. Nielsen C, Klaschka F. Test studies on the mouth mucosa in allergic eczema. *Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl* 1971;57:201-18
18. Paquette, R.L. et al. Interferon-alpha and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor differentiate peripheral blood monocytes into potent antigen-presenting cells. *J Leukoc Biol* 1998;64:358-67
19. Rasanen L, Tuomi ML. Diagnostic value of the lymphocyte proliferation test in nickel contact allergy and provocation in occupational coin dermatitis. *Contact Dermatitis*. 1992; 27:250-4
20. Rietschel RL. et al. Practical aspects of patch testing. In *Fisher's Contact Dermatitis* (Rietschel RL, Fowler JF, eds.) 5th edn. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001;9-26
21. Rustemeyer T. Analysis of effector and regulatory immune reactivity to nickel. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1458-66.
22. Scardina GA, Messina P. Study of the microcirculation of oral mucosa in healthy subjects. *Ital J Anat Embryol*. 2003;108:39-48.
23. Squierer CA. The permeability of oral mucosa. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1991;2:13-32.
24. Sterner T, Schütze N. Auswirkungen von klinisch relevanten Aluminium Keramik-, Zirkonium Keramik und Titanpartikel unterschiedlicher Größe und Konzentration auf die TNF α Ausschüttung in einem humenen Makrophagensystem. *Biomed. Technik* 2004: 49; 340-44
25. Sugawara S, Uehara A, Tamai R, Takada H. Innate immune responses in oral mucosa. *J Endotoxin Res*. 2002;8:465-8.
26. Temesvasi E et al. Nickel sensitivity from dental prosthesis. *Contact Dermatitis* 1988;18:50-51.
27. Vamnes JS, Gjerdet NR, Morken T, Moe G, Matre R. In vitro lymphocyte reactivity to gold compounds in the diagnosis of contact hypersensitivity. *Contact Dermatitis*. 1999;41:156-60.
28. Vondracek M, Xi Z, Larsson P, Baker V, Mace K, Pfeifer A, Tjalve H, Donato MT, Gomez-Lechon MJ, Grafstrom RC. Cytochrome P450 expression and related metabolism in human buccal mucosa. *Carcinogenesis*. 2001;22:481-8.
29. Kornman et al. : The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Peridontol, Journal of clinical periodontology*, 1997;24(1):72-77
30. Hallegua & Weisman (2002). Potential therapeutic uses of interleukin1 receptor antagonists in human diseases. *Ann Rheum, Annals of the rheumatic diseases*, 2002;61(11):960-967
31. Vergopoulos A, von Baehr V, Zalickova L, Müller C, Kleinert T. Genetische Polymorphismen im Interleukin-1-Cluster als Parameter für der Erfolg der Er:YAG-Laser-Therapie bei Patienten mit Parodontitis, *LaserZahnheilkunde*, 2004;4/04: 235-243
32. Khalil et al.: Tumour necrosis factor: implications for surgical patients. *ANZ journal of surgery*, 2006