

**Phänotypisierung von Lymphozyten und Analyse der löslichen  
Plasmaproteine bei Gesunden und Milbenallergikern vor und  
unter sublingualer Immuntherapie**

**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Stephanie Carla Reber  
geboren am 15.04.1982 in Greiz

**Gutachter :**

1. PD Dr. med. habil. Udo R. Markert (Universitätsklinikum Jena)
2. Prof. Dr. Dr. Claus Kroegel (Universitätsklinikum Jena)
3. Prof. Dr. med. habil. G. Zwacka (Robert-Koch-Krankenhaus Apolda)

**Tag der öffentlichen Verteidigung:** 02.07.2007

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

APC	antigenpräsentierende Zellen
ARIA	Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (Initiative der WHO)
A.U.	Allergy Units
BMI	Body Mass Index
BSA	Bovine Serum Albumin
CD	Cluster of Differentiation
Der p	Dermatophagoides pteronyssinus (Hausstaubmilbe)
DNS	Desoxyribonukleinsäure
ELAM	Endothelium Leukocyte Adhesion Molecule (E-Selektin, CD62E)
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorter
FcεRI	hochaffiner IgE-Rezeptor
FcεRII	niedrigaffiner IgE-Rezeptor (CD23)
FEV1	forcierte expiratorische Vitalkapazität in 1 Sekunde
FITC	Fluoreszein-Isothiocyanat
FSC	Forward Light Scatter
GINA	Global Initiative for Asthma
HRP	Horse Radish Peroxidase
HSM	Hausstaubmilben
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IL-2R	Interleukin-2-Rezeptor
IT	Immuntherapie
JAK	Januskinase
KU	Kilo Units
LFA-1	Lymphocyte Function-associated Antigen-1
LBIT	Lokale Bronchiale Immuntherapie
LNIT	Lokale Nasale Immuntherapie
Mac-1	andere Bezeichnung für das Leukozytenintegrin CD11b:CD18
MHC	Major Histocompatibility Complex

NH-4	Ammonium
OIT	Orale Immuntherapie
PBS	Phosphate Buffered Saline
RAST	Radio-Allergo-Sorbent-Test
R-PE	R-Phycoerythrin
RPE-Cy5	RPE-Cyanin-5
RPMI	Rockwell Park Memorial Institute
sCD23	soluble CD23
SCIT	Subkutane Immuntherapie
sELAM	soluble Endothelium Leukocyte Adhesion Molecule
sICAM	soluble Intercellular Adhesion Molecule
sIL-2R	soluble Interleukin-2-Rezeptor
SIT	Spezifische Immuntherapie
s-Le <sup>x</sup>	Sialyl-Lewis <sup>x</sup> -Rest
SLIT	Sublinguale Immuntherapie
SSC	Side Scatter
STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription (Transkriptionsregulator)
TGF	Transforming Growth Factor (Wachstumsfaktor)
Th-Zellen	T-Helfer-Zellen
TMB	3, 3',5, 5'-Tetramethylbenzidin
TNF	Tumornekrosefaktor
VRM	Vorratsmilben
WHO	World Health Organisation

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1 ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>7</b>
<hr/>	
<b>2 EINLEITUNG</b>	<b>9</b>
<hr/>	
<b>2.1 Allgemeine Grundlagen zur Hausstaub- und Milbenallergie</b>	<b>9</b>
2.1.1 Terminologie	9
2.1.2 Milbenallergene und Kreuzreaktivität	10
2.1.3 Wirkung der HSM-Allergene und Pathogenese der Allergie	12
2.1.4 Häufig auftretende Symptomkomplexe	14
2.1.5 Diagnostik	16
2.1.6 Kausale Therapie und Allergenvermeidung	17
2.1.6.1 HSM-Allergenkarenz	17
2.1.6.2 Behandlung mit Akariziden	18
2.1.6.3 Behandlung mit Produkten auf der Basis von Neemöl	18
<b>2.2 Allergenspezifische Immuntherapie als Behandlungsmöglichkeit der Hausstaub- und Milbenallergie</b>	<b>19</b>
2.2.1 Allgemeine Bedeutung der allergenspezifischen Immuntherapie	19
2.2.2 Mechanismus der Immuntherapie	20
2.2.3 Indikationen und Kontraindikationen	20
2.2.4 Methoden der Immuntherapie	22
2.2.4.1 Subkutane Immuntherapie (SCIT)	22
2.2.4.2 Orale Immuntherapie (OIT)	22
2.2.4.3 Lokale Nasale Immuntherapie (LNIT)	23
2.2.4.4 Lokale Bronchiale Immuntherapie (LBIT)	24
2.2.4.5 Sublinguale Immuntherapie (SLIT)	24
<b>2.3 Grundlegende Funktion der untersuchten Oberflächenmoleküle und Plasmaproteine</b>	<b>25</b>
2.3.1 Allgemeine Bedeutung der untersuchten Oberflächenmoleküle	25
2.3.2 Allgemeine Bedeutung der untersuchten Plasmaproteine	26
<hr/>	
<b>3 ZIELSTELLUNG</b>	<b>28</b>
<hr/>	
<b>3.1 Ziele der Arbeit</b>	<b>28</b>
<b>3.2 Arbeitshypothesen</b>	<b>29</b>

<b>4 MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>30</b>
4.1 Patientenauswahl und Probengewinn	30
4.2 Durchführung einer sublingualen Immuntherapie (SLIT)	30
4.3 Erhebung der klinischen Daten	32
4.4 Bearbeitung der Blutproben	33
4.4.1 Gewinnung des Blutplasmas	33
4.4.2 Gewinnung der Lymphozyten	33
4.5 Bestimmung der Oberflächenmarker auf Lymphozyten	34
4.5.1 Markierung und Fixierung der Lymphozyten	34
4.5.2 Analyse mittels FACS	35
4.6 Messung der Adhäsionsmoleküle im Plasma mittels ELISA	37
4.6.1 Messung von sELAM-1	37
4.6.2 Messung von sIL-2R	38
4.6.3 Messung von sICAM-1	39
4.6.4 Übersicht über verwendete Chemikalien und Lösungen für ELISA	40
4.7 Tabellarische Übersicht über verwendete Materialien und Chemikalien	40
4.8 Statistik	41
<b>5 ERGEBNISSE</b>	<b>42</b>
5.1 Immunologische Parameter	42
5.1.1 Vergleich der B-Lymphozytenmarker CD23 und IgA von Gesunden und Allergikern vor und unter SLIT	42
5.1.1 Vergleich der T-Lymphozytenmarker CD54, CD69 und CD154 von Gesunden und Allergikern vor und unter SLIT	43
5.1.2 Vergleich der Adhäsionsmoleküle sELAM-1, sIL-2R und sICAM-1 im Plasma von Gesunden und Allergikern vor und unter SLIT	45
5.2 Vergleich der Klinik bei Allergikern vor und unter SLIT	46
5.2.1 Ausprägung der Rhinokonjunktivitis vor und unter SLIT	47
5.2.2 Asthmaausprägung vor und unter SLIT	48
5.2.3 Ausprägung der bronchialen Hyperreagibilität vor und unter SLIT	49
5.3 Zusammenhang zwischen immunologischen Parametern und Manifestation der atopischen Symptomatik	50
5.3.1 CD23	51
5.3.2 IgA	52

5.3.3 CD54	54
5.3.4 CD69	55
5.3.5 CD154	56
5.3.6 sELAM-1	58
5.3.7 sIL-2R	59
5.3.8 sICAM-1	61
<b>6 DISKUSSION</b>	<b>63</b>
<hr/>	
<b>6.1 Immunologische Parameter in den einzelnen Patientengruppen sowie im Zusammenhang mit der Ausprägung der klinischen Symptomatik</b>	<b>63</b>
6.1.1 Der IgE-Rezeptor CD23	64
6.1.2 Oberflächen-gebundenes IgA auf B-Zellen	65
6.1.3 Das Zelladhäsionsmolekül CD54 und seine lösliche Isoform sICAM-1	67
6.1.4 Das Aktivierungsantigen CD69	69
6.1.5 Der CD40-Ligand CD154	71
6.1.6 Das Endothelzell-Adhäsionsmolekül sELAM-1	72
6.1.7 Der Interleukin-2-Rezeptor sIL-2R	74
<b>6.2 Klinische Effekte der sublingualen spezifischen Immuntherapie</b>	<b>77</b>
<b>7 SCHLUSSFOLGERUNGEN</b>	<b>80</b>
<hr/>	
<b>LITERATUR- UND QUELLENVERZEICHNIS</b>	<b>82</b>
<hr/>	
<b>ANHANG</b>	<b>92</b>
Erhebungsbogen mit Bewertungsschema für die allergische Symptomatik	92
Gesamtübersicht 1	93
Gesamtübersicht 2	97
Lebenslauf	101
Danksagung	102
Ehrenwörtliche Erklärung	103

## 1 ZUSAMMENFASSUNG

**Hintergrund:** Die spezifische Immuntherapie spielt als kausale Behandlungsmöglichkeit neben der Allergenkenz im Rahmen der Hausstaub- und Milbenallergie eine besondere Rolle. In der Vergangenheit haben verschiedene klinische Doppelblindstudien gezeigt, dass die sublinguale Immuntherapie (SLIT) im Vergleich zur renommierten subkutanen Applikationsform ebenso wirksam ist und gleichzeitig ein weitaus geringeres Risiko an gefährlichen systemischen Nebenwirkungen in sich birgt. Dennoch ist bis heute wenig über den spezifischen Effekt bei pädiatrischen Patienten und den Wirkmechanismus der SLIT bekannt, so dass man bestrebt ist, die molekularen Abläufe genauer zu analysieren und mögliche Parameter zur Verlaufskontrolle für diese Behandlungsform zu finden.

**Ziele:** In dieser Arbeit wurden Milbenallergiker vor ( $n = 36$ ) und während ( $n = 23$ ) einer 1 bis 3jährigen sublingualen Immuntherapie sowie gesunde Probanden ( $n = 26$ ) als unverbundene Stichproben hinsichtlich der Expressionsänderung von verschiedenen Oberflächenmolekülen auf B- und T-Lymphozyten sowie gelösten Adhäsionsmolekülen im Blutplasma untersucht. Des weiteren erfolgte die Analyse der Manifestation der allergischen Symptomkomplexe Rhinokonjunktivitis, Asthma und bronchiale Hyperreagibilität vor und während einer SLIT als verbundene und unverbundene Stichproben.

Zusätzlich wurde die Ausprägung der Schwere der allergischen Symptomaten mit den gemessenen Oberflächen- und Adhäsionsmolekülen in Verbindung gebracht, um mögliche Verlaufparameter für eine allergische Erkrankung vor und unter SLIT ausfindig zu machen.

**Material und Methoden:** Die Erhebung der klinischen Beschwerden der Milbenallergiker vor und während einer sublingualen Immuntherapie erfolgte mit Hilfe eines speziellen Bewertungsschemas in einem standardisierten Erhebungsbogen.

Die für die Untersuchung benötigten Lymphozyten wurden unter Verwendung eines Dichtegradienten gewonnen. Durch die Markierung der Lymphozyten mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern und anschließender FACS-Analyse (Durchflusszytometrie) konnten die prozentualen Anteile folgender Oberflächenmoleküle gemessen werden: CD54 (ICAM-1, interzelluläres Adhäsionsmolekül), CD69 (unspezifischer Aktivierungsmarker) und CD154 (CD40-Ligand) auf CD3- bzw. CD4- positiven T-Zellen; CD23 (FcεRII, niedrigaffiner IgE-Rezeptor) und IgA auf CD20-positiven B-Zellen.

Im Blutplasma wurde die lösliche Form der Adhäsionsmoleküle ELAM-1 (endotheliales Leukozytenadhäsionsmolekül), ICAM-1 (interzelluläre Adhäsionsmolekül) und IL-2R (Interleukin-2-Rezeptor) mittels ELISA bestimmt.

**Ergebnisse:** In der Auswertung zeigten Milbenallergiker vor einer sublingualen Immuntherapie signifikant höhere CD54-, CD69- und sELAM-1-Werte als Atopiker unter einer SLIT und gesunde Probanden. Bezüglich der Expression von CD23, CD154 und sICAM-1 konnte eine tendenziell gesteigerte Konzentration beobachtet werden. In Hinblick auf die IgA-Expression auf B-Lymphozyten wurden bei Atopikern vor Therapie ähnliche Werte wie bei Allergikern unter SLIT festgestellt, die im Vergleich zu Gesunden signifikant erhöht waren. Bei Patienten unter einer sublingualen Immuntherapie ergab sich außerdem ein signifikant niedrigerer sIL-2R-Wert als bei Milbenallergikern vor der Behandlung. In Bezug auf Entwicklung der klinischen Beschwerden konnte nach der sublingualen Immuntherapie bei allen Patienten eine Verbesserung hinsichtlich der drei untersuchten Symptomkomplexe Rhinokonjunktivitis, Asthma und bronchialer Hyperreagibilität festgestellt werden.

Beim Vergleich der Expression der verschiedenen Oberflächen- und Adhäsionsmoleküle mit der Manifestation der atopischen Symptomatik zeigte sich v.a. für die Parameter CD69, sELAM-1 und sICAM-1 eine signifikante positive Beziehung. Hinsichtlich aller übrigen Parameter fiel ein nicht signifikanter Zusammenhang auf.

**Schlussfolgerung:** Anhand der dargestellten Arbeit lässt sich die in der Literatur beschriebene Effektivität und Sicherheit der sublingualen Immuntherapie bestätigen. Da bei Allergikern vor einer sublingualen Immuntherapie durchgehend höhere Konzentration der untersuchten Oberflächen- und Adhäsionsmoleküle gefunden wurden als bei Patienten unter einer SLIT und gesunden Probanden, ist es möglich, dass infolge der spezifischen Immuntherapie der allergische Entzündungsprozess modifiziert wird. In diesem Zusammenhang zeigten besonders die Parameter CD69, sELAM-1 und sICAM-1 eine positive Abhängigkeit zur klinischen Schwere der atopischen Symptomatik, wodurch sie sich mit hoher Wahrscheinlichkeit als Verlaufsparemeter für allergische Erkrankungen und die sublinguale Immuntherapie eignen. Es ist jedoch notwendig, dieses Resultat anhand von größeren Patientenkollektiven, verbundenen Stichproben und längeren Zeiträumen in weiterführenden, prospektiven Studien zu überprüfen.

## 2 EINLEITUNG

### 2.1 Allgemeine Grundlagen zur Hausstaub- und Milbenallergie

#### 2.1.1 Terminologie

Eine Allergie ist eine erworbene Hypersensibilitäts- oder Überempfindlichkeitsreaktion, die im Rahmen einer gestörten immunologischen Funktion durch die Einwirkung einer körperfremden Substanz auf den menschlichen Organismus entsteht.

Als körperfremde Substanzen wirken dabei normalerweise unschädliche Antigene, die auch als Allergene bezeichnet werden. Der Erstkontakt mit diesen Allergenen verläuft zunächst klinisch stumm und erst bei erneuter Exposition treten Symptome mit Krankheitswert infolge von Gewebsschädigungen durch die nachteilige Immunreaktion auf. (Janeway CA et al. 2002, Jung EG und Moll I 2003) Die Hypersensibilität gegenüber Allergenen ist dabei spezifisch und wird im Erkrankungsverlauf durch eine Sensibilisierung erworben. Die klinische Manifestation von 80 % der Allergien erfolgt an der Haut und den angrenzenden Schleimhäuten, da sie eine wichtige Barriere zur Umwelt darstellen. (Jung EG und Moll I 2003)

Zahlreiche Allergien, einschließlich der Hausstaub- und Milbenallergie, verlaufen dabei im Rahmen einer Typ I-Reaktion nach Coombs und Gell, die durch IgE-Antikörper vermittelt wird. Sie wird auch als Reaktion vom Soforttyp bezeichnet. Ihre Pathogenese wird im Kapitel 2.1.3 beschrieben. Von einer echten Typ I-Reaktion ist die sogenannte Pseudoallergie abzugrenzen, die eine nicht immunologisch ausgelöste Unverträglichkeitsreaktion darstellt. Es findet dabei eine direkte Mediatorfreisetzung, z.B. von Histamin, statt, aber auch andere zelluläre Mechanismen spielen eine Rolle. (Jung EG und Moll I 2003)

Der Begriff Atopie bezeichnet eine individuelle bzw. familiäre Tendenz zur IgE-Produktion als Reaktion auf die Einwirkung von geringen Allergenmengen. Infolge dessen besteht eine hohe Neigung zur Entwicklung von typischen Symptomkomplexen wie Rhinokonjunktivitis, Asthma oder allergische Dermatitis. (Johansson SGO et al. 2001)

### 2.1.2 Milbenallergene und Kreuzreaktivität

Allergene sind Antigene, die durch immunologische Mechanismen eine Allergie oder eine Überempfindlichkeitsreaktion auslösen können. Die meisten Allergene, welche eine Produktion von IgE oder IgG hervorrufen, sind Proteine (Johansson SGO et al. 2001). Als Haupt- oder Majorallergene bezeichnet man Allergene, die bei über 50 % der Patienten zu einer IgE-Bildung führen (Bachert C und Wiesmüller A 2002).

Atopische Symptomenkomplexe, die im Rahmen einer Milbenallergie auftreten, können einerseits durch Hausstaubmilben (HSM) und andererseits durch sogenannte Vorratsmilben (VRM) verursacht werden. Beide Milbenarten werden unter dem Begriff der „domestic mites“ zusammengefasst. Hierbei sind alle Milbenarten im menschlichen Umfeld gemeint, die eine IgE-vermittelte allergische Reaktion vom Soforttyp bewirken können. (Franz JT 2004) Den Hauptauslöser für eine Milbenallergie stellt die Gruppe der Hausstaubmilben (HSM) dar, deren wichtigste Vertreter die Spezies *Dermatophagoides pteronyssinus* und *Dermatophagoides farinae* sind. Sie kommen überall in Europa vor und leben in abgelagertem Staub von städtischen und ländlichen Wohnhäusern. Vor allem in mikroklimatischen Nischen mit hoher Luftfeuchtigkeit wie Matratzen, Polstermöbeln, Teppichböden und Vorhängen, besteht eine hohe Tendenz zur Vergrößerung der Milbenpopulation. Ferner sammeln sich in diesen Bereichen größere Mengen an menschlichen Hautschuppen an, die die wesentliche Nahrungsquelle für die HSM darstellen. (Uecker M 1997, Franz JT 2004)

Die Majorallergene der wichtigsten Hausstaubmilbenspezies befinden sich beispielsweise im Milbenkot. Es handelt sich dabei um Cystein- bzw. Serinproteasen, die als proteolytische Enzyme wirken können (Arlan LG und Platts-Mills TAE 2001). Ihre DNS-Sequenz ist mittlerweile im Wesentlichen erforscht und sie sind teilweise als rekombinate Allergene für die spezifische Immuntherapie verfügbar (Chapman MD et al. 1997). Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die Hauptallergene der bedeutsamsten HSM-Spezies.

Tab. 1: Überblick über die wichtigsten Majorallergene von Hausstaubmilben (In Anlehnung an Franz JT 2004)

HSM-Spezies	Majorallergene
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> (Hausstaubmilbe)	Der p 1-10
<i>Dermatophagoides farinae</i> (Mehlstaubmilbe)	Der f 1-7, 10, 11, 14

Die Gruppe der Vorratsmilben (VRM) tritt im Gegensatz zu den Hausstaubmilben gehäuft im landwirtschaftlichen Arbeitsbereich auf. Hierbei zeigten vor allem Schweineställe, Heu- und Strohlager sowie Mahl-Misch-Anlagen eine vermehrte Kontamination. Des Weiteren kommen Vorratsmilben ebenfalls in ländlichen und städtischen Wohnbereichen, insbesondere in Küchen, Vorrats- und Kellerräumen vor (Müsken H 2004), da sie sich u.a. von Schimmelpilzen ernähren. In einigen Studien wurde gezeigt, dass ein Teil der Vorratsmilbenarten vor allem bei Landwirten zu einer atopischen Erkrankung führen kann (Blainey AD et al. 1989, Radon K et al. 2000). Klinisch konnte besonders eine rhinokonjunktivitisches und asthmatische Symptomatik festgestellt werden, die auch als „Scheunenallergie“ oder engl. „barn allergy“ bezeichnet wird. (Cuthbert OD et al. 1984, Müsken H 2004)

Da in dieser Arbeit jedoch ausschließlich Patienten mit Sensibilisierungen gegen Hausstaubmilben untersucht wurden, soll auf die Problematik der Vorratsmilben nicht näher eingegangen werden.

Unter dem Begriff Kreuzreaktivität versteht man eine molekulare Reaktion, bei der die IgE-Antikörper, die im Rahmen einer Allergie vom Soforttyp gegen ein bestimmtes Antigen gebildet werden, ebenfalls eine allergische Reaktion auf ähnliche Strukturproteine bewirken. Diese Interaktion mit homologen Antigenen kann hierbei eine atopische Symptomatik triggern oder keine klinische Relevanz haben (Ferreira F et al. 2004). Ursächlich sind ähnliche Eigenschaften in der Primär- und Tertiärstruktur der antigenen Proteine ausschlaggebend, wobei eine DNS-Sequenz- bzw. Epitopähnlichkeit von über 70 % Voraussetzung für eine Kreuzreaktion zu sein scheint (Aalberse RC 2000, Ferreira F et al. 2004).

In Bezug auf die Hausstaub- und Milbenallergie zeigten einige Studien, dass eine gleichzeitige Sensibilisierung mit Inhalationsallergenen von verschiedenen Vorratsmilbenarten (van der Heide S et al. 1998, Radon K et al. 2000) und Schabenspezies möglich sein kann (Witteman AM et al. 1995), wobei die klinische Relevanz noch unklar ist (Sidenius KE et al. 2001). Denkbare Kreuzreaktivitäten bestehen ebenfalls in Verbindung mit einigen Sarcopotesarten wie beispielsweise der Krätzmilbe *Sarcoptes scabiei* (Falk ES 1981, Moustafa EH et al. 1998).

Des Weiteren konnten in einigen Untersuchungen Zusammenhänge zwischen einer Milbenallergie und Nahrungsmittelallergien gegen Schalentiere (van Ree R et al. 1996a) und Schnecken (van Ree R et al. 1996b, Vuitton DA et al. 1998) gefunden werden. Die Manifestation dieser Nahrungsmittelallergien trat dabei besonders bei Patienten auf, die eine Immuntherapie gegen Hausstaubmilben erhielten, da die entsprechenden Allergene in konzentrierter Form zugeführt wurden und sich somit eine erhöhte IgE-Produktion entwickelte. (Sidenius et al. 2001)

### 2.1.3 Wirkung der HSM-Allergene und Pathogenese der Allergie

Nach heutigem Wissenstand ist der spezifische molekulare Wirkungsmechanismus der Hausstaub- und Milbenallergene und des bedeutsamsten Majorallergens Der p 1 in Bezug auf die allergischen Entzündungsreaktion der Atemwege noch nicht genau aufgeklärt. Im Wesentlichen existieren 4 verschiedene Theorien in Hinblick auf diesen Effektormechanismus. (Sharma S et al. 2003)

- 1) Durch die enzymatische Aktivität als Cysteinprotease kann Der p 1 das Atemwegsepithel direkt schädigen, indem es das Protein Occludin spaltet und dadurch die festen Zell-Zell-Verbindungen (tight junctions) zwischen den Epithelzellen unterbricht (Wan H et al. 1999, Wan H et al. 2000). Hierdurch können die HSM-Allergene ins Interstitium gelangen und so die Aktivierung von dendritischen Zellen auslösen. (Janeway et al. 2002)
- 2) Infolge der proteolytischen Funktion von Der p 1 ist eine Inhibition von  $\alpha_1$ -Antitrypsin möglich (Sharma S et al. 2003).  $\alpha_1$ -Antitrypsin ist ein wichtiges Enzym zum Schutz des Atemwegsepithels, da es die destruierende Aktivität von verschiedenen Proteasen (Carlson JA 1988), wie der neutrophilen Elastase (van Steenbergen W 1993), hemmt.
- 3) Da Der p 1 eine Cysteinprotease ist, beeinflusst es die allergische Reaktion direkt durch die Spaltung des Oberflächenmoleküls CD23 (Sharma S et al. 2003). Das CD23-Antigen fungiert als niedrigaffiner IgE-Rezeptor auf B-Lymphozyten, eosinophilen Granulozyten und dendritischen Zellen. Es erfolgt die Bindung von IgE an CD23 auf der B-Zell-Oberfläche, wodurch ein negatives Rückkopplungssignal auf die IgE-Synthese ausgelöst wird. Die Spaltung des CD23-Moleküls durch Der p 1 bewirkt eine Unterdrückung dieses Feedbackmechanismus, wodurch der IgE-Spiegel ansteigt (Hewitt CRA et al. 1995).
- 4) Der p 1 und andere HSM-Majorallergene wirken als potente Allergene, die direkt eine Hypersensitivitätsreaktion vom Typ I auslösen können. (Sharma S et al. 2003)

Die Hausstaub- und Milbenallergie stellt eine Immunreaktion vom Typ I nach Coombs und Gell dar, die durch IgE-Antikörper vermittelt wird. Ihre Pathogenese soll hier kurz erläutert werden.

Zu Beginn der Typ I-Reaktion wird das Allergen aus der Umwelt durch antigenpräsentierende Zellen (APC) aufgenommen, über den endolysosomalen Weg zersetzt und durch sogenannte MHC-Klasse-II-Moleküle auf der Zelloberfläche präsentiert. Die wichtigste Rolle spielen

dabei die dendritischen Zellen (McWilliam AS et al. 1995) einschließlich der Langerhanszellen in der Haut und in den Atemwegen (Fokkens WJ 1999). Nach dem peripheren Antigenkontakt wandern die dendritischen Zellen in die regionalen Lymphknoten und treten hier mit naiven CD4-T-Zellen, den Th0-Zellen, in Kontakt (Janeway CA et al. 2002). Durch das MHC-Klasse-II-Molekül wird der T-Zell-Rezeptor der T-Helfer-Zellen stimuliert, wobei als kostimulatorisches Signal die Interaktion zwischen dem T-Zell-Antigen CD28 und dem Oberflächenmolekül B7-2 wirkt (Caux C et al. 1994, Fokkens WJ 1999). Infolgedessen findet die Umwandlung der naiven Th0-Zellen in Th2-Effektor-Zellen statt, welche u.a. IL-4, IL-10 und IL-13 freisetzen. Diese Interleukine reagieren mit den Oberflächenrezeptoren von B-Zellen, wobei die Signalübertragung durch die Janus-Tyrosinkinasen JAK1 und JAK2 erfolgt. Hierdurch findet die Phosphorylierung des Transkriptionsregulators STAT6 statt, woraufhin die B-Zellen anstatt IgM vermehrt IgE bilden. Ein weiteres wesentliches Signal, welches zu diesem IgE-Isotypenwechsel führt, ist die kostimulierende Wechselwirkung zwischen dem B-Zell-Molekül CD40 und dem T-Zell-Antigen CD154 (CD40-Ligand). Die somit begonnene IgE-Produktion kann nun durch basophile und eosinophile Zellen sowie durch Mastzellen verstärkt werden. Alle drei Zelltypen besitzen auf ihrer Oberfläche FcεRI-Moleküle, welche hochaffine Rezeptoren für IgE darstellen. Nach Aktivierung können diese Zellen CD154 exprimieren und Il-4 produzieren, wodurch der IgE-Isotypenwechsel weiter verstärkt wird. (Janeway CA et al. 2002)

Durch die Quervernetzung der IgE-Antikörper mit den FcεRI-Oberflächenmolekülen der Mastzellen erfolgt ihre Degranulation, wodurch verschiedene gespeicherte Entzündungsmediatoren freigesetzt werden. (Janeway CA et al. 2002)

Von besonderer Bedeutung ist hierbei das biogene Amin Histamin, welches durch die Stimulation von H<sub>1</sub>-Rezeptoren zu einer gesteigerten Gefäßpermeabilität, Vasodilatation, einer erhöhten Schleimsekretion sowie Juckreiz führt. Hierdurch werden die charakteristischen allergischen Symptomaten in Form von Bronchokonstriktion, nasaler Obstruktion und Sekretion, Niesreiz sowie Pruritus bei der Urtikaria verursacht (Bachert C 2002). Eine weitere wichtige Rolle spielen die freigesetzten Leukotriene, die eine bis zu 1000-fach stärkere bronchokonstriktorische Wirkung als Histamin haben und außerdem durch eine Vasodilatation zur Ödembildung der Schleimhäute führen. Sie regen epitheliale und submuköse Drüsen zur Sekretproduktion an und verursachen chemotaktische Reize auf Leukozyten, insbesondere eosinophile Granulozyten, wodurch sie die allergische Entzündungsreaktion verstärken und aufrechterhalten. Durch die Erhöhung des

Atemwegswiderstandes haben sie eine besondere Bedeutung für die Pathogenese des allergischen Asthmas (Lommatzsch M und Virchow JC 2002).

Mit Hilfe dieser Entzündungsmediatoren, die durch Mastzellen freigesetzt werden, wird die sogenannte Sofortreaktion ausgelöst, welche innerhalb von Sekunden bis Minuten mit der entsprechenden Symptomatik einsetzt. Die Mastzellen induzieren dabei außerdem die Synthese von Chemokinen, Zytokinen und anderen Mediatoren, die weitere inflammatorische Leukozyten einschließlich eosinophiler Granulozyten und Th2-Lymphozyten anlocken. Diese Zellen organisieren sich nach 8 bis 12 Stunden zu einem Entzündungsherd, was auch als Spätreaktion der Typ I-Reaktion bezeichnet wird. Sie stellt dabei die Hauptursache für chronische Krankheitsbilder dar, wie beispielsweise die allergische Rhinokonjunktivitis oder das allergische Asthma. (Janeway CA et al. 2002)

#### 2.1.4 Häufig auftretende Symptomkomplexe

Zu den allergischen Symptomkomplexen, die im Rahmen einer Hausstaub- und Milbenallergie eine besondere Rolle spielen, gehören die allergische Rhinokonjunktivitis, das allergische Asthma sowie die bronchiale Hyperreagibilität.

Die allergische Rhinitis ist laut WHO-Definition eine wesentliche chronische Atemwegserkrankung, die gemäß der Dauer der Symptomatik nach dem ARIA-Protokoll in eine intermittierende und eine persistierende Form eingeteilt werden kann. Des Weiteren wird je nach Schwere der Symptomatik eine leichte und eine mäßiggradig-schwere Ausprägung unterschieden. (Bousquet J et al. 2001, Salib RJ et al. 2003)

Tab. 2: Einteilung der allergischen Rhinitis nach dem ARIA-Protokoll (in Anlehnung an Salib RJ et al. 2003)

<b>Rhinitis-Symptomatik</b>	<b>Bedeutung</b>
Intermittierend	Symptomatik < 4 Tage pro Woche <u>oder</u> 4 Wochen
Persistierend	Symptomatik > 4 Tage pro Woche <u>und</u> > 4 Wochen
Leicht	Symptomatik nicht/kaum störend, Lebensqualität nicht/kaum eingeschränkt (keine Schlafstörungen, keine Beeinträchtigung bei täglichen Aktivitäten, Freizeitbeschäftigungen, Schule oder Arbeit)
Mäßiggradig-Schwer	Symptomatik störend, Lebensqualität eingeschränkt (Schlafstörungen, Beeinträchtigung bei täglichen Aktivitäten, Freizeitbeschäftigungen, Schule oder Arbeit)

Als Leitsymptome einer allergischen Rhinitis treten vor allem Niesreiz, Sekretion, Obstruktion sowie konjunktivale Reaktionen am Auge auf. Im Fall der Hausstaub- und Milbenallergie leiden die Patienten häufig unter einer behinderten Nasenatmung, die besonders in den frühen Morgenstunden nach der nächtlichen Allergenexposition durch die Matratze auftritt. (Bachert C und Wiesmüller A 2002)

Beim allergischen Asthma handelt es sich um eine chronisch entzündliche Atemwegserkrankung, wobei nach den GINA-Richtlinien ebenfalls eine Unterteilung in intermittierende und persistierende Formen existiert.

Tab. 3: Einteilung des allergischen Asthmas nach den GINA-Richtlinien (in Anlehnung an Bachert C und Wiesmüller A 2002)

<b>Asthma-Stadium</b>	<b>Tagsymptome</b>	<b>Nachtsymptome</b>	<b>% FEV 1</b>
1) Intermittierend	< 1/Woche	< 2/Monat	> 80
2) Persistierend leicht	< 1/Tag	> 2/Monat	> 80
3) Persistierend mittelschwer	> 1/Tag	> 1/Woche	60-80
4) Persistierend schwer	ständig	oft	< 60

Klinisch zeigt sich eine Atemwegsobstruktion mit Husten, Giemen, Atemnot und thorakalem Engegefühl. In der diagnostischen Überprüfung deuten ein erhöhtes Gesamt-IgE (> 100 kU/l) sowie die Kombination mit atopischer Dermatitis oder Rhinokonjunktivitis auf eine allergische Genese hin und schaffen die Abgrenzung zum nicht-allergischen Asthma. Besonders Hausstaub- und Milbenallergiker zeigen ganzjährige Beschwerden durch die andauernde Allergenexposition. (Bachert C und Wiesmüller A 2002)

Unter einem anaphylaktischen Schock versteht man eine lebensbedrohliche, systemische Hypersensibilitätsreaktion, die als Maximalvariante einer Typ I-Allergie auftreten kann. Die Symptomatik entwickelt sich allmählich mit Juckreiz und Brennen im Rachenbereich, an den Handtellern und Fußsohlen bis hin zu generalisierten Ödemen, Urtikaria, Bronchospasmus, Blutdruckabfall und Herz-Kreislaufstillstand. (Johansson SGO et al. 2001)

### 2.1.5 Diagnostik

Um eine allergische Typ-I-Reaktion, wie beispielsweise die Hausstaub- und Milbenallergie, diagnostizieren zu können, sind verschiedene klinische Untersuchungen erforderlich. Grundlage ist hierbei eine ausführliche allergologische Anamnese, bei der die Dauer, Frequenz und Schwere der allergischen Symptomatik, aber auch die Vererbbarkeit von atopischen Erkrankungen in der Familie sowie die Exposition gegenüber auslösenden Umweltfaktoren analysiert wird. Hierzu zählen vor allem die vorherrschenden Wohnverhältnisse, das Vorhandensein von Haustieren sowie die Exposition gegenüber Tabakrauch. (Høst A et al. 2003) Die Verwendung von standardisierten Fragebögen ist dabei zur Erhebung der Anamnese sinnvoll (Bousquet J et al. 2001).

Des Weiteren wird mit Hilfe von in-vitro-Verfahren die IgE-Sensibilisierung der Patienten untersucht. Zum einen kann dabei die Gesamt-IgE-Konzentration im Blut bestimmt werden. Sie besitzt jedoch nur eine geringe klinische Relevanz, da sie ebenfalls bei Rauchern, parasitären Infektionen und verschiedenen anderen Erkrankungen des Immunsystems erhöht sein kann (Bachert C und Wiesmüller A 2002). Besser geeignet ist die Analyse des allergenspezifischen IgE-Spiegels (Høst A et al. 2003) im Blutserum, was in Anwendung von gültigen labortechnischen Methoden wie beispielsweise dem Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST) erfolgen kann (Yman L 2001).

Wesentlich für die Diagnostik von Typ I-Allergien ist außerdem die Durchführung von Hauttestungen. Die größte Bedeutung in der klinischen Praxis hat der Pricktest, da er lediglich einen geringen Arbeitsaufwand verursacht und eine ausreichende Sensitivität sowie Spezifität besitzt. Es erfolgt die intrakutane Applikation von verschiedenen Allergenextrakten in geringer Menge vorzugsweise an den Unterarmnenseiten, wobei das Testergebnis schon nach 15 Minuten abgelesen werden kann. Eine Quaddelbildung, lokaler Juckreiz sowie die Ausbildung eines unscharf begrenzten Erythems weisen dabei auf eine IgE-vermittelte allergische Reaktion hin, die auf den Testort begrenzt ist. Wichtig zu wissen ist, dass die positive Hautreaktion lediglich die Sensibilisierung des Patienten anzeigt, jedoch ohne eine vorhandene atopische Symptomatik nicht für die Diagnose einer Allergie ausreicht. (Bergmann KC und Mücken H 1992) Andere ähnliche Testverfahren sind der Intrakutantest, der Scratchtest und der Reibtest (Jung EG und Moll I 2003).

Die Diagnostik der allergischen Erkrankung kann zusätzlich durch Provokationstests ergänzt werden, um die organbezogene Symptomauslösung durch ein Allergen aufzuzeigen. Von besonderer Bedeutung für die Bestätigung einer Hausstaub- und Milbenallergie ist hierbei der

nasale Provokationstest, bei dem das wässrige Allergenextrakt nach der Vorprüfung mit einem Lösungsmittel auf die Schleimhaut eines Nasengangs appliziert wird. Nach 20 Minuten erfolgt eine rhinomanometrische Untersuchung beider Nasengänge und der Vergleich mit zuvor festgestellten Leerwerten. Außerdem werden die klinische Beschwerden notiert, wobei lokale Symptome wie Nasensekretion und Anzahl der Niesattacken, aber auch Fernsymptome wie z.B. Augentränen und -rötung, Gaumenjucken, Urtikaria und Atemnot beurteilt werden. (Bergmann KC und Müsken H 1994)

Um die Diagnostik von Allergien weiter zu spezifizieren und zu vereinfachen, wird derzeit besonders im zellulären und mikrobiologischen Bereich geforscht. Ziel ist es, neue Marker zu finden, die eine sichere Diagnose ermöglichen und die eng mit der atopischen Symptomatik korrelieren.

## 2.1.6 Kausale Therapie und Allergenvermeidung

### 2.1.6.1 HSM-Allergenkarrenz

Die Reduktion der Milbenallergene im häuslichen Umfeld der Patienten stellt die wichtigste Maßnahme zur Prävalenzminderung von allergischem Asthma und bronchialer Hyperreagibilität im Rahmen einer Hausstaub- und Milbenallergie dar (Peat JK und Li J 1999). Besonders Betten und Matratzen sind ein bedeutsames Reservoir für HSM-Majorallergene wie Der p1 (Schei MA et al. 2002) und für lebende Hausstaubmilben, da hier relativ große Mengen an menschlichen Hautschuppen als Nahrungsquelle für die Milben zu finden sind (Liccardi G et al. 2001). Eine Allergenreduktion kann durch intensives Staubsaugen der Matratzen erreicht werden, wobei die Konzentration an lebenden Milben nicht vermindert wird (Wickman M et al. 1997). Eine weitaus effektivere Maßnahme zur Allergenkarrenz stellt das sogenannte „Encasing“ (auf deutsch „einhüllen“) dar (Owen S et al. 1990, Bauer CP 1998, Nishioka K et al. 1998). Zum Umhüllen von Matratzen, Kopfkissen und Oberbetten eignen sich besonders dichtgewebte und ungewebte synthetische Bettüberzüge, da sie für Milben und Staub undurchlässig sind (Uecker M 1997, Vaughan JW et al. 1999). Des weiteren sollte die Bettwäsche bei mindestens 55°C regelmäßig gewaschen werden, weil bei dieser Temperatur noch lebende Hausstaubmilben abgetötet werden können. (McDonald LG und Tovey E 1992)

Eine hohe Konzentration an Hausstaubmilben zeigte sich ebenfalls in Teppichböden (Custovic A et al. 1996), die dementsprechend durch Holz-, Vinyl-, Linoleum- oder Fliesenböden ersetzt werden sollten (Liccardi G et al. 2001). Eine andere Möglichkeit zur Allergenreduktion ist das regelmäßige Staubsaugen des Teppichs unter Verwendung von optimalen Filtersystemen wie

HEPA (High Efficiency Particulate Air)-Filtern, die eine Filterleistung von 99,7% aufweisen und ein Staubrückhaltevermögen von mehr als 0,05 mg/m<sup>3</sup> haben, um eine Vergrößerung der Milbenpopulation zu verhindern (Munir AK et al. 1993).

Des Weiteren sollte die Innenraumfeuchtigkeit durch mehrmals tägliches Stoßlüften von 5-10 Minuten unter 45 % gehalten werden, um den Hausstaubmilben ein ungünstiges Lebensmilieu zu bieten (Bauer CP 1998, Liccardi G et al. 2001). Die definitive Wirkung dieser Maßnahme ist wissenschaftlich jedoch noch nicht bewiesen (Custovic A et al. 1998, Liccardi G et al. 2001).

Ein bedeutsames Transportmedium für Hausstaubmilben stellen Kleidungsstücke dar. Aus diesem Grund sollten sich Allergiker im Schlafzimmer weder an- noch auskleiden, um das Einschleppen von Milben zu vermeiden. Ferner sollte die Wäsche regelmäßig bei mindestens 60°C über 1 Stunde gewaschen werden. (Uecker M 1997)

#### 2.1.6.2 Behandlung mit Akariziden

Die sogenannten Antimilbenmittel, zu denen die Wirkstoffe Tanninsäure, Benzylbenzoat und verschiedene ätherische Öle gehören, können durch die äußere Behandlung von Matratzen und Teppichböden zur Allergenreduktion eingesetzt werden. Das wichtigste Akarizid Benzylbenzoat wirkt dabei als Fraßgift für Milben und tötet sie somit direkt ab. (Uecker M 1997)

Die Wirksamkeit dieser Produkte wird allerdings kontrovers diskutiert, so dass in einigen Studien ein positiver klinischer Effekt auf die atopische Symptomatik der Allergiker nachgewiesen werden konnte (Brown H und Merrett TG 1991, Hayden ML et al. 1992) und in anderen nicht (Huss RW et al. 1994, Marks GB et al. 1994, Rebman H et al. 1996, Lau S et al. 2002). Außerdem wird wahrscheinlich eine erneute Applikation der Akarizide nach 2-3 Monaten benötigt, um eine langfristige Allergenreduktion zu erzielen (Hayden ML et al. 1992).

Ferner sind die genauen Nebenwirkungen auf den menschlichen Organismus bei Langzeitanwendung der Akarizide noch unklar (Liccardi G et al. 2001).

#### 2.1.6.3 Behandlung mit Produkten auf der Basis von Neemöl

In neuerer Zeit werden freiverkäufliche Produkte auf der Basis von Neemöl (Synonym Margosaöl), wie beispielsweise das Präparat Milbiol, auf dem Markt angeboten. Sie enthalten Wirkstoffe des Neembaums, die Verhaltensänderungen bei den Milben bewirken und somit deren Wachstum und Entwicklung modifizieren sollen, wodurch es zum allmählichen Absterben der Hausstaubmilben kommen soll. Es liegt dementsprechend keine direkte

milbenabtötende bzw. akarizide Wirkung vor. Die Langzeitwirkung auf die allergische Symptomatik von Patienten mit Sensibilisierung gegen Hausstaub- und Milbenallergene bedarf jedoch einer genaueren Abklärung. (Rembold H und Oetzel H 2004)

## **2.2 Allergenspezifische Immuntherapie als Behandlungsmöglichkeit der Hausstaub- und Milbenallergie**

### **2.2.1 Allgemeine Bedeutung der allergenspezifischen Immuntherapie**

Die spezifische Immuntherapie (SIT), die auch als Hyposensibilisierung oder „Allergie-Impfung“ bezeichnet wird, stellt neben der Allergenkenz in der heutigen Zeit die einzige kausale Behandlungsform von Typ-I-Allergien dar (Klein-Tebbe J et al. 2001). Ihre klinische Wirksamkeit ist vor allem bezüglich der Prävention und Therapie von Insektengiftallergien (Ross RN et al. 2000a) und allergischer Rhinitis (Ross RN et al. 2000b) gut belegt. Außerdem hat die SIT wahrscheinlich einen positiven Einfluss auf die Progredienz von allergischen Erkrankungen, so dass sie bei Patienten mit allergischer Rhinokonjunktivitis die Entwicklung eines Asthmas verhindern werden kann (Bousquet J et al. 1998).

Die spezifische Immuntherapie in Form einer subkutanen Injektion von ansteigenden Allergendosen geht auf Noon im Jahr 1911 zurück (Noon L 1911). Seitdem wurde die SIT als Therapieoption immer weiter entwickelt und analysiert, so dass nach derzeitigem Forschungsstand auch lokale Applikationsformen möglich sind.

Die klinische Wirksamkeit der spezifischen Immuntherapie konnte bis jetzt durch verschiedene Studien dokumentiert werden (Bousquet J et al. 1988, Haugaard L und Dahl R 1992, Abramson MJ et al. 2000), so dass internationale Gremien (WHO) sowie europäische Verbände (EAACI, European Academy of Allergology and Clinical Immunology) und deutsche Fachgesellschaften (DGAI, Deutsche Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie) die SIT als Behandlungsmöglichkeit von IgE-vermittelten Allergien befürworten (Klein-Tebbe J et al. 2003).

Dennoch sind die Erkenntnisse bezüglich der genauen immunologischen Wirkungsweise und der Langzeiteffektivität noch unvollständig, weshalb weitere klinische und immunologische Untersuchungen angestrebt werden, um das Wissensspektrum zu erweitern.

### 2.2.2 Mechanismus der Immuntherapie

Die Wirkmechanismen der spezifischen Immuntherapie sind heutzutage im Einzelnen noch nicht genau erforscht. Es existieren jedoch verschiedene Theorien über die molekularen Abläufe während einer SIT.

Einerseits wurde erkannt, dass während einer allergenspezifischen Immuntherapie die vermehrte Produktion von TGF- $\beta$  und IL-10 in regulatorischen T-Zellen induziert wird. Beide Zytokine haben einen inhibitorischen Effekt auf die Th2-Zellen, denen bei der allergischen Pathogenese eine Schlüsselfunktion zukommt. (Bellinghausen I et al. 1997, Klein-Tebbe J et al. 2003) Durch die erhöhte Konzentration an TGF- $\beta$  und IL-10 wird außerdem die IgE-Produktion in den B-Zellen gehemmt und ein Klassenwechsel zu IgG4 und IgA induziert, wodurch die allergische Reaktion abgeschwächt wird (van Neerven RJJ et al. 1999, Akdis M et al. 2004).

Ferner supprimieren beide Zytokine direkt die an der Typ I-Reaktion beteiligten Entzündungszellen wie Mastzellen, basophile und eosinophile Granulozyten (Wilson DR et al. 2001). Besonders IL-10 vermindert die Freisetzung von IL-5 aus T-Zellen, wodurch die Proliferation von eosinophilen Granulozyten gehemmt wird. (Pierkes M et al. 1999, Akdis CA und Blaser K 2000, Akdis M et al. 2004)

Andererseits besteht die Annahme, dass durch die SIT eine gegenregulatorische Th1-Immunantwort eingeleitet wird. Die antigenpräsentierenden Zellen (APC) produzieren dabei vermehrt IL-12, welches die IFN- $\gamma$ -Ausschüttung der Th1-Zellen stimuliert. Hierdurch wird die IgE-Freisetzung aus den B-Zellen gehemmt und die Differenzierung von Th2-Lymphozyten reduziert. (Klein-Tebbe J et al. 2003, Akdis CA und Blaser K 2000)

### 2.2.3 Indikationen und Kontraindikationen

Die Anwendung der spezifische Immuntherapie erfolgt in Kombination mit anderen Therapiestrategien wie Allergenkarrenz, Pharmakotherapie und Patientenschulung, um bei den betroffenen Allergikern eine Symptomlinderung zu erreichen. Sie ist indiziert bei Patienten mit einer diagnostisch gesicherten IgE-vermittelten Typ-I-Allergie und vorhandenen klinisch relevanten Beschwerden (Rhinokonjunktivitis, Asthma bronchiale). Im Fall der HSM-Allergie kommt eine SIT besonders zum Einsatz, wenn Maßnahmen zur Allergenvermeidung, wie beispielsweise die Verwendung von Encasings, lediglich einen unzureichenden Effekt erzielen. Eine wesentliche Voraussetzung für die Durchführung einer spezifischen Immuntherapie stellt die Verfügbarkeit von standardisierten, qualitativ hochwertigen Allergenextrakten dar. (Klein-Tebbe J et al. 2001, Klein-Tebbe J et al. 2003) Dies trifft nach

derzeitigem Forschungsstand vor allem für die Allergengruppen Bienen- und Wespengift, Baumpollen, Gräser- und Roggenpollen, Hausstaubmilben, Beifuß, Katzenallergene und einige andere Tierepithelien zu. (Klimek L 2000)

In Hinblick auf die Anwendung müssen die Allergenextrakte durch einen Facharzt mit allergologischen Kenntnissen in Dosis und Applikationsart auf die klinischen Beschwerden des Patienten abgestimmt werden.

Beim therapeutischen Einsatz der spezifischen Immuntherapie ist es außerdem notwendig, wesentliche Kontraindikationen zu berücksichtigen, um die Entwicklung von unerwünschten Nebenwirkungen zu vermeiden.

Als absolute Kontraindikationen sind maligne Tumorleiden mit aktuellem Krankheitswert, schwerwiegende Immundefekte einschließlich Immunsuppressionen sowie eine unzureichende Compliance des Patienten, beispielsweise im Rahmen einer psychiatrischen oder Suchterkrankung, anzusehen. (Klimek L 2000)

Relative Kontraindikationen ergeben sich im Zusammenhang mit folgenden Erkrankungen:

- Funktionell relevante Veränderungen am Respirationssystem (besonders persistierendes Asthma und Atemwegsobstruktion mit  $FEV_1 < 70\%$ ) (Klimek L 2000, Klein-Tebbe J et al. 2003)
- Kardiovaskuläre Erkrankungen und Hyperthyreose mit erhöhtem Risiko von Nebenwirkungen nach Adrenalingabe (Klein-Tebbe J et al. 2003)
- Lokale und systemische Anwendung von Beta-Blockern (Hepner MJ et al. 1990) und ACE-Hemmern
- Chronische Infektionskrankheiten (z.B. Tbc), chronische Entzündungsprozesse im Rahmen von rheumatischen oder Autoimmunerkrankungen (Klimek L 2000)
- Schwerwiegende Allgemeinerkrankungen (z.B. Niereninsuffizienz, Lebererkrankungen) (Klimek L 2000)

Eine Schwangerschaft wird ebenfalls als relative Kontraindikation eingestuft, allerdings sollte eine SIT bei einer lebensbedrohlichen Hymenoptergiftallergie weiter fortgeführt werden (Rueff F et al. 2000). Über Frühgeburten unter dieser Therapie wurde berichtet (Mock BA et al. 2000).

## 2.2.4 Methoden der Spezifischen Immuntherapie

In der heutigen Zeit existieren verschiedene Behandlungsformen, um bei Allergikern mit Hilfe einer spezifischen Immuntherapie eine symptomatische Verbesserung zu erzielen. Zum einen besteht die Möglichkeit der subkutanen Immuntherapie (SCIT), bei der die Allergene in die Haut injiziert werden. Zum anderen finden immer häufiger sogenannte lokale Applikationsformen der Immuntherapie Anwendung, bei der die Allergenextrakte direkt auf die Nasenrachen- oder Bronchialschleimhäute aufgebracht werden. Hierzu gehören die orale (OIT), nasale (LNIT), bronchiale (LBIT) und sublinguale (SLIT) Immuntherapie. (Canonica GW und Passalacqua G 2003)

### 2.2.4.1 Subkutane Immuntherapie (SCIT)

Die subkutane spezifische Immuntherapie darf nur durch einen Arzt mit allergologischen Fachkenntnissen durchgeführt werden (Klein-Tebbe J et al. 2003). Die Allergene werden in Form von wässrigen Extrakten, Semi-Depot-Präparaten oder Allergoiden gegeben. Allergoide sind Allergene, die durch die Einwirkung von Formaldehyd oder Glutaraldehyd modifiziert worden sind und die ebenfalls Depoteigenschaften aufzeigen. (Klimek L 2000)

Die Injektion der Allergendosis erfolgt dabei streng subkutan, streckseitig und handbreit proximal des Olecranon. Der Patient muss mindestens 30 Minuten lang nach der Applikation ärztlich beaufsichtigt werden, um beim Eintreten von unerwünschten Nebenwirkungen, wie systemischen allergischen Reaktionen oder anaphylaktischem Schock, eine Notfallbehandlung einleiten zu können. (Klimek L 2000, Klein-Tebbe J et al. 2003)

Die klinische Wirksamkeit der subkutanen Immuntherapie wurde in zahlreichen klinischen Studien nachgewiesen (Ewan PW et al. 1988, Hedlin G et al. 1991, Haugaard L et al. 1993, Kelso JM et al. 1995, Dokic D et al. 2005), so dass die SCIT als effektive Therapieoption zur Behandlung von Typ-I-Allergien angesehen werden kann.

### 2.2.4.2 Orale Immuntherapie (OIT)

Für die orale Immuntherapie stehen derzeit im deutschsprachigen Raum überwiegend wässrige Allergenextrakte zur Verfügung. Diese werden regelmäßig zur gleichen Zeit bzw. vor der gleichen Mahlzeit standardisiert als Tropfen eingenommen und verschluckt, um annähernd ähnliche Resorptionsbedingungen im Magen-Darm-Trakt zu erreichen. Die Dosis wird wie bei der SCIT kontinuierlich unter Berücksichtigung der subjektiven Verträglichkeit

bis zu einer maximalen Höchstdosis gesteigert, wobei die Behandlungsdauer mindestens 3 Jahre beträgt. Da sich die orale Immuntherapie durch eine gute Verträglichkeit auszeichnet, eignet sie sich zur Anwendung bei Kindern (Fuchs T und Klimek L 2000). Als unerwünschte Nebenwirkung konnten jedoch gastrointestinale Beschwerden beobachtet werden, die mit der Höhe der Allergendosis korrelierten (Kägi MK und Wüthrich B 2002). Des Weiteren besteht die Möglichkeit, dass sich ein chronisches atopisches Ekzem verschlechtert (Fuchs T und Klimek L 2000).

Nach dem derzeitigen Wissensstand ist die Effektivität der oralen Immuntherapie noch zu ungenügend erforscht, um sie als routinierte Behandlungsform in der Klinik einsetzen zu können (Kägi MK und Wüthrich B 2002). Nachdem die OIT vermehrt zu Beginn des 20. Jahrhunderts angewendet wurde, erbrachte eine US-amerikanische Multicenterstudie an Erwachsenen 1940 keinen überzeugenden Wirksamkeitsnachweis (Fuchs T und Klimek L 2000). Dies wurde ebenfalls durch neuere placebokontrollierte Studien bestätigt (Cooper PJ et al. 1984, Taudorf E et al. 1985, Oppenheimer J et al. 1994, Litwin A et al. 1997).

Eine signifikante Verbesserung der allergischen Symptomatik unter OIT konnte nur in wenigen Untersuchungen dokumentiert werden. (Moller C et al. 1986, Giovane AL et al. 1994)

#### 2.2.4.3 Lokale nasale Immuntherapie (LNIT)

Der Einsatz der nasalen Immuntherapie kann sowohl präseasonal als auch perennial erfolgen. Die Allergene werden dabei durch den Patienten selbst als wässrige Lösung oder Puder auf die Nasenschleimhaut appliziert, wobei die Anwendung in der Induktionsphase täglich und danach wöchentlich erfolgt. Unerwünschte Nebenwirkungen in Form einer Rhinitis mit Niesreizen, Nasensekretion und -irritation sowie asthmatische Beschwerden sind jedoch möglich. (Kägi MK und Wüthrich B 2002) Es hat sich gezeigt, dass die Anwendung des Allergenextrakts als trockenes Puder zu bevorzugen ist, da sie mit weniger therapiebedingten Lokalsymptomen einhergeht (Canonica GW und Passalacqua G 2003).

Die klinische Wirksamkeit der LNIT wurde in verschiedenen Studien bestätigt (Nickelsen JA et al. 1981, Andri L et al. 1993, Cirila AM et al. 1996, Bertoni M et al. 1999). Allerdings zeigten sich nach zweijähriger Kontrolluntersuchung keine Langzeiteffekte, so dass sich die nasale Immuntherapie lediglich zur präseasonalen prophylaktischen Behandlung der polleninduzierten Rhinitis eignet (Passalacqua G et al. 1997). Im europäischen Raum wird die nasale Immuntherapie kaum angewendet, da die Applikation der sublingualen Immuntherapie für den Patienten einfacher ist und die SLIT außerdem bei Allergikern mit gleichzeitigen asthmatischen Beschwerden eingesetzt werden kann (Canonica GW und Passalacqua G 2003).

#### 2.2.4.4 Lokale Bronchiale Immuntherapie (LBIT)

Im Rahmen der lokalen bronchialen Immuntherapie besteht die Möglichkeit, die Allergenextrakte in Form einer Lösung, Suspension oder eines trockenen Puders zu inhalieren, wodurch eine Wirkung auf den Bronchialschleimhäuten erzielt werden soll (Canonica GW und Passalacqua G 2003). Bei der klinischen Testung zur Effektivität der LBIT wurden in den 90er Jahren nur wenige placebokontrollierte Studien mit Hilfe von Milbenallergenextrakten durchgeführt (Crimi E et al. 1991, Tari MG et al. 1992). Lediglich eine der beiden Untersuchungen zeigte eine signifikante Verbesserung der allergischen Symptomatik (Tari MG et al. 1992). Außerdem konnten als häufige Nebenwirkung Bronchospasmen beobachtet werden, so dass die LBIT heutzutage im klinischen Alltag keine Rolle mehr spielt (Canonica GW und Passalacqua G 2003).

#### 2.2.4.5 Sublinguale Immuntherapie (SLIT)

Die sublinguale Immuntherapie kann auf zwei verschiedene Arten appliziert werden. Einerseits gibt es die ausschließlich sublinguale Form (engl. sublingual-spit IT), bei der das Allergenextrakt für eine bestimmte Zeit unter der Zunge im Mund behalten und danach ausgespuckt wird. Zum anderen kann die Allergenlösung nach einer festgelegten Einwirkungsdauer im Mund heruntergeschluckt werden, was auch als kombiniert sublinguale/orale Applikation oder engl. sublingual-swallow IT bezeichnet wird. (Fuchs T und Klimek L 2000, Zwacka G und Markert UR 2003)

Die Anwendung der Allergenextrakte erfolgt dabei in Form einer wässrigen Lösung, die der Patient zu Hause selbst mit Hilfe einer Tropfpipettenflasche applizieren kann. Die Therapie wird wie bei den anderen Methoden der SIT in eine Induktions- und Erhaltungsphase gegliedert. (Kägi MK und Wüthrich B 2002) Die Erläuterung eines speziellen Therapieschemas für eine SLIT erfolgt im Kapitel 3.2.

Im Rahmen der SLIT sind therapieinduzierte Lokalreaktionen möglich. Zu den am häufigsten beobachteten Nebenwirkung zählen lokaler Juckreiz im Nasenrachenraum sowie gastrointestinale Symptome wie Übelkeit, Erbrechen und Abdominalschmerzen. (Kägi MK und Wüthrich B 2002) Eine Metaanalyse von André et al über die Sicherheit der sublingualen Immuntherapie zeigte außerdem, dass in 8 doppelblind-placebokontrollierten Studien keine schweren systemischen Ereignisse bzw. anaphylaktische Reaktionen auftraten. Dies bestätigt die gute Verträglichkeit der sublingualen Immuntherapie. (André C et al. 2000) Verbunden mit

der unkomplizierten Applikation, die zu Hause erfolgen kann, stellt die SLIT eine geeignete Therapieform v.a. für pädiatrische Patienten dar. (Bergmann KC 2005)

Die Effektivität der sublingualen Immuntherapie wurde besonders in Hinblick auf die Verbesserung der allergischen Rhinitis (Clavel R et al. 1998, La Rosa M et al. 1999, Tonnel AB et al. 2004) und Konjunktivitis (Mortemousque B et al. 2003) in verschiedenen Studien nachgewiesen. Dieses Resultat wird besonders durch eine aktuelle Metaanalyse von Wilson et al unterstützt, welche durchgängig in 22 Studien eine hohe Wirksamkeit der SLIT bei Erwachsenen mit rhinitischen Beschwerden aufzeigte (Wilson DR et al. 2003).

Im Gegensatz dazu wurden in anderen Untersuchungen lediglich geringe bzw. kaum nennenswerte klinische Effekte gesichert (Hirsch T et al. 1997, Guez S et al. 2000, Lima MT et al. 2002).

Insgesamt stellt die SLIT nach heutigem Wissenstand eine vielversprechende Alternative zur subkutanen Immuntherapie dar, jedoch besteht die Notwendigkeit für weitere Studien, um die klinische Wirksamkeit sowie die Langzeiteffektivität zu sichern. Außerdem ist die Frage nach der optimalen Dosierung und Behandlungsdauer der SLIT noch nicht vollständig geklärt, so dass in der Zukunft noch breitere Analysen erforderlich sind. (Markert UR 2003, Bergmann KC 2005)

## **2.3 Grundlegende Funktion der untersuchten Oberflächen- und Adhäsionsmoleküle**

### **2.3.1 Allgemeine Bedeutung der untersuchten Oberflächenmoleküle**

In der vorliegenden Arbeit wurde die Expression von IgA und CD23 auf CD20-positiven B-Lymphozyten von Hausstaub- und Milbenallergikern vor und während einer sublingualen Immuntherapie sowie von gesunden Probanden untersucht. Ferner erfolgte die Bestimmung des prozentualen Anteils von CD54 und CD69 auf CD3- positiven T-Lymphozyten bzw. von CD154 auf CD4-positiven T-Zellen. Die untersuchten Oberflächenmoleküle werden dabei als wesentliche Boten- bzw. Signalstoffe im Rahmen des allergischen Entzündungsprozesses angesehen.

CD20 ist ein B-Zellmarker, der im Rahmen der Immunantwort die Proliferation und Aktivierung von B-Lymphozyten reguliert.

IgA wird von Plasmazellen vorwiegend auf den epithelialen Oberflächen des Körpers synthetisiert. Die Sekretion findet hauptsächlich im Gastrointestinaltrakt, im respiratorischen

Epithel, über die Muttermilch und andere exokrine Drüsen wie Speichel- und Tränendrüsen statt. Die Funktion besteht in einem Oberflächenschutz gegenüber Bakterien und Toxinen, außerdem wird die Absorption von körperfremden Substanzen verhindert. (Kayser FH et al. 2001, Janeway CA et al. 2002)

Das Oberflächenmolekül CD23 (FcεRII) fungiert als niedrigaffiner IgE-Rezeptor. Es wird auf eosinophilen Granulozyten, Monozyten, Thrombozyten, Makrophagen, Langerhanszellen und anderen immunkompetenten Zellen exprimiert. Seine Funktion besteht in der Vermittlung von verschiedenen immunologischen Effekten, wie beispielsweise die Regulation der IgE-Synthese, die Proliferation und Differenzierung von B-Zellen sowie die Aktivierung von Monozyten. (Riffo-Vasquez Y et al. 2000) Außerdem spielt es im Rahmen der Plasmazell-differenzierung als Ligand für den CD19-CD21-CD81-Korezeptor eine tragende Rolle. (Janeway CA et al. 2002)

Von CD4-positiven T-Helferzellen wird das Oberflächenantigen CD154 exprimiert. Es dient als Ligand für das von ruhenden B-Zellen präsentierte CD40-Molekül, welches bei Aktivierung kostimulierende Signale ins Zellinnere übermittelt und so eine B-Zell-Proliferation und –ausdifferenzierung einleitet.

CD3 ist ein Oberflächenmolekül, welches auf Thymozyten und T-Zellen vorkommt. Es wird für die Oberflächenexpression des T-Zellrezeptors und dessen Signalvermittlungen benötigt. Auf hämatopoetischen und nichthämatopoetischen Zellen wird das Oberflächenantigen CD54 präsentiert, dessen lösliche Isoform als interzelluläres Adhäsionsmolekül (ICAM)-1 bezeichnet wird. Seine Funktion wird genauer im Punkt 2.3.2 erläutert.

Das Oberflächenmolekül CD69 stellt einen Marker auf aktivierten T- und B-Zellen, Makrophagen und natürlichen Killerzellen dar. Es hat die Funktion eines frühen unspezifischen Aktivierungsantigens. (Kayser FH et al. 2001, Janeway CA et al. 2002)

### 2.3.2 Allgemeine Bedeutung der untersuchten Plasmaproteine

Außerdem wurden im Rahmen dieser Arbeit die Konzentrationen der löslichen Isoformen der Plasmaproteine ELAM-1, ICAM-1 und IL-2R in Plasmaproben von Milbenallergikern vor und während einer sublingualen Immuntherapie sowie von gesunden Kontrollpatienten bestimmt.

ELAM-1 (Endothelium Leukocyte Adhesion Molecule), welches auch als CD62E oder E-Selektin bezeichnet wird, ist ein von Endothelzellen exprimiertes Antigen. Es spielt eine tragende Rolle bei der Einwanderung von Leukozyten aus den Blutgefäßen in entzündetes

Gewebe. Hierbei gehen die Leukozyten zunächst eine schwache Bindung mit dem Gefäßendothel ein, indem das ELAM-1-Molekül an den Kohlenhydratliganden s-Le<sup>x</sup> (Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Rest) koppelt, welcher von naiven T-Zellen exprimiert wird. Durch die Scherkräfte des Blutstromes kommt es zu einem Entlangrollen der Zellen auf dem Endothel. Die somit entstandene relativ instabile Adhäsion wird anschließend durch stärkere Interaktionen gefestigt.

Dies wird durch das interzelluläre Adhäsionsmolekül ICAM-1 gewährleistet, dessen Expression auf dem Endothel durch TNF- $\alpha$  induziert wird. Es bindet an die T-Zell-Integrine LFA-1 und Mac-1, wodurch sich die Leukozyten fest an das Gefäßendothel anheften und das Entlangrollen der Zellen beendet wird. Hierdurch können die T-Lymphozyten das Endothel durchqueren und unter dem Einfluss von Interleukin 8 ins infektiöse Gewebe infiltrieren.

Ein weiteres wichtiges Oberflächenmolekül stellt der IL-2-Rezeptor (IL-2R) dar. Wenn ein Antigen auf den Organismus einwirkt, wird dieses von Makrophagen, B-Lymphozyten und anderen immunkompetenten Zellen phagozytiert und in Form eines MHC-Klasse-II-Komplexes auf deren Oberfläche präsentiert. Durch dieses Molekül sind die antigen-präsentierenden Zellen in der Lage, den T-Zell-Rezeptor von T-Lymphozyten zu aktivieren. Als kostimulierendes Signal wirkt dabei die Bindung des B-Zell-Oberflächenmoleküls B7 an das T-Zell-Antigen CD28. Ruhende T-Lymphozyten werden somit angeregt, den T-Zell-Wachstumsfaktor Interleukin-2 sowie dessen IL-2-Rezeptor zu exprimieren. Hierdurch wird die Proliferation und Differenzierung von naiven T-Zellen in T-Effektorzellen herbeigeführt. (Janeway CA et al. 2002)

### 3 ZIELSTELLUNG

#### 3.1 Ziele dieser Arbeit

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die Konzentrationen der Entzündungsparameter CD23, IgA, CD54, CD69, CD154, sELAM-1, sIL-2R und sICAM-1 im Blut von Hausstaub- und Milbenallergikern vor und unter einer sublingualen Immuntherapie sowie von gesunden Probanden untersucht. Diese Oberflächen- und Adhäsionsmoleküle spielen eine tragende Rolle bei der Pathogenese von atopischen Erkrankung und agieren hierbei als Signal- bzw. Botenstoffe. Des weiteren erfolgte die Erfassung der allergischen Symptomatik in Form eines Erhebungsbogens nach internationalem Standard.

Die dargelegte Untersuchung ist dabei Teil einer mehrjährigen nicht-placebokontrollierten Anwendungsbeobachtung zur Effektivität einer sublingualen Immuntherapie, wobei weitere Analysen durch nachfolgende Studien durchgeführt werden. Zu betonen sei außerdem, dass es sich bei den Patienten vor und unter SLIT um eine unverbundene Stichprobe handelt, weshalb die dargestellten Ergebnisse als vorläufig und tendenziell anzusehen sind.

Als Ziel der Untersuchung galt es einerseits herauszufinden, ob Unterschiede in Bezug auf die Expression der Entzündungsparameter in den einzelnen Patientengruppen bestehen, um mögliche Veränderungen im Rahmen einer SLIT zu analysieren.

Andererseits wurde die Ausprägung von häufigen atopischen Symptomen wie Rhinokonjunktivitis, extrinsisches Asthma und bronchiale Hyperreagibilität bei den Patienten vor und unter SLIT miteinander verglichen, um einen eventuellen positiven Effekt der sublingualen Immuntherapie auf das Befinden der Allergiker darzustellen. Ferner erfolgte die Analyse der klinischen Schweregrade im Zusammenhang mit den immunologischen Parametern, um denkbare Abhängigkeiten aufzuzeigen und zu klären, ob sich die untersuchten Oberflächen- und Adhäsionsmoleküle als ergänzende Verlaufparameter einer allergischen Erkrankung bzw. deren Therapie unter SLIT eignen.

### 3.2 Arbeitshypothesen

Im Hinblick auf diese Zielstellungen sollen folgende Hypothesen anhand der durchgeführten Messungen überprüft werden:

1. Es besteht ein Unterschied in der Expression der Entzündungsparameter CD23, IgA, CD54, CD69, CD154, sELAM-1, sIL-2R und sICAM-1 bei Milbenallergikern und bei gesunden Probanden.
2. Diese Oberflächen- und Adhäsionsmoleküle erreichen bei Patienten unter einer sublingualen Immuntherapie ähnliche Konzentrationen wie bei gesunden Personen und sind als Ausdruck der therapeutischen Wirksamkeit tendenziell niedriger als bei Allergikern, die noch keine SLIT erhalten hatten.
3. Unter einer sublingualen Immuntherapie kommt es zu einer Verbesserung der atopischen Symptomatik mit einer geringeren Ausprägung von Rhinokonjunktivitis, Asthma und bronchialer Hyperreagibilität.
4. Es besteht eine Abhängigkeit zwischen den Entzündungsmarkern CD23, CD54, CD69, CD154, sELAM-1, sIL-2R und sICAM-1 und der Schwere der allergischen Symptomatik, d.h. je stärker die Ausprägung der atopischen Beschwerden ist, desto höher ist die Blutkonzentration der Zelloberflächen- und Adhäsionsmoleküle. Für das Immunglobulin A wird ein umgekehrter Zusammenhang angenommen, da es eine tragende Rolle bei der Immunabwehr spielt.

## **4 MATERIAL UND METHODEN**

### **4.1 Patientenauswahl und Probengewinn**

Für die in der Arbeit dargestellte Datenerhebung wurden Blutproben aus der Ambulanz der Kinderklinik des Robert-Koch-Krankenhauses in Apolda verwendet. Die Untersuchung wurde dabei als eine einfachblinde nicht-placebokontrollierte Studie angelegt und ist Teil einer über mehrere Jahre andauernden Anwendungsbeobachtung. Insgesamt wurden 85 Blutproben untersucht. Es handelt sich dabei um Patienten mit einer gesicherten Hausstaub- und Milbenallergie, die noch keine Immuntherapie erhalten hatten ( $n = 36$ ) und um Patienten mit der gleichen Allergie nach 1 bis 3 jähriger SLIT ( $n = 23$ ), wobei die Patienten beider Gruppen nicht identisch waren. Hierdurch ergab sich eine unverbundene Stichprobe. Des weiteren wurden die Blutproben von gesunden Probanden ( $n = 26$ ) verwendet, die nachweislich an keiner atopische Erkrankung litten. Alle drei Untersuchungsgruppen galten als vergleichbar, da das Durchschnittsalter bei den Patienten vor SLIT mit 12,9 Jahren (Standardabweichung 3,6 Jahre), bei den Patienten unter SLIT mit 13,1 Jahren (Standardabweichung 3,1 Jahre) und bei den gesunden Kindern mit 12,4 Jahren (Standardabweichung 6,6 Jahre) ähnlich ist.

Als Einschlusskriterium für eine gesicherte Hausstaub- und Milbenallergie galten eine RAST-Klasse von 3 bis 6, ein positiver Prick-Test sowie vorhandene klinische Beschwerden. Zu diagnostischen Zwecken wird den betroffenen Patienten regelmäßig Blut abgenommen. Von diesen Allergikern wurden für die vorliegende Untersuchung überschüssige 3-5 ml Vollblut in heparinbeschichteten Röhrchen genutzt. Während des Klinikaufenthaltes wurden außerdem für jeden Patienten die klinischen Beschwerden in Form eines speziellen Bewertungsschemas in einem Erhebungsbogen (siehe Anhang) erfasst.

### **4.2 Durchführung einer sublingualen Immuntherapie (SLIT)**

Der Begriff SLIT bezeichnet eine sublinguale Immuntherapie, bei der die zur Desensibilisierung verwendeten Allergene in Form einer Lösung tropfenweise sublingual auf die Mundschleimhaut appliziert werden. Sie stellt im Vergleich zur subkutanen Immuntherapie (SCIT) eine neue Behandlungsoption dar. Indikation für die Anwendung der

SLIT besteht bei allergischen Erkrankungen vom Soforttyp wie allergischer Rhinokonjunktivitis oder Asthma bronchiale.

In der vorliegenden Arbeit wurden überwiegend Patienten untersucht, die mit SUBLIVAC® B.E.S.T, einem Produkt der Firma HAL ALLERGIE GmbH, behandelt wurden, weshalb das Therapieschema am Beispiel dieses Medikaments erläutert werden soll (siehe Abb. 1).

Die Therapie wird dabei in eine Grund- und Fortsetzungsbehandlung gegliedert. Zur Grundbehandlung werden zwei unterschiedliche Tropfpipettenflaschen genutzt, wobei die Flasche A ein Volumen von 7,5 ml umfasst und eine Allergenmenge von 2000 A.U./ml (Allergy Units/ml) beinhaltet. Am 1. Behandlungstag wird 1 Tropfen dieser Lösung angewendet und somit die niedrigste Konzentration von 100 A.U./ml erreicht. Die Lösung wird dabei morgens nüchtern mit einem Löffel unter die Zunge gebracht und dort 2-3 Minuten behalten, bevor sie geschluckt wird. Bei Kindern ist die Einnahme von einem Erwachsenen zu beaufsichtigen. Die Dosis wird nun täglich um 1 Tropfen gesteigert, bis eine Tageshöchstdosis von 10 Tropfen erreicht wird, was 1000 A.U./Tag entspricht. Am darauffolgenden Tag wird die Flasche B mit einem Volumen von 10,5 ml und einer Allergenmenge von 10.000 A.U./ml in der Dosis von 1 Tropfen verwendet. Diese wird täglich um 1 Tropfen gesteigert, bis eine Tageshöchstdosis von 5 Tropfen pro Einnahmetag erreicht ist, was einer Allergenkonzentration von 2.500 A.U./ml entspricht. Die Grundbehandlung wird ca. 2 Monate weitergeführt, bis die Flasche B geleert ist. Im direkten Anschluss wird eine Fortsetzungsbehandlung unter Anwendung einer Flasche B mit einem Volumen von 12 ml und einer Allergenmenge von 10.000 A.U./ml eingeleitet, wobei die tägliche Dosis 5 Tropfen beträgt. Um einen Therapieerfolg zu erzielen, erfolgt die Applikation in 3-5 aufeinanderfolgenden Jahren. (HAL ALLERGIE GmbH 1999) In Abbildung 1 wird das Behandlungsschema für eine SLIT mit SUBLIVAC® B.E.S.T vereinfacht dargestellt.

Infolge der Behandlung können laut Beipackzettel als unerwünschte Nebenwirkungen allergische Allgemeinreaktionen wie Augenjucken, Niesreiz, atopische Ekzeme bis hin zu Atemnot, generalisierter Urtikaria oder Quinckeödemen auftreten, in sehr schweren Fällen ist die Entwicklung eines anaphylaktischen Schocks möglich. Diese therapieinduzierten Wirkungen treten jedoch extrem selten auf und sind in der Regel nur bei hochgradig sensibilisierten Patienten zu beobachten. (HAL ALLERGIE GmbH 1999) Außerdem sind lebensbedrohliche Nebenwirkungen in der Praxis weltweit nur vereinzelt beobachtet worden, wobei aber unklar ist, ob sie überhaupt durch die SLIT begründet werden können.

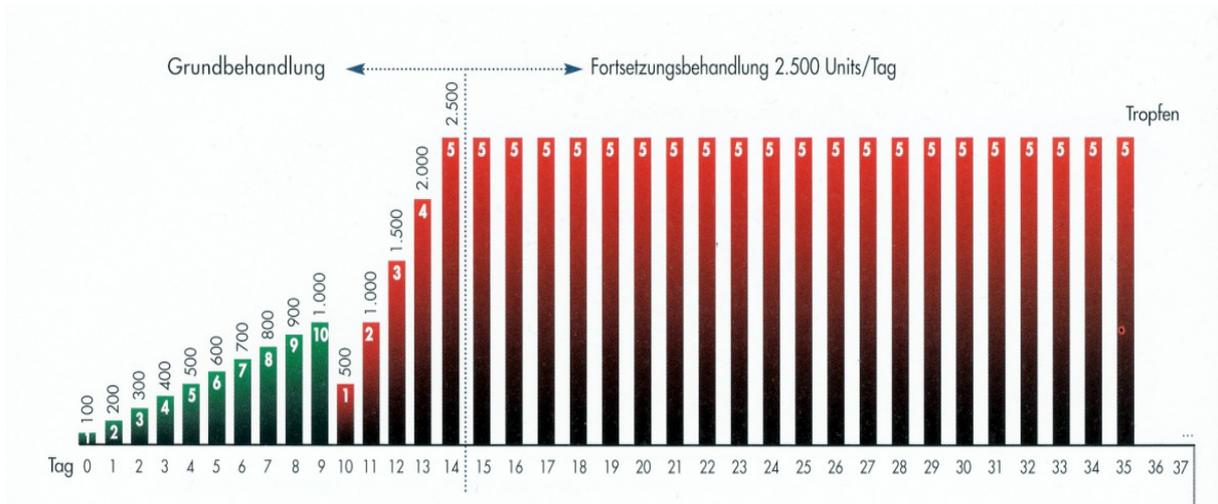


Abb. 1: Behandlungsschema für eine sublinguale Immuntherapie mit SUBLIVAC® B.E.S.T. Die Therapie wird mit der Flasche A (Allergenmenge von 1000 A.U./ml, grüne Balken) begonnen und unter Anwendung der Flasche B (Allergenmenge von 10.000 A.U./ml, rote Balken) für 3-5 aufeinanderfolgende Jahre fortgesetzt. (in Anlehnung an HAL Allergy 2002)

#### 4.3. Erhebung der klinischen Daten

Im Rahmen der dargestellten Untersuchung wurden bei jedem Patienten die klinischen Beschwerden durch Prof. Dr. med. habil. G. Zwacka (Kinderklinik Apolda) anamnestisch erfasst und dokumentiert. Dies erfolgte in Form eines speziellen Erhebungsbogens (siehe Anhang), wobei zunächst die Basisdaten (Patientenname und Geburtsdatum), die vorbestehende Diagnose, der Zeitpunkt der Erstdiagnose, der Termin für den Behandlungsbeginn bzw. die Behandlungsdauer der SIT sowie die Behandlungsart dokumentiert wurden. Des weiteren wurden die klinischen Schweregrade der Rhinokonjunktivitis, des allergischen Asthmas, der bronchialen Hyperreagibilität, des atopischen Ekzems sowie die Häufigkeit der Anwendung von begleitenden medikamentösen Grundtherapien in Form von Ordinalskalen erfasst. Eventuelle unerwünschte Nebenwirkungen der SIT, mögliche Gründe für das Ausscheiden aus der Studie und der aktuelle FEV<sub>1</sub>-Wert wurden ebenfalls festgehalten.

In Hinblick auf die Auswertung der klinischen Daten wurden nur Allergiker berücksichtigt, die eine sublinguale Immuntherapie erhalten sollten bzw. im Rahmen einer SLIT behandelt wurden. Da bezüglich der klinischen Ausprägungen von Rhinokonjunktivitis, allergischem Asthma und bronchialer Hyperreagibilität die vollständigste Datenerhebung vorlag, wurden ausschließlich diese atopischen Symptomkomplexe in die Auswertung einbezogen.

## 4.4 Bearbeitung der Blutproben

Das zu untersuchende Vollblut wurde in NH-4-Heparinmonovetten abgenommen und höchstens 18 Stunden bei Raumtemperatur gelagert, bevor die Blutbestandteile als Vorbereitung auf die Untersuchung mittels FACS und ELISA separiert wurden. Alle Arbeitsschritte konnten an einer unsterilen Laborbank durchgeführt werden, da die Analyse der mononukleären Blutzellen im unmittelbaren Anschluss erfolgte. Verwendung fanden ausschließlich sterile Einmalprodukte, autoklavierte Laborgeräte sowie unter sterilen Bedingungen hergestellte Lösungen und Chemikalien.

### 4.4.1 Gewinnung des Blutplasmas

Das heparinisierte Venenblut wurde in ein Spitzbodenröhrchen eingebracht und in einer Zentrifuge vom Typ Labofuge für 10 Minuten bei 1200 U/min zentrifugiert. Anschließend wurde das Blutplasma abpipettiert und nochmals bei 4000 U/min à 15 Minuten zentrifugiert. Es erfolgte die Portionierung des Plasmas in jeweils drei Eppendorf-Röhrchen, während das Pellet verworfen wurde. Die Proben wurden bei  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  eingefroren, um spätere Untersuchungen mithilfe von ELISAs durchführen zu können.

### 4.4.2 Gewinnung der Lymphozyten

Die Isolierung der Lymphozyten erfolgte mit Hilfe des Lymphozytentrennmediums LSM 1077 der Firma PAA Laboratories GmbH, wobei es sich um eine Separationslösung auf der Basis von Ficoll 400 mit einer Dichte von 1,077 g/ml handelt. Hierdurch ist es möglich, einen Dichtegradienten zu produzieren, der beim Zentrifugieren durch die Einwirkung der Schwerkraft eine Trennung der Blutzellen von den subzellulären Komponenten bewirkt. Es reichern sich dabei die Thrombozyten in der sich oben befindlichen Plasmaphase an, während die Lymphozyten und Monozyten in einer Interphase zwischen Plasma und Ficoll erscheinen. Erythrozyten und Granulozyten wandern durch die Ficollschicht hindurch und lagern sich in Form von Klümpchen (sogenanntes Pellet) am Gefäßboden ab.

In der Versuchsdurchführung wurden 3 ml des Trennmediums in ein Spitzbodenröhrchen eingebracht. Die zellulären Blutbestandteile wurden 1:1 mit dem Nährmedium RPMI 1640

aufgefüllt, langsam vermischt und vorsichtig auf die Ficolllösung aufgeschichtet, um eine Vermischung zu vermeiden. Im Anschluss erfolgte die Zentrifugation für 20 Minuten bei 2500 U/min. Die Interphase mit den darin enthaltenen Lymphozyten wurde in ein Spitzbodenröhrchen pipettiert, mit ca. 5 ml RPMI 1640 aufgefüllt und für 5 Minuten bei 800 U/min zentrifugiert. Hierdurch lagerten sich die mononukleären Blutzellen entsprechend der Schwerkraft am Röhrchenboden ab, der Überstand konnte nun bis auf 1 ml Restvolumen abpipettiert und verworfen werden, so dass die Zellen von Ficollresten getrennt wurden. Dieser Waschvorgang wurde zweimal wiederholt. Der Bodensatz mit einem Volumen von 1 ml wurde nun eine Minute gevortext. Anschließend konnten je 50 µl der Lösung mit den enthaltenen Lymphozyten in vier Eppendorf-Röhrchen separiert werden und wurden somit zur Markierung der Oberflächenmarker vorbereitet.

#### 4.5 Bestimmung der Oberflächenmarker auf den Lymphozyten

##### 4.5.1 Markierung und Fixierung der Lymphozyten

Die Markierung der Oberflächenmoleküle auf den Lymphozyten erfolgte mit Hilfe von Antikörperseren der Firma DAKO und Immunotools (siehe Tabelle 4).

Tab. 4: Übersicht über die verwendeten Antikörper

Antikörper	Antigen	Firma
Anti-CD20 RPE-Cy5	CD20	DAKO
Anti-IgA FITC	IgA	DAKO
Anti-CD23 RPE	CD23	DAKO
Anti-CD4 FITC	CD4	DAKO
Anti-CD154 RPE	CD154	DAKO
Anti-CD3 PE-Cy5	CD3	Immunotools
Anti-CD54 FITC	CD54	Immunotools
Anti-CD69 RPE	CD69	DAKO

Zu diesem Zweck wurden die in vier Eppendorf-Röhrchen separierten Lymphozyten mit jeweils 2,5 µl der entsprechenden Antikörperlösung versetzt. Die Antikörper sind dabei an einen Farbstoff gekoppelt, der in der späteren FACS-Messung ein fluoreszierendes Signal

abgibt, wodurch die Bestimmung der jeweiligen Konzentration der Oberflächenmoleküle möglich ist. Die Antikörper wurden nach dem in Tabelle 5 dargestellten Schema zugegeben.

Tab. 5: Übersicht über die Antikörpermarkierung der Lymphozytenansätze

<b>Ansatz</b>	<b>Antikörpermarkierung</b>
Ansatz 1	CD20 / IgA / CD23
Ansatz 2	CD4 / CD154
Ansatz 3	CD3 / CD54 / CD69
Ansatz 4	Kontrolle

Anschließend folgte eine Inkubationszeit der Proben von 20 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln. Die Ansätze wurden mit 1000 µl RPMI 1640 aufgefüllt und 5 Minuten bei 2500 U/min zentrifugiert, wodurch nichtgebundene überschüssige Antikörper ausgewaschen wurden. Ein Überstand von 800 µl wurde abpipettiert. Den Proben wurden 500 µl einer 5 %igen Formaldehydlösung im Mischungsverhältnis 1:1 mit RPMI 1640 zugesetzt. Hierdurch konnten die markierten Lymphozyten fixiert werden. Die Analyse der Oberflächenmarker erfolgte binnen 2 Wochen mit Hilfe eines Messgerätes vom Typ FACS Galaxy (DAKO Diagnostica GmbH), zur Auswertung wurde die Flomax-Software der Firma PARTEC genutzt.

#### 4.5.2 Analyse mittels FACS

Der Ausdruck FACS bedeutet „fluorescence activated cell sorter“ und ist eine andere Bezeichnung für die Durchflusszytometrie. Hierunter versteht man ein labortechnisches Messverfahren, mit welchem es möglich ist, verschiedene Zellen in Bezug auf ihre physikalischen und molekularen Eigenschaften zu phänotypisieren. Die zu untersuchende Probe wird zu diesem Zweck in ein FACS-Glasröhrchen gegeben und unter Druck in das Durchflusszytometer eingesaugt. Die Zellen fließen anschließend durch eine Messkammer und werden hier von einem Laserlicht bestrahlt. Als Lichtquelle dient dabei ein Argonionlaser. Durch die Passage des Laserstrahles wird von den Zellen ein Streulicht verursacht, welches Aufschluss über die Zelleigenschaften gibt. Gemessen wird dabei an zwei verschiedenen Stellen: zum einen erfolgt die Erfassung des Streulichtes in Richtung des ursprünglichen Strahls, das sogenannte Vorwärtsstreulicht oder engl. Forward Light Scatter (FSC). Dieses gibt Aufschluss über die Größe der Zellen. Zum anderen findet die Messung in

90° zum ursprünglichen Strahl statt, welches als Seitwärtsstreulicht oder engl. Side Scatter (SSC) bezeichnet wird. Hierdurch kann man bestimmen, welche Granularität eine Zelle besitzt. (Luttmann W et al. 2004)

Um zusätzlich spezifische antigene Eigenschaften zu untersuchen, werden die Zellen mit einem farbstofftragenden Antikörper markiert. Als solche Farbstoffe dienen in dieser Arbeit das grün fluoreszierende FITC (Fluoreszein-Isothiocyanat), sowie R-PE (R-Phycoerythrin) und RPE-Cy5 (RPE-Cyanin-5), welche ein gelb-oranges bzw. rotes Signal abgeben.

Hierdurch ist die genaue Phänotypisierung der Lymphozyten in Bezug auf ihre speziellen Oberflächenmarker möglich. Um dies zu veranschaulichen, werden die Zellen in einer Dot-Plot-Graphik dargestellt. Da nur ein Teil der Zellpopulation für die Auswertung relevant ist, wird mittels eines Softwarefensters genau diese ausgewählt, was man als sogenanntes Gating bezeichnet. Hierdurch können die für die Untersuchung bedeutsamen Werte berechnet werden, welche in dieser Arbeit verschiedene B- und T-Zellmarker umfassen. (Luttmann W et al. 2004) Abbildung 2 zeigt ein Beispiel für eine Dot-Plot-Graphik, die zur Messung der CD54- und CD69-Konzentration auf CD3-positiven T-Lymphozyten im Rahmen dieser Arbeit angefertigt wurde.

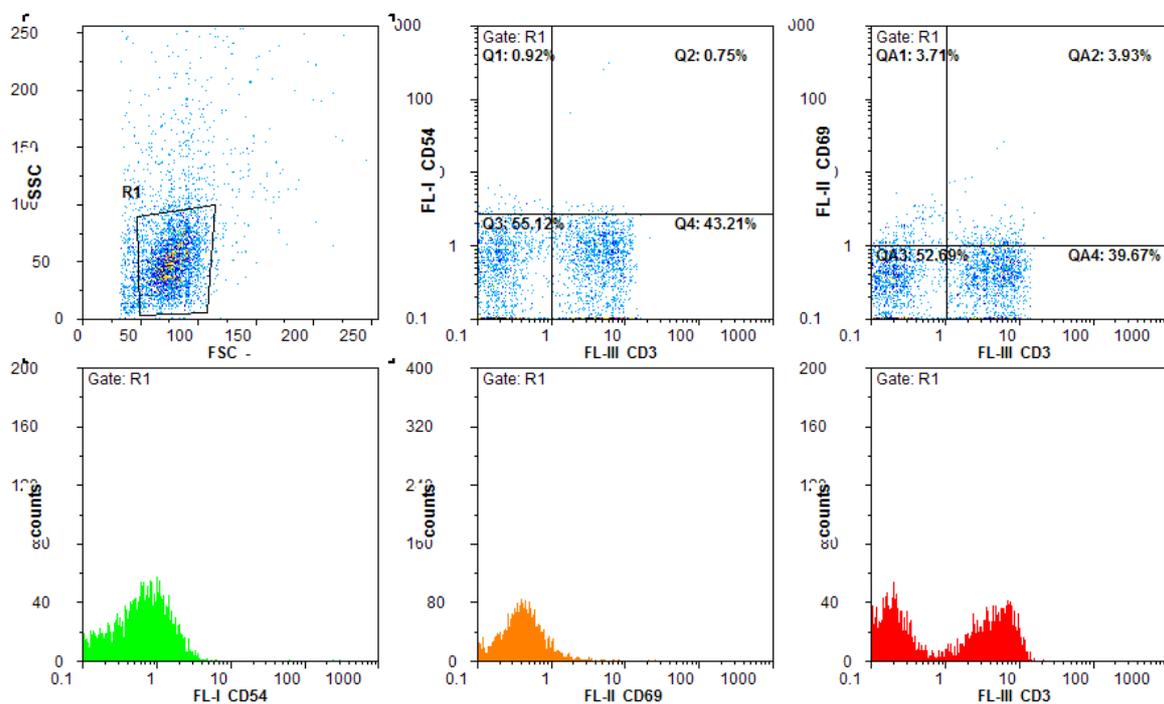


Abb. 2: Beispiel für eine Dot-Plot-Graphik zur Bestimmung des Gehalts der Oberflächenmoleküle CD54 und CD69 auf CD3-positiven T-Lymphozyten. Das Gate R1 (oben links) selektiert alle relevanten Zellen. Durch den Einsatz von Gitternetzen (Mitte und oben rechts), die anhand von Kontrollwerten geeicht werden, können die prozentualen Anteile der Entzündungsmarker bestimmt werden. Diese sind jeweils im Sektor Q2 bzw. QA2 ablesbar.

#### 4.6. Messung der Adhäsionsmoleküle im Plasma mittels ELISA

Der Begriff ELISA steht für „Enzyme-linked Immunosorbent Assay“ und beschreibt eine laborchemische Methode, bei der mit Hilfe von enzymgekoppelten Antikörpern die Konzentration von Antigenen im Serum, Plasma oder anderen Medien gemessen werden kann.

Die Bestimmung erfolgt dabei in den meisten Fällen nach dem sogenannten Sandwich-Verfahren. Zu diesem Zweck wird zunächst eine feste Oberfläche, beispielsweise die Vertiefungen einer Mikrotiterplatte, mit sogenannten Fängerantikörpern gegen das zu untersuchende Antigen beschichtet. Anschließend wird eine Probe, die eine unbekannte Antigenmenge enthält, zugesetzt, wodurch eine Antigen-Antikörper-Bindung entsteht. Nachdem alle ungebundenen Antigene ausgewaschen wurden, wird ein Überschuss enzymmarkierter Detektionsantikörper zugegeben, welche wiederum an das gebundene Antigen koppeln. Als Enzym wird in den meisten Fällen Biotin verwendet. Diesem wird das hochaffine HRP-Streptavidin zugesetzt, wodurch die Markerdichte pro gebundenem Antigenmolekül erhöht wird. Anschließend erfolgt die Zugabe einer TMB-Substratlösung, welche die Enzymreaktion startet. Hierdurch wird ein farbiges Produkt gebildet, dessen Extinktion unter Anwendung eines Photometers gemessen werden kann. Mit Hilfe der Untersuchung von entsprechenden Standards ist die genaue Bestimmung der Antigenkonzentration in den Plasmaproben möglich. (Luttmann W et al. 2004)

##### 4.6.1 Messung von sELAM-1

Die Bestimmung der Menge an Adhäsionsmolekül sELAM-1 in den einzelnen Plasmaproben erfolgte mit Hilfe von Chemikalien der Firma DIACLONE. Zur Beschichtung der Polysorb-Platten wurden zunächst 50 µl des Fänger-Antikörpers in 10 ml Beschichtungspuffer gelöst. 100 µl dieser Lösung wurden nun in jedes Loch einer Polysorb-Platte mit 96 Vertiefungen verteilt. Die Platten wurden mit Plastikfolie abgedeckt und über Nacht bei 4°C inkubiert. Am nächsten Tag wurden die Platten zunächst zweimal mit 400 µl Waschpuffer pro Vertiefung versetzt und anschließend mit 250 µl Blockpuffer für 2 Stunden bei Zimmertemperatur geblockt. Danach wurden die Platten auf Zellstoff ausgeklopft und auf einer Arbeitsbank 24 Stunden getrocknet.

Zur Bestimmung der Zytokinmenge wurden die Standards entsprechend der von DIACLONE empfohlenen Verdünnungsreihe von 1 ng/ml bis 32 ng/ml aufgetragen. Zur Verdünnung

eignete sich PBS 1% BSA w/v als Standardlösungspuffer. Außerdem wurde in einem Bestimmungsfeld ausschließlich Standardlösungspuffer als Negativkontrolle untersucht. Die Patientenproben wurden 1:10 mit Lösungspuffer verdünnt. Insgesamt wurden Standards und Proben in Doppelbestimmung angelegt und jeweils 100 µl Lösung in eine Vertiefung gegeben. Die Polysorb-Platten wurden nun bei Zimmertemperatur 1 Stunde inkubiert, anschließend erfolgte eine dreimalige Waschung. Danach wurden 50 µl des an Biotin gebundenen Anti-ELAM-1 hinzugegeben, welches zuvor in 5 ml PBS 1% BSA w/v gelöst wurde. Es folgte eine Inkubationszeit von 30 Minuten bei Raumtemperatur. Nach dreimaliger Waschung wurden 100 µl Streptavidin-HRP in die Vertiefungen gegeben. Nachdem die Platten 20 Minuten inkubiert hatten, wurden sie wiederum dreimal gewaschen. Anschließend wurden 100 µl TMB-Lösung in jede Vertiefung pipettiert und nach einer Inkubationszeit von 15 Minuten im Dunkeln erfolgte die Beendigung der Farbreaktion durch Zusatz von 100 µl 1M Schwefelsäure. Die Messung der Extinktion wurde mit Hilfe eines ELISA-Plattenlesers (DEMEDIATEC DIAGNOSTICS GmbH) bei einer Absorption von 450 nm durchgeführt.

#### 4.6.2 Messung von sIL-2R

Zur Bestimmung des Adhäsionsmoleküls sIL-2R wurden 100 µl des Fänger-Antikörpers mit 10 ml Beschichtungspuffer vermischt. 100 µl dieser Lösung wurden in jedes Loch einer Polysorb-Platte mit 96 Vertiefung eingebracht und bei 4°C über Nacht inkubiert. Am darauffolgenden Tag erfolgte eine zweimalige Waschung mit 400 µl Waschpuffer, anschließend wurde den Vertiefungen je 250 µl Blockpuffer zugesetzt und 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Die Platten wurden auf Filterpapier ausgeklopft und für 24 Stunden auf einer Laborbank getrocknet. Die Standards wurden entsprechend der von DIACLONE empfohlenen Verdünnungsreihe in einer absteigenden Konzentration von 2200 pg/ml bis 68,75 pg/ml angelegt und die aufgetauten Plasmaproben wurden 1:10 mit Standardlösungspuffer verdünnt. Es folgte die Zugabe von 100 µl der jeweiligen Lösung pro Loch, wobei alle Proben in Doppelbestimmungen untersucht wurden. Des Weiteren wurden 2 Vertiefungen lediglich mit PBS 1% BSA w/v gefüllt (keine Zytokinmenge). Anschließend erfolgte die Lösung von 100 µl des an Biotin gebundenen Anti-IL-2R in 5 ml PBS 1% BSA w/v. 50 µl dieser Mischung wurden in jede Vertiefung pipettiert und es folgte eine Koinkubation des Antigens mit dem biotingegebenen Detektionsantikörper für 3 Stunden. Nach dreimaliger Waschung wurden 100 µl des HRP-Streptavidins in jede Vertiefung gegeben. Nach einer Inkubationszeit von 20 min und 3 Waschgängen erfolgte der Zusatz von

100 µl TMB-Lösung pro Loch und eine nochmalige Inkubation von 15 min im Dunkeln. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 100 µl 1M Schwefelsäure pro Vertiefung gestoppt und es folgte im direkten Anschluss die Bestimmung der Extinktion bei 450 nm mit Hilfe eines ELISA-Plattenlesers.

#### 4.6.3 Messung von sICAM-1

Die Bestimmung der sICAM-1-Konzentrationen der jeweiligen Plasmaproben erfolgte mit Hilfe eines Modulsets der Firma Bender MedSystems. Die Besonderheit an diesem System ist, dass der enzymmarkierte Detektionsantikörper direkt an das HRP-Streptavidin gekoppelt ist und beides somit in einem gemeinsamen Arbeitsschritt verabreicht werden kann.

Zur Beschichtung der Mikrotiterplatten mit 96 Vertiefungen wurden 385 µl des Fängerantikörpers in 10,6 ml PBS gelöst. Es folgte die Zugabe von 100 µl dieser Fängerlösung pro Loch. Die Platten wurden mit Plastikfolie abgedeckt und bei 4 °C über Nacht inkubiert. Nach dreimaliger Waschung mit 300 µl Waschpuffer wurden die Vertiefungen mit je 250 µl Assay-Puffer geblockt und für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurden die Platten zweimal gewaschen, bevor die Standards und Proben direkt hinzugefügt wurden. Das sICAM-1-Standard-Protein wurde mit Hilfe eines Probenverdünners in einer absteigenden Verdünnungsreihe von 100 ng/ml bis 6,25 ng/ml gelöst, die aufgetauten Plasmaproben wurden 1:10 mit dem Probenverdünner versetzt und beides wurde als Doppelbestimmung angelegt. Ferner erfolgte die Zugabe des Probenverdünners ohne Zytokin in einem Bestimmungsfeld als Negativkontrolle. Nachfolgend wurden 50 µl des zuvor in Assay-Puffer gelösten HRP-Konjugates pro Vertiefung zugegeben und eine Inkubationszeit von 1 Stunde bei Raumtemperatur eingehalten. Anschließend folgten drei Waschgänge und die Mikrotiterplatten wurden mit jeweils 100 µl TMB-Substratlösung versetzt. Nachdem die Platten 15 min im Dunklen inkubiert hatten, wurde die Reaktion mit 100 µl 1 M Schwefelsäure gestoppt und die Extinktion bei 450 nm unter Anwendung eines ELISA-Plattenlesers gemessen. Entsprechend der aus den Standards abgeleiteten Eichkurve konnten nun die sICAM-1-Konzentrationen der jeweiligen Plasmaproben bestimmt werden.

#### 4.6.4 Übersicht über verwendete Chemikalien und Lösungen für ELISA

- Beschichtungspuffer: PBS pH 7,2-7,4
- Waschpuffer: PBS mit 0,05% Tween 20 v/v
- Blockpuffer: PBS 5% BSA w/v
- Standardlösungspuffer: PBS 1% BSA w/v
- Biotin-konjugierter-Antikörper-Lösungspuffer: PBS 1% BSA w/v
- HRP-Streptavidin Puffer: PBS 0,1% Tween 20 plus 1% BSA w/v
- 1 M Schwefelsäure
- Fängerantikörper (DIACLONE)
- Biotingebundener Detektionsantikörper (DIACLONE)
- Streptavidin-HRP (DIACLONE)
- TMB-Substratlösung (DIACLONE)
- Assay-Puffer: PBS 0,5% Tween 20 plus 5% BSA w/v
- Probenverdünner (Bender MedSystems)
- sICAM-1 Standard Protein (Bender MedSystems)
- HRP-Konjugat (Bender MedSystems)

#### 4.7 Tabellarische Übersicht über verwendete Materialien und Chemikalien

Tab. 6: Übersicht über die verwendeten Materialien

<b>Material</b>	<b>Hersteller</b>
Spitzbodenröhrchen	Greiner
FACS-Glasröhrchen	Sarstedt
Glaspipetten	Greiner
Polysorb-Platten	Nunc

Tab. 7: Übersicht über die verwendeten Chemikalien

<b>Chemikalien</b>	<b>Hersteller</b>
RPMI 1640	PAA Laboratories GmbH
Lymphozytentrennmedium LSM 1077	PAA Laboratories GmbH
Tween 20	Fluka
BSA (Bovine Serum Albumin)	Sigma
Schwefelsäure	Sigma
PBS (Dulbecco`s Phosphate Buffered Saline) (1x)	PAA Laboratories GmbH
Formaldehydlösung 5,0 %	Otto Fischer GmbH & Co.KG

#### 4.8 Statistik

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit Hilfe von SPSS Version 12.0 deutsch und Microsoft Excel. Da im Shapiro-Wilk-Test das Kriterium der Normalverteilung nicht erfüllt werden konnte, wurden nur nichtparametrische Testverfahren genutzt. Für k (mehr als zwei) unabhängigen Stichproben kam dabei der Kruskal-Wallis-Test zur Anwendung, bei 2 zu vergleichenden Stichproben wurde der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Als Signifikanzniveau galt  $p < 0,05$ .

Die graphische Darstellung erfolgte in Form von Box-Plots und Balkendiagrammen unter Angabe des Standardfehlers.

## 5 ERGEBNISSE

### 5.1 Immunologische Parameter

In dieser Untersuchung wurden die prozentualen Anteile der Oberflächenmarker CD23, IgA, CD54, CD69 und CD154 auf B- und T-Lymphozyten sowie die Konzentrationen der Adhäsionsmoleküle sELAM-1, sIL-2R und sICAM-1 in den einzelnen Patientengruppen miteinander verglichen. Es soll nochmals darauf hingewiesen werden, dass es sich bei den Allergikern vor und unter SLIT um eine unverbundene Stichprobe handelt. Die demonstrierten Unterschiede können somit als Tendenz angesehen werden und bedürfen einer weiteren Analyse anhand von verbundenen Stichproben, um mögliche Veränderungen der Entzündungswerte durch die sublinguale Immuntherapie zu sichern. Da die dargestellte Datenerhebung Teil einer über mehrere Jahre andauernden Anwendungsbeobachtung ist, wird dies durch weitere Untersuchungen gewährleistet.

Die Veranschaulichung der Messergebnisse erfolgte mit Hilfe von Box-Plots. Um denkbare Unterschiede in der Expression der Entzündungsmarker darzustellen, wurden jeweils die Mediane berechnet und miteinander verglichen. In der statistischen Analyse fand der Mann-Whitney-U-Test für zwei unverbundene Stichproben Anwendung, da keine Normalverteilung der Oberflächen- und Adhäsionsmoleküle im Shapiro-Wilk-Test vorlag. Als statistisch signifikant wurde  $p < 0,05$  angenommen.

#### 5.1.1 Vergleich der B-Lymphozytenmarker CD23 und IgA von Gesunden und Allergikern vor und unter SLIT

In Bezug auf den Oberflächenmarker CD23 ergab sich bei den Allergikern vor SLIT ein Median von 45,5 %. Dieser Wert ist somit höher als bei den Patienten unter Therapie mit 38,9 % und bei den gesunden Probanden mit 40,1 %. (siehe Abb. 3a)

Im U-Test lag jedoch mit einer Signifikanz von  $p > 0,05$  kein statistisch gesicherter Unterschied vor, weshalb die Ergebnisse als Tendenz zu bewerten sind.

Bei Betrachtung der IgA-Expression auf CD20-positiven B-Lymphozyten (siehe Abb. 3b) konnte bei den Milbenallergikern vor Therapie eine mittlere Produktion von 7,5 % festgestellt werden, die mit  $p = 0,002$  signifikant höher ist als bei den gesunden Kontrollen. Hier ergab sich mit 2,9 % ein niedrigerer Median als bei den Patienten unter Therapie (7,0 %), wobei ein

statistischer Unterschied nicht gesichert werden konnte ( $p = 0,408$ ). Ebenso erbrachte die Gegenüberstellung der Milbenallergiker vor und unter SLIT mit  $p = 0,445$  im Mann-Whitney-U-Test keine signifikante Veränderung in der IgA-Produktion.

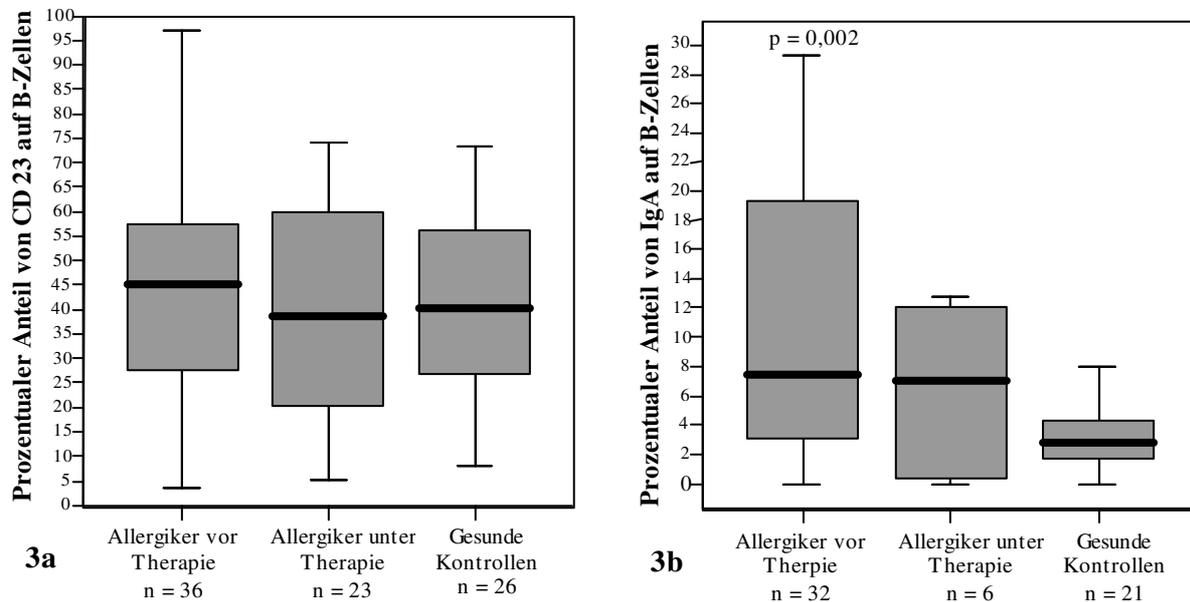


Abb. 3 a, b: Prozentualer Anteil der Oberflächenmarker a) CD23 und b) IgA auf CD20-positiven B-Lymphozyten bei Allergikern vor und unter SLIT (unverbundene Stichprobe) sowie bei gesunden Probanden. Der Faktor „p“ bezeichnet die Irrtumswahrscheinlichkeit im Mann-Whitney-U-Test in Bezug zu den gesunden Kontrollen (wurde nur angegeben, wenn die Unterschiede signifikant sind).

### 5.1.2 Vergleich der T-Lymphozytenmarker CD54, CD69 und CD154 von Gesunden und Allergikern vor und unter SLIT

Beim Vergleich der Bildung von CD54 zeigten sich zwischen den Patientengruppen deutliche Unterschiede (siehe Abb. 4a). Die mittlere Expression betrug bei den Milbenallergikern vor einer sublingualen Immuntherapie 2,3 % und war somit signifikant höher als bei den gesunden Probanden (Median 0,2 %,  $p < 0,001$ ). Ebenso konnte ein Unterschied der CD54-Konzentration in der Gegenüberstellung mit den Patienten unter SLIT statistisch gesichert werden. Hier wurde eine Expression von 0,3 % ermittelt, der U-Test-Wert gilt mit  $p < 0,001$  als höchst signifikant.

Ein ähnliches Ergebnis konnte bei der Untersuchung der CD69-Produktion festgestellt werden (siehe Abb. 4b). Hier ergab sich bei den Allergikern, die noch keine SLIT erhalten hatten, mit 3,8 % ein signifikant höherer Spiegel als bei der Kontrollgruppe mit 0,95 % ( $p < 0,001$ ). Der

Median bei den Patienten unter SLIT zeigte mit 1,4 % eine statistisch gesicherte geringere Expression an CD69 im Vergleich zu den Milbenallergikern vor Therapie ( $p < 0,001$ ), wobei die Produktion des Entzündungsmarkers im Gegensatz zu den gesunden Kindern nur tendenziell höher war ( $p = 0,826$ ).

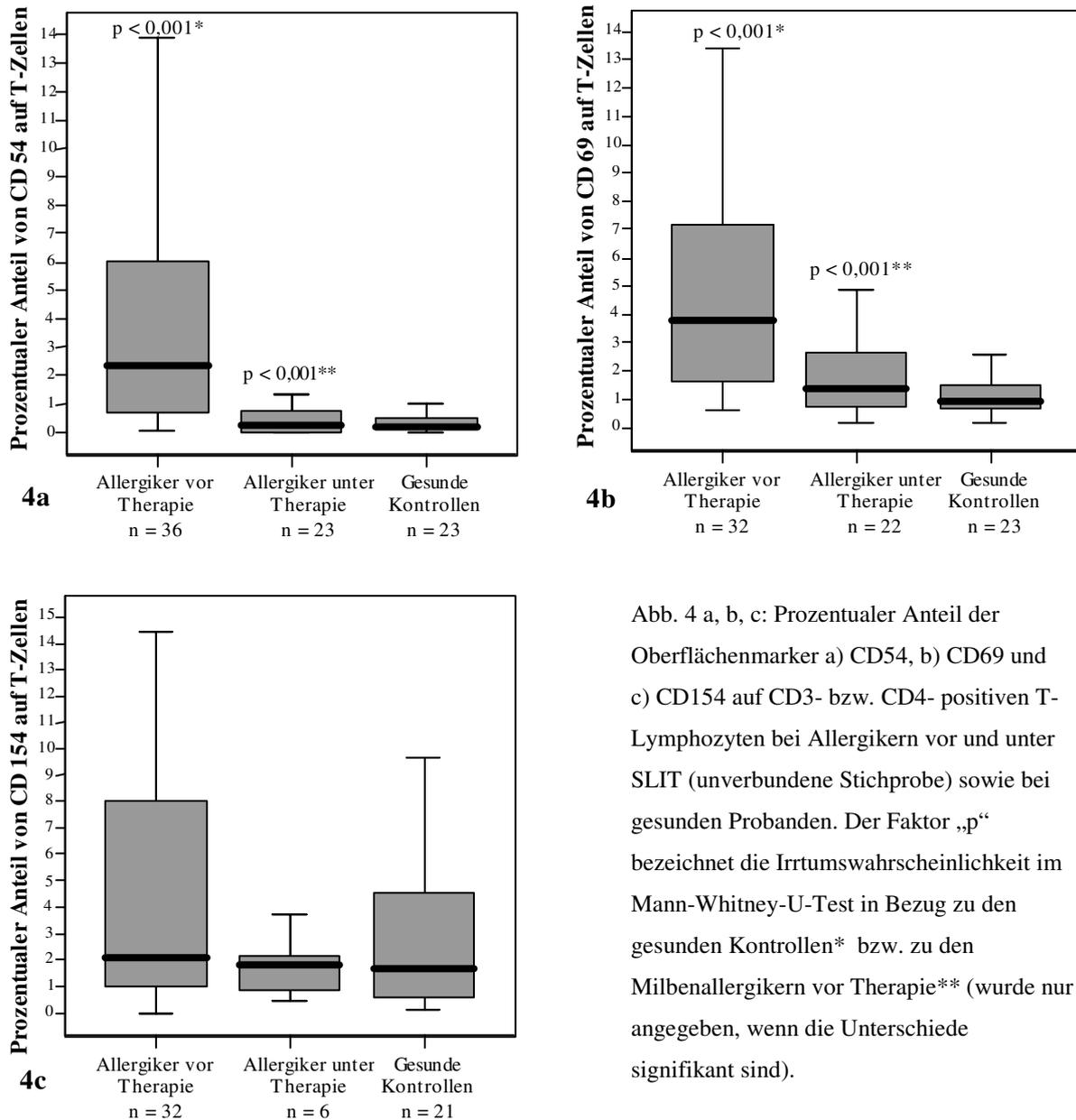


Abb. 4 a, b, c: Prozentualer Anteil der Oberflächenmarker a) CD54, b) CD69 und c) CD154 auf CD3- bzw. CD4- positiven T-Lymphozyten bei Allergikern vor und unter SLIT (unverbundene Stichprobe) sowie bei gesunden Probanden. Der Faktor „p“ bezeichnet die Irrtumswahrscheinlichkeit im Mann-Whitney-U-Test in Bezug zu den gesunden Kontrollen\* bzw. zu den Milbenallergikern vor Therapie\*\* (wurde nur angegeben, wenn die Unterschiede signifikant sind).

In Bezug auf die CD154-Konzentration konnten zwischen den Patientengruppen kaum Unterschiede festgestellt werden (siehe Abb. 4c). Die mittlere Expression war bei den Allergikern vor einer SLIT mit 2,1 % im Gegensatz zu den Kontrollen mit 1,7 % nur leicht erhöht ( $p = 0,287$ ). Ähnliches gilt für den Vergleich mit den Patienten unter Therapie (Median 1,8 %), wobei auch hier ein statistischer Unterschied nicht gesichert werden konnte

( $p = 0,422$ ). Die Ergebnisse sind jedoch als vorläufig zu betrachten, da aus labortechnischen, nicht in meiner Verantwortung liegenden Gründen lediglich 6 Allergiker während einer sublingualen Immuntherapie untersucht werden konnten.

### 5.1.3 Vergleich der Adhäsionsmoleküle sELAM-1, sIL-2R und sICAM-1 im Plasma von Gesunden und Allergikern vor und unter SLIT

Die mittlere Konzentration des Adhäsionsmoleküls sELAM-1 (siehe Abb. 5a) betrug bei den Milbenallergikern vor einer sublingualen Immuntherapie 161 ng/ml und war in der Gegenüberstellung mit den gesunden Kindern (109,5 ng/ml) mit  $p = 0,003$  signifikant erhöht. Der Vergleich zu den Patienten unter SLIT ergab ebenfalls einen statistisch gesicherten Unterschied ( $p < 0,001$ ). Hier wurde eine mittlere Konzentration von 83 ng/ml festgestellt. Im Gegensatz zur Kontrollgruppe hatten die Allergiker während der sublingualen Immuntherapie mit  $p = 0,286$  tendenziell niedrigere Werte. Diese Ergebnisse wurden zusammenfassend in Abbildung 5a dargestellt.

In Bezug auf die sIL-2R-Konzentration wurde bei den Patienten vor SLIT ein Wert von 18,1 ng/ml ermittelt (siehe Abb. 5b), der lediglich einen geringfügigen statisch nicht gesicherten Unterschied zu den gesunden Probanden mit 17,1 ng/ml aufzeigte ( $p = 0,298$ ). Der Vergleich der Milbenallergiker vor und während einer sublingualen Immuntherapie zeigte hingegen einen signifikant niedrigeren sIL-2R-Spiegel bei den Patienten unter Therapie mit 16 ng/ml ( $p = 0,009$ ). In dieser Gruppe konnte mit einem U-Test-Wert von  $p = 0,073$  jedoch nur ein unbedeutender Unterschied zur Kontrollgruppe abgeleitet werden.

Bei Betrachtung der sICAM-1-Expression konnten keine Signifikanzen zwischen den Gruppen festgestellt werden (siehe Abb. 5c). Die Allergiker vor SLIT zeigten eine tendenziell höhere mittlere Konzentration mit 65 ng/ml im Vergleich zu den gesunden Probanden mit 46 ng/ml, was statistisch jedoch nicht gesichert wurde ( $p = 0,077$ ). Der sICAM-1-Wert betrug bei den Patienten während einer sublingualen Therapie im Mittel 52 ng/ml und wies im Gegensatz zur Kontrollgruppe eine leichte Tendenz zur Erhöhung auf ( $p = 0,509$ ).

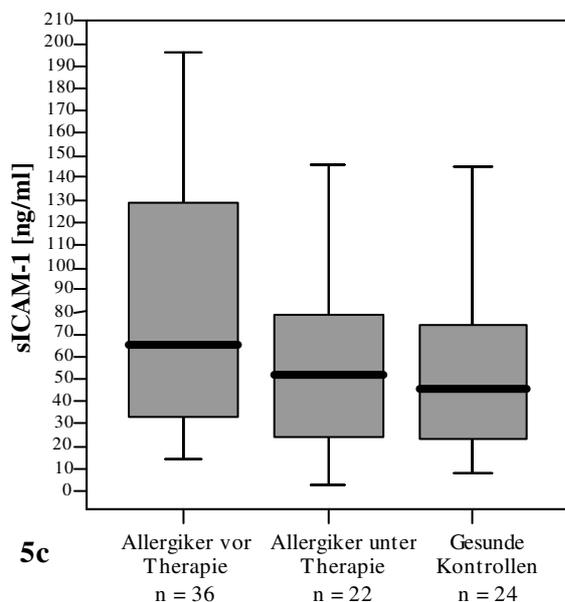
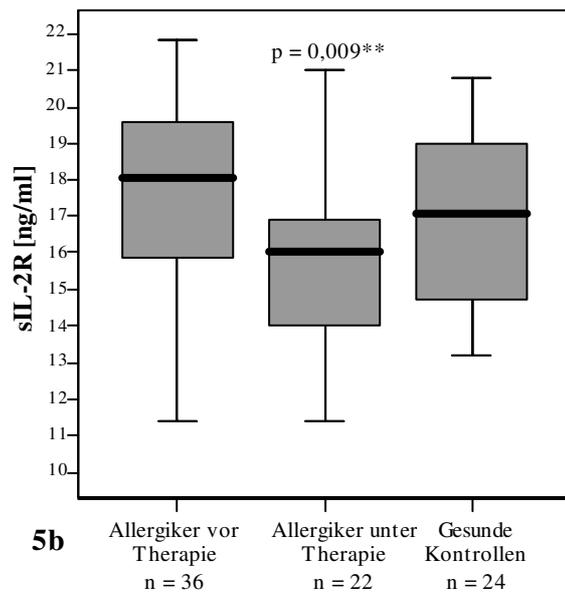
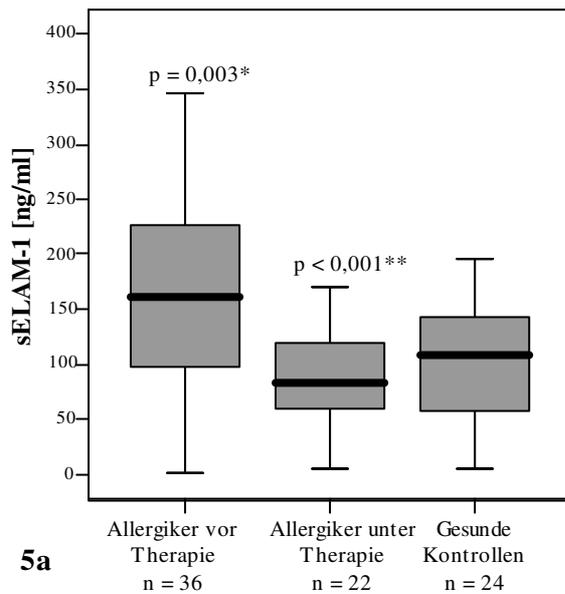


Abb. 5 a, b, c: Konzentration der Adhäsionsmoleküle a) sELAM-1, b) sIL-2R und c) sICAM-1 im Blutplasma von Allergikern vor und unter SLIT (unverbundene Stichprobe) sowie von gesunden Probanden. Der Faktor „p“ bezeichnet die Irrtumswahrscheinlichkeit im Mann-Whitney-U-Test in Bezug zu den gesunden Kontrollen\* bzw. zu den Milbenallergikern vor Therapie\*\* (wurde nur angegeben, wenn die Unterschiede signifikant sind).

## 5.2 Vergleich der Klinik bei Allergikern vor und unter SLIT

Bei der Manifestation von Allergien spielen die atopische Symptomkomplexe Rhinokonjunktivitis, extrinsisches Asthma und bronchiale Hyperreagibilität eine besondere Rolle. Um die therapeutische Wirksamkeit der sublingualen Immuntherapie aufzuzeigen, erfolgte die Gegenüberstellung der einzelnen Schweregrade bei Patienten, die noch keine SLIT erhalten hatten, mit Allergikern unter einer Desensibilisierungstherapie. Da bei den Kindern während einer SLIT die klinische Ausgangslage bekannt war, konnte die Auswertung zusätzlich als verbundene Stichprobe erfolgen. Um darzulegen, dass in der unverbundenen

Patientengruppe ähnliche Resultate bestanden, wurde beides getrennt in Form von Balkendiagrammen abgebildet.

### 5.2.1 Ausprägung der Rhinokonjunktivitis vor und unter SLIT

Bei der klinischen Schwere der Rhinokonjunktivitis zeigte sich in der verbundenen Stichprobe eine Verbesserung des Befindens unter einer sublingualen Immuntherapie (siehe Abb. 6a).

Während vor der SLIT 56,5 % unter einer schweren und 34,8 % der Patienten unter einer mittelschweren Rhinokonjunktivitis litten, zeigte sich unter der Therapie eine Verbesserung der Symptomatik, so dass 82,6 % der Milbenallergiker keine Symptome mehr aufwiesen.

Ein ähnliches Ergebnis konnte für die unverbundene Stichprobe abgeleitet werden (Abb. 6b).

6a

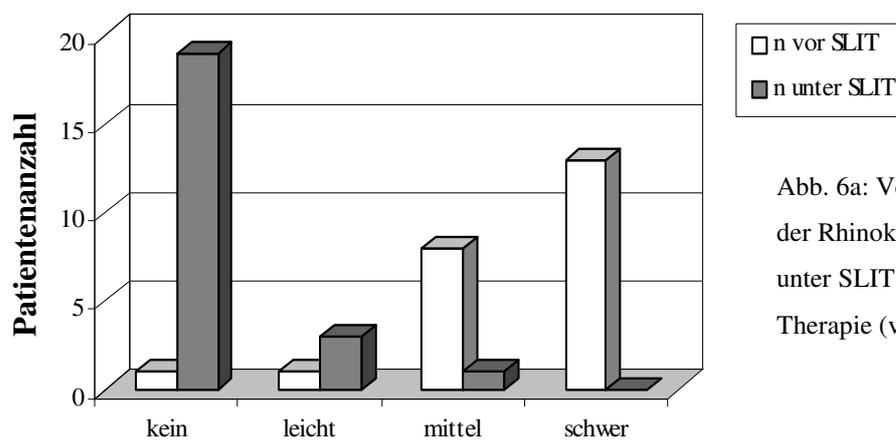


Abb. 6a: Vergleich der Ausprägung der Rhinokonjunktivitis bei Patienten unter SLIT (n = 23) mit der Klinik vor Therapie (verbundene Stichprobe)

n =	1	19	1	3	8	1	13	0
Prozent =	4,3	82,6	4,3	13	34,8	4,3	56,5	0

6b

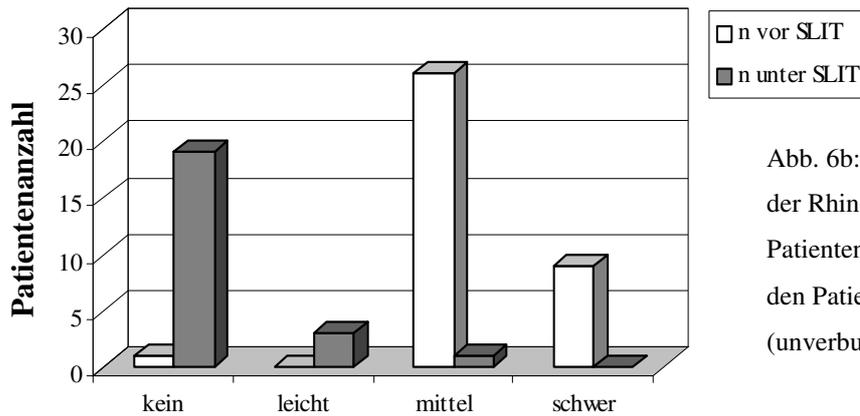


Abb. 6b: Vergleich der Ausprägung der Rhinokonjunktivitis bei Patienten unter SLIT (n = 23) mit den Patienten vor SLIT (n = 36) (unverbundene Stichprobe)

n =	1	19	0	3	26	1	9	0
Prozent =	2,8	82,6	0	13	72,2	4,3	25	0

### 5.2.2 Asthmaausprägung vor und unter SLIT

Auch in Hinblick auf die Manifestation des atopischen Asthmas fand unter einer sublingualen Immuntherapie ein Rückgang der Beschwerden in der verbundenen Stichprobe statt (siehe Abb. 7a). Hierbei wiesen nach der Therapie 87 % der Allergiker keine Symptome mehr auf, während vor SLIT 30,4 % an intermittierend schwerem und 17,4 % an intermittierend leichtem Asthma erkrankt waren.

Ein analoges Resultat war in der unverbundenen Stichprobe zu erkennen (siehe Abb. 7b).

7a

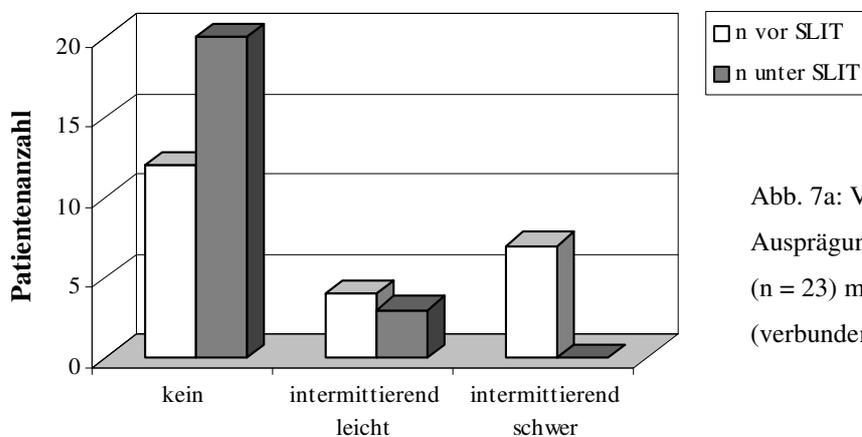


Abb. 7a: Vergleich der Asthma-Ausprägung bei Patienten unter SLIT (n = 23) mit der Klinik vor Therapie (verbundene Stichprobe)

n =	12	20	4	3	7	0
Prozent =	52,2	87,0	17,4	13,0	30,4	0

7b

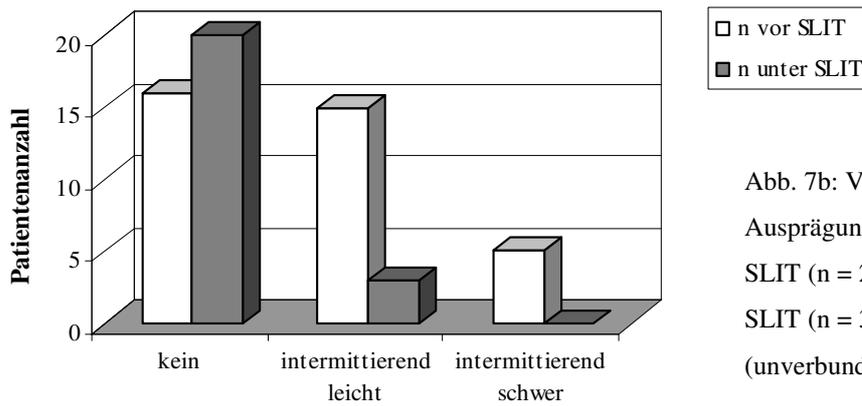


Abb. 7b: Vergleich der Asthma-Ausprägung bei Patienten unter SLIT (n = 23) mit den Patienten vor SLIT (n = 36) (unverbundene Stichprobe)

n =	16	20	15	3	5	0
Prozent =	44,4	87,0	41,7	13,0	13,9	0

### 5.2.3 Ausprägung der bronchialen Hyperreagibilität vor und unter SLIT

In Bezug auf die klinische Ausprägung der bronchialen Hyperreagibilität ergab sich ein ähnliches Ergebnis wie bei der Manifestation der Rhinokonjunktivitis und des Asthmas. Hierbei zeigten vor der Therapie 39,1 % eine schwere und 13 % der Patienten eine leichte bronchiale Hyperreagibilität, die unter der sublingualen Immuntherapie auf 0 % bzw. 4,3 % zurückging. Ein Therapieerfolg konnte in soweit festgestellt werden, dass nach der SLIT 95,7 % der Atopiker in der verbundenen Stichprobe keine Beschwerden mehr aufwiesen (siehe Abb. 8a). Dies wird durch ein vergleichbares Resultat von Allergikern vor und unter Therapie in der unverbundenen Stichprobe untermauert (siehe Abb. 8b).

8a

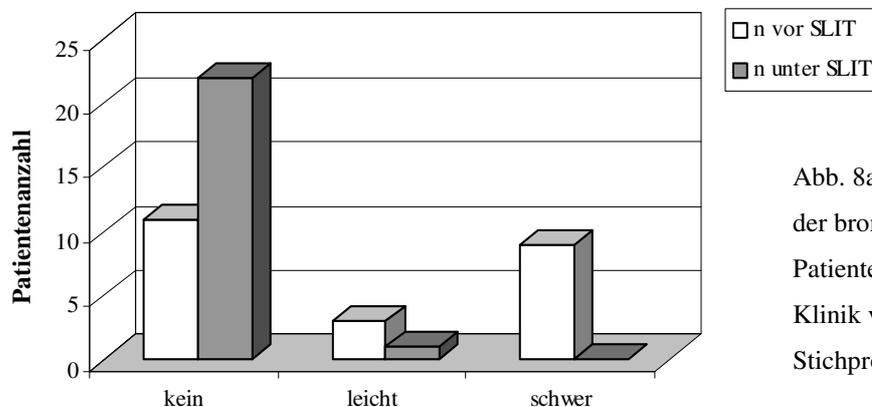


Abb. 8a: Vergleich der Ausprägung der bronchialen Hyperreagibilität bei Patienten unter SLIT (n = 23) mit der Klinik vor Therapie (verbundene Stichprobe)

n =	11	22	3	1	9	0
Prozent =	47,8	95,7	13,0	4,3	39,1	0

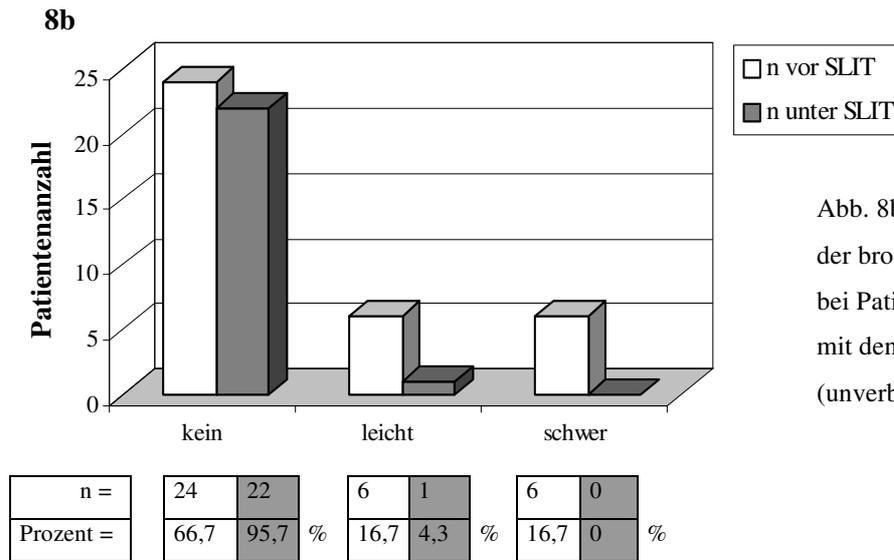


Abb. 8b: Vergleich der Ausprägung der bronchialen Hyperreagibilität bei Patienten unter SLIT (n = 23) mit den Patienten vor SLIT (n = 36) (unverbundene Stichprobe)

### 5.3 Zusammenhang zwischen immunologischen Parametern und Manifestation der atopischen Symptomatik

In der dargestellten Auswertung wurde untersucht, in welcher Beziehung die analysierten immunologischen Entzündungswerte CD23, IgA, CD54, CD69, CD154, sELAM-1, sICAM-1 und sIL-2R zur klinischen Ausprägung der jeweiligen allergischen Symptomatik stehen. Ziel ist es, herauszufinden, ob sich die Oberflächen- und Adhäsionsmoleküle als mögliche Verlaufsparemeter einer atopischen Erkrankung bzw. deren Behandlung unter einer sublingualen Immuntherapie eignen.

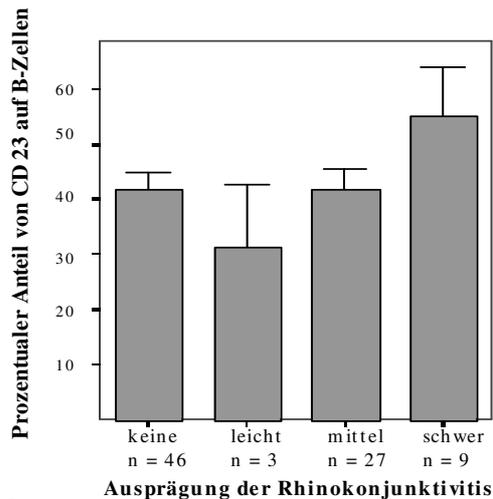
Zu diesem Zweck wurde die mittlere Konzentration des jeweiligen Entzündungsparemeters in den verschiedenen klinischen Manifestationen bei allen untersuchten Probanden (n = 85) miteinander verglichen, wobei die Darstellung in Form von Balkendiagrammen unter Angabe des Standardfehlers erfolgte. In der statischen Auswertung fand zunächst der Kruskal-Wallis-Test für k (mehr als 2) unabhängige Merkmale unter der Voraussetzung nicht normalverteilter Stichproben Anwendung. Wenn hierbei eine Signifikanz von  $p < 0,05$  erreicht wurde, erfolgte der spezifische Vergleich der einzelnen Merkmale mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests für 2 unabhängige Stichproben.

### 5.3.1 CD23

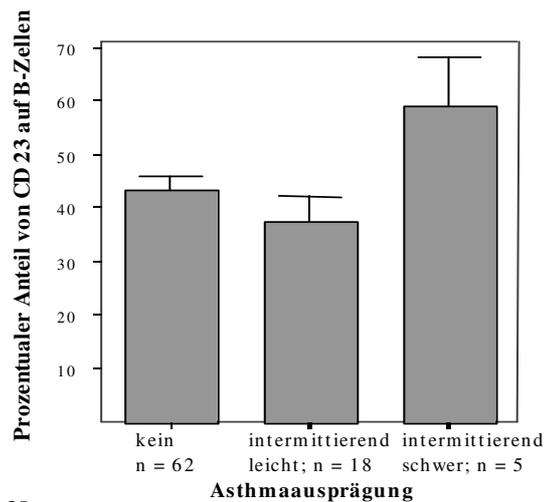
In Bezug auf die Manifestation der Rhinokonjunktivitis ergab sich ein tendenzieller Anstieg der CD23-Konzentration mit zunehmender Schwere der Symptomatik (siehe Abb. 9a). Probanden, die keine bzw. eine mittelschwere Symptomatik aufwiesen, zeigten einen CD23-Spiegel von 41,8 % bzw. 41,5 %, während bei einer schweren Rhinokonjunktivitis der prozentuale CD23-Anteil auf 55,0 % erhöht war. Der Entzündungswert war bei Patienten, die eine leichte Ausprägung präsentierten, mit 31,4 % am niedrigsten. Diese Schwankung kann allerdings durch die geringe Probandenanzahl von  $n = 3$  in der Allergikergruppe mit einer leichten Rhinokonjunktivitis erklärt werden, wobei es fraglich ist, ob diese Stichprobe als repräsentativ angesehen werden kann.

Ein ähnliches Ergebnis zeigte sich in Hinblick auf die übrige atopische Symptomatik. Die mittlere CD23-Expression betrug bei Probanden ohne asthmatische Beschwerden 42,9 % (siehe Abb. 9b) und war somit tendenziell niedriger als bei Patienten mit einem intermittierend schweren Asthma (Mittelwert 58,8 %). Allergiker, die an einer schweren bronchialen Hyperreagibilität litten, zeigten einen CD23-Spiegel von 54,6 %, der bei beschwerdefreien Kindern mit einem Wert von 43,3 % niedriger war (siehe Abb. 9c).

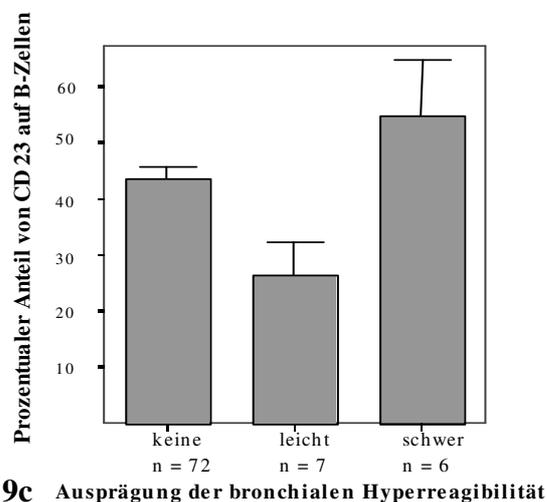
Da im Kruskal-Wallis-Test das Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  bei keinem der drei Symptomkomplexe erreicht werden konnte, zeigen die unterschiedlichen CD23-Konzentrationen eine tendenzielle Abhängigkeit auf. Dies verdeutlicht, dass eine weitere Analyse der CD23-Expression lohnend ist, da dieses Oberflächenmolekül eine wesentliche Rolle in der Pathogenese von Allergien zu spielen scheint.



9a



9b



9c Ausprägung der bronchialen Hyperreagibilität

Abb. 9 a, b, c: Zusammenhang zwischen der klinischen Ausprägung der allergischen Symptomatik mit der mittleren Expression von CD23 auf CD20-positiven B-Lymphozyten bei allen untersuchten Probanden (n = 85):

- a) Rhinokonjunktivitis,
- b) Asthma und
- c) bronchiale Hyperreagibilität.

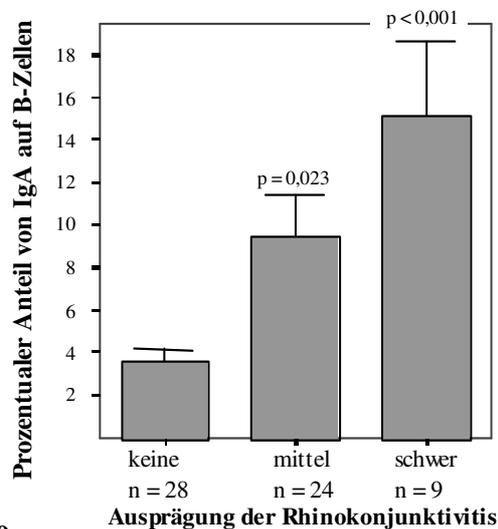
Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar.

### 5.3.2 IgA

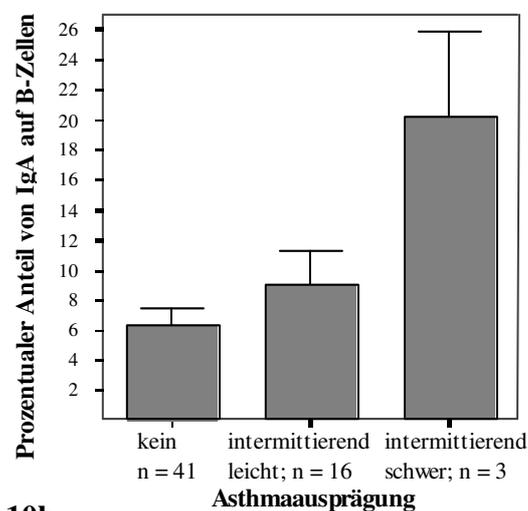
Die Expression des Immunglobulins A zeigte im Zusammenhang mit der Manifestation der Rhinokonjunktivitis statistisch gesicherte Veränderungen (siehe Abb. 10a). Für Patienten mit einer schweren Ausprägung der Symptomatik konnte im Mittel eine IgA-Expression von 15,2 % auf den B-Zellen beobachtet werden, wobei der Wert im Vergleich zu Probanden ohne die entsprechenden Beschwerden mit 3,6 % signifikant höher war ( $p < 0,001$  im U-Test). Ebenso wiesen Allergiker mit einer mittelschweren Rhinokonjunktivitis eine bedeutend höhere IgA-Sekretion von 9,5 % auf als die gesunden Patienten ( $p = 0,023$  im U-Test).

Genauso konnte in Hinblick auf das extrinsische Asthma eine Erhöhung der Immunglobulin-Konzentrationen mit zunehmender Schwere der Symptomatik festgestellt werden, wobei sich im Kruskal-Wallis-Test mit  $p = 0,051$  keine Signifikanz abzeichnete (siehe Abb. 10b).

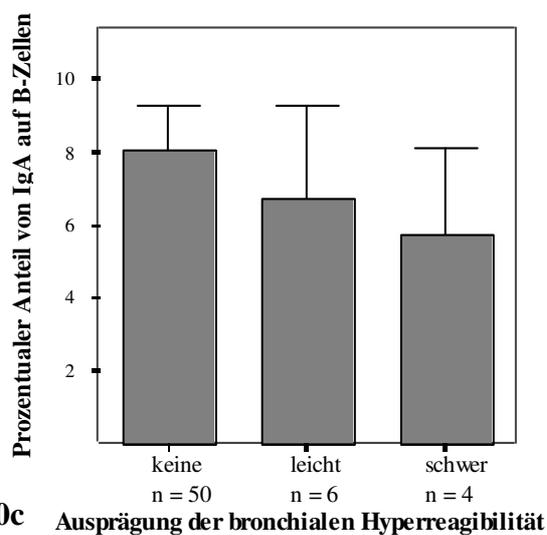
Bei der Ausprägung der bronchialen Hyperreagibilität stellte sich ein negativer Zusammenhang dar (siehe Abb. 10c). Hierbei wiesen beschwerdefreie Probanden tendenziell höhere mittlere IgA-Werte (8,0 %) als Patienten mit einer leichten (6,7 %) und einer schweren (5,7 %) Symptomausprägung auf. Eine statische Sicherung des Ergebnisses zeigte sich mit  $p = 0,989$  jedoch nicht.



10a



10b



10c

Abb. 10 a, b, c: Zusammenhang zwischen der klinischen Ausprägung der allergischen Symptomatik mit der mittleren Expression von IgA auf CD20-positiven B-Lymphozyten bei allen untersuchten Probanden ( $n = 85$ ):

- Rhinokonjunktivitis,
- Asthma und
- bronchiale Hyperreagibilität.

Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar, der Faktor „p“ bezeichnet die Irrtumswahrscheinlichkeit im Mann-Whitney-U-Test in Bezug zu beschwerdefreien Probanden (wurde nur angegeben, wenn die Unterschiede signifikant sind).

## 5.3.3 CD54

In Bezug auf die Ausprägung der Rhinokonjunktivitis fiel eine Abhängigkeit zwischen der Expression des Oberflächenmoleküls CD54 und der Schwere der Symptomatik auf (siehe Abb. 11a). Bei einer schweren und mittelschweren Manifestation zeigten die Patienten eine mittlere Konzentration von 3,4 % bzw. 3,5 %. Im Vergleich zu den beschwerdefreien Kindern, die einen CD54-Spiegel von 0,42 % aufwiesen, sind diese Werte mit  $p < 0,001$  im U-Test signifikant erhöht.

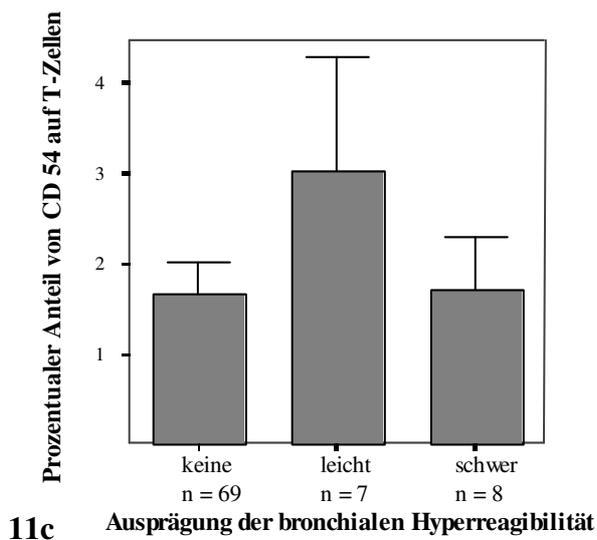
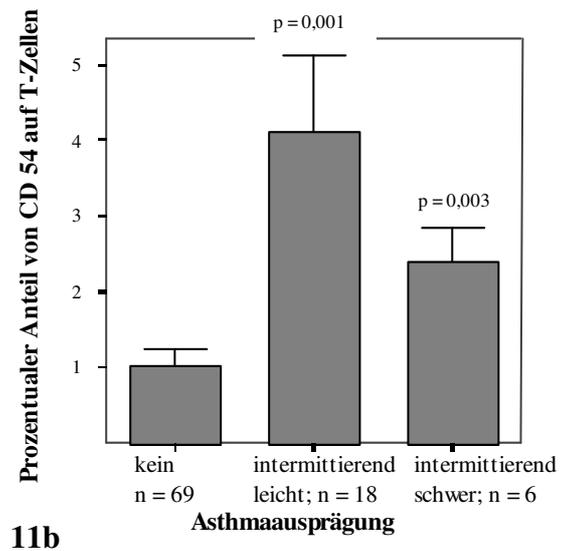
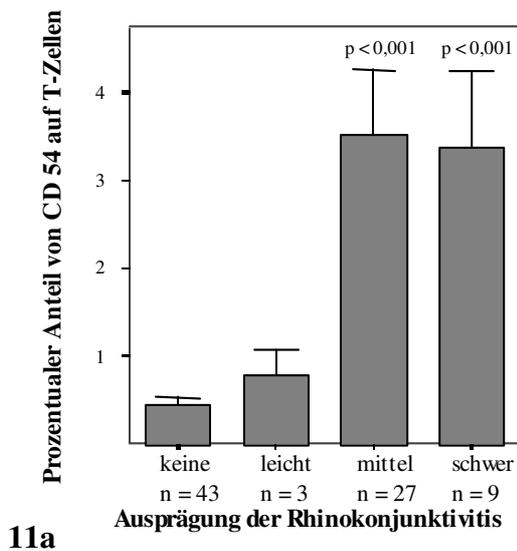


Abb. 11 a, b, c: Zusammenhang zwischen der klinischen Ausprägung der allergischen Symptomatik mit der mittleren Expression von CD54 auf CD3-positiven T-Lymphozyten bei allen untersuchten Probanden (n = 85)

- Rhinokonjunktivitis,
- Asthma und
- bronchiale Hyperreagibilität.

Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar, der Faktor „p“ bezeichnet die Irrtumswahrscheinlichkeit im Mann-Whitney-U-Test in Bezug zu beschwerdefreien Probanden (wurde nur angegeben, wenn die Unterschiede signifikant sind).

Bei der Ausprägung des extrinsischen Asthmas (Abb. 11b) und der bronchialen Hyperreagibilität (Abb. 11c) konnte kein klarer Zusammenhang zur Befindlichkeit der Probanden festgestellt werden. Im Hinblick auf die asthmatischen Beschwerden ergab sich für Patienten mit einer intermittierend schweren Symptomatik eine mittlere CD54-Konzentration von 2,4 %, wobei der Wert bedeutend höher ist als bei den gesunden Kindern mit 1,0 % ( $p = 0,003$  im U-Test). Derselbe Sachverhalt findet sich bei den Allergikern mit intermittierend leichten Beschwerden wieder, die mit 4,1 % signifikant höhere CD54-Spiegel zeigen als die Probanden ohne extrinsisches Asthma ( $p = 0,001$  im U-Test).

Ebenso stellten sich erhöhte Werte mit Zunahme der klinischen Schwere der bronchialen Hyperreagibilität dar (siehe Abb. 11c), wobei diese Veränderungen im Kruskal-Wallis-Test mit  $p = 0,076$  statistisch nicht gesichert werden konnten.

#### 5.3.4 CD69

Zwischen der CD69-Produktion und der klinischen Symptomatik konnten ebenfalls verschiedene Zusammenhänge festgestellt werden. Patienten mit einer schweren Rhinokonjunktivitis zeigten mit 5,4 % eine signifikant höhere Expression des Entzündungsmoleküls als gesunde Kinder mit 1,5 % ( $p < 0,001$  im U-Test). Dasselbe gilt für Allergiker mit einer mittelschweren Symptomatik, die eine CD69-Konzentration von 5,0 % aufwiesen (siehe Abb. 12a).

Ein ähnliches Ergebnis konnte in Bezug auf das allergische Asthma beobachtet werden (siehe Abb. 12b), wobei bei beschwerdefreien Probanden die Bildung des CD69-Moleküls mit 2,3 % signifikant niedriger war als bei Kindern mit intermittierend leichter (5,2 %) und intermittierend schwerer (5,4 %) Symptomatik.

Bezüglich der bronchialen Hyperreagibilität konnte bei Allergikern mit einer leichten und schweren Ausprägung der Symptomatik ein CD69-Wert von 3,8 % bzw. 3,1 % festgestellt werden, wobei beschwerdefreie Kinder eine geringere CD69-Expression von 2,9 % auf CD3-positiven T-Lymphozyten aufwiesen (siehe Abb. 12c). Der Vergleich dieser Ergebnisse zeigte im Kruskal-Wallis-Test mit  $p = 0,155$  keinen signifikanten Unterschied.

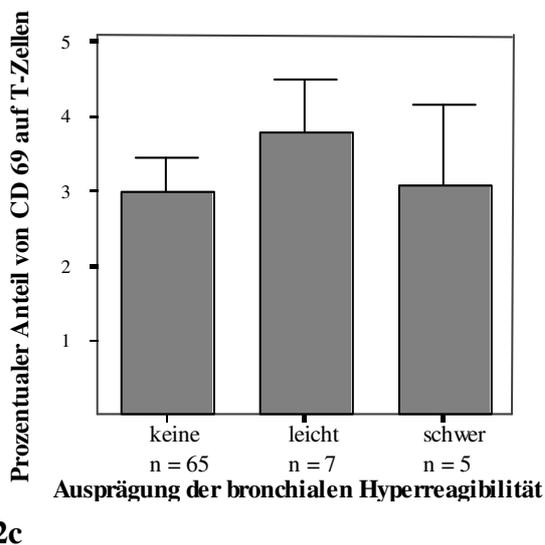
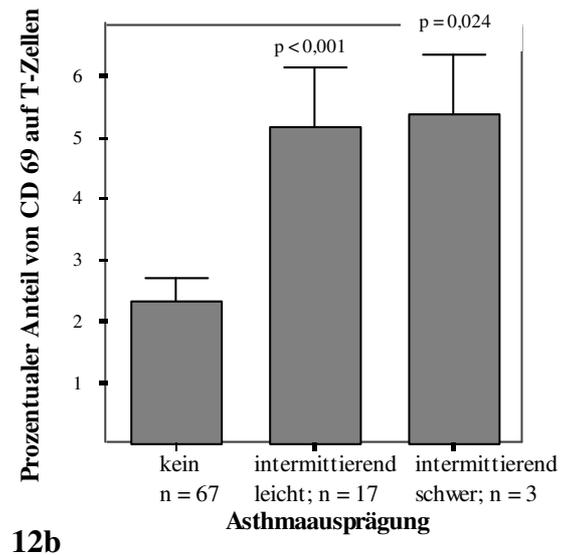
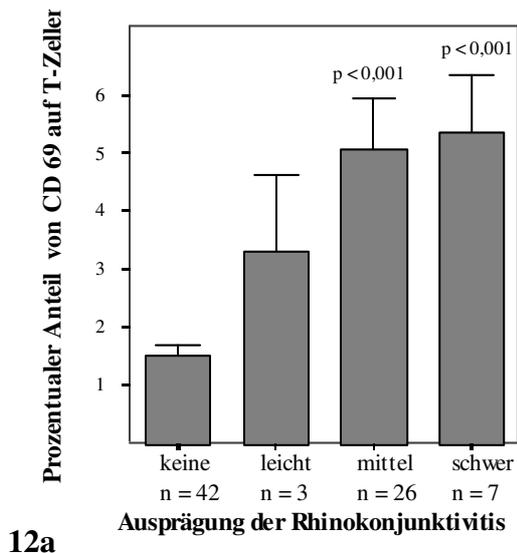


Abb. 12 a, b, c: Zusammenhang zwischen der klinischen Ausprägung der allergischen Symptomatik mit der mittleren Expression von CD69 auf CD3-positiven T-Lymphozyten bei allen untersuchten Probanden (n = 85)

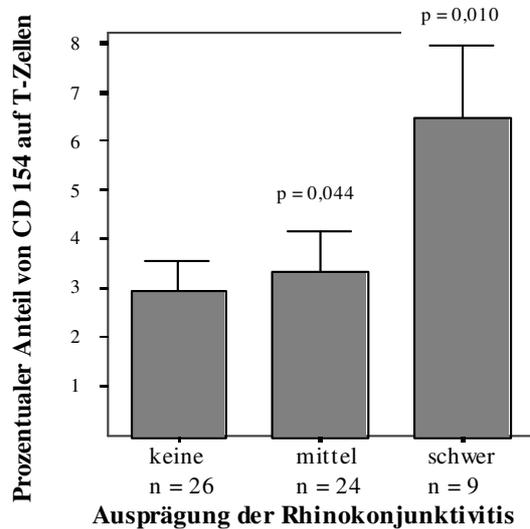
a) Rhinokonjunktivitis,  
 b) Asthma und  
 c) bronchiale Hyperreagibilität.

Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar, der Faktor „p“ bezeichnet die Irrtumswahrscheinlichkeit im Mann-Whitney-U-Test in Bezug zu beschwerdefreien Probanden (wurde nur angegeben, wenn die Unterschiede signifikant sind).

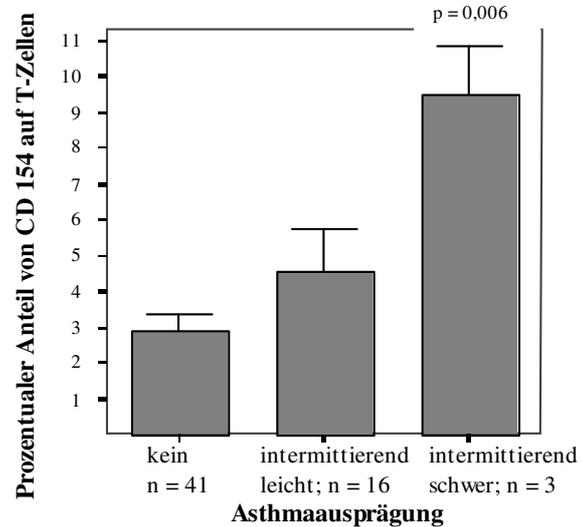
### 5.3.5 CD154

In Bezug auf die klinische Ausprägung der Rhinokonjunktivitis ergab sich ein Anstieg der CD154-Expression (siehe Abb. 13a). Während gesunde Kinder einen prozentualen Anteil von 2,9 % aufwiesen, war bei Allergikern mit einer schweren klinischen Manifestation ein signifikant erhöhter Wert von 6,5 % zu beobachten ( $p = 0,010$  im U-Test). Derselbe Sachverhalt zeigte sich für Patienten, die unter mittelschweren Symptomen litten, wobei der CD154-Spiegel im Gegensatz zu beschwerdefreien Probanden signifikant auf 3,3 % gesteigert war ( $p = 0,044$ ).

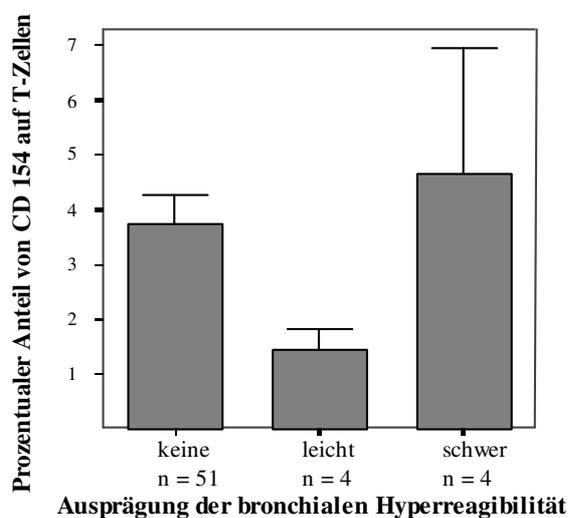
Ein statistisch gesicherter Zusammenhang konnte ebenfalls für die Ausprägung asthmatischer Beschwerden abgeleitet werden (siehe Abb. 13b), wobei Atopiker mit einer intermittierend schweren Symptomatik (9,5 %) einen signifikant höheren prozentualen Anteil des CD40-Liganden zeigten als gesunde Probanden mit 2,9 %. Der U-Test-Wert betrug hier  $p = 0,006$ .



13a



13b



13c

Abb. 13 a, b, c: Zusammenhang zwischen der klinischen Ausprägung der allergischen Symptomatik mit der mittleren Expression von CD154 auf CD4-positiven T-Lymphozyten bei allen untersuchten Probanden ( $n = 85$ ):

- Rhinokonjunktivitis,
- Asthma und
- bronchiale Hyperreagibilität.

Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar, der Faktor „p“ bezeichnet die Irrtumswahrscheinlichkeit im Mann-Whitney-U-Test in Bezug zu beschwerdefreien Probanden (wurde nur angegeben, wenn die Unterschiede signifikant sind).

In Hinblick auf die Manifestation der bronchialen Hyperreagibilität konnte ebenso eine niedrigere mittlere Expression von 3,7 % bei den beschwerdefreien Kindern im Vergleich zu Atopikern mit einer schweren Symptomatik (4,7 %) festgestellt werden, wobei dies mit  $p = 0,751$  im Kruskal-Wallis-Test als Tendenz zu betrachten ist (siehe Abb. 13c). Da die Patientengruppen in Bezug auf die leichte und schwere Ausprägung lediglich eine geringe

Gruppengröße von jeweils  $n = 4$  Probanden umfassten, ergaben sich geringfügige Schwankungen des CD154-Wertes.

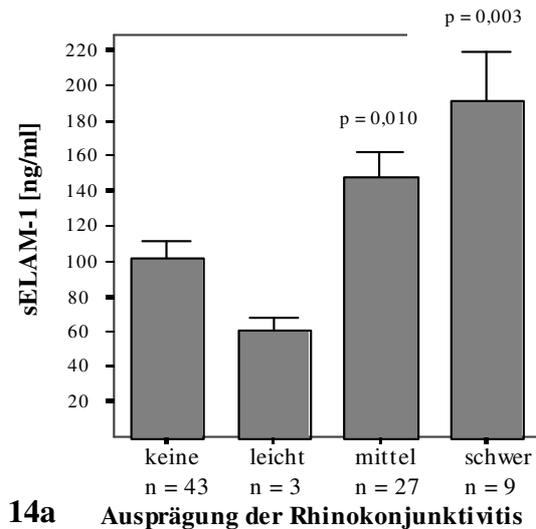
### 5.3.6 sELAM-1

Der Entzündungsmarker sELAM-1 stellt ein Adhäsionsmolekül dar, welches einen wesentlichen Zusammenhang zur Manifestation der atopischen Erkrankungen aufweist. Somit konnten in allen drei Symptomkomplexen signifikante Veränderung mit  $p < 0,05$  im Mann-Whitney-U-Test festgestellt werden.

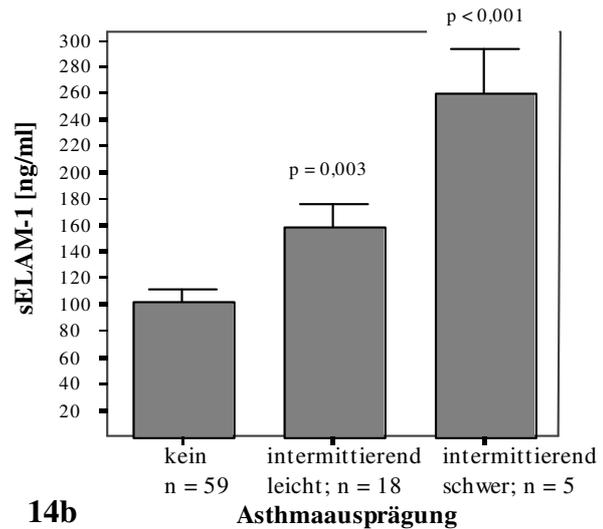
Dementsprechend zeigten gesunde Kinder mit 101,3 ng/ml eine niedrigere mittlere sELAM-1-Konzentration im Blutserum als Allergiker, die an einer mittelschweren (147,4 ng/ml) und einer schweren (191,3 ng/ml) Rhinokonjunktivitis litten (siehe Abb. 14a).

In Bezug auf die klinische Schwere der Asthmaausprägung ergaben sich ebenfalls signifikant höhere Werte für Patienten mit einer positiven Symptomatik (siehe Abb. 14b). Somit wiesen Allergiker mit intermittierend schweren asthmatischen Beschwerden mit 260,8 ng/ml einen gesteigerten Wert gegenüber Atopikern mit einer intermittierend leichten Ausprägung und gesunden Kindern auf. Hier betrug die Konzentrationen des Adhäsionsmoleküls jeweils 159,1 ng/ml bzw. 102,9 ng/ml.

Ein analoges Ergebnis konnte in Hinblick auf die klinische Manifestation der bronchialen Hyperreagibilität abgeleitet werden, wobei gesunde Kinder mit 106,6 ng/ml im Gegensatz zu Atopikern mit einer leichten (168,3 ng/ml) und schweren (284,2 ng/ml) Ausprägung den niedrigsten sELAM-1-Spiegel zeigten (siehe Abb. 14c).

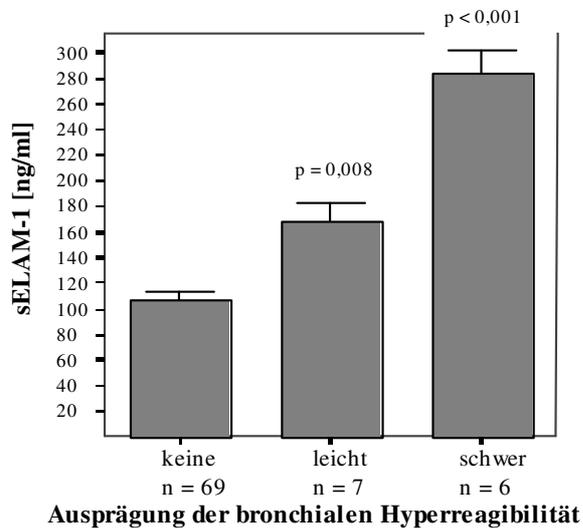


**14a** Ausprägung der Rhinokonjunktivitis



**14b**

Asthmaausprägung



**14c**

Abb. 14 a, b, c: Zusammenhang zwischen der klinischen Ausprägung der allergischen Symptomatik mit der mittleren Konzentration an sELAM-1 [ng/ml] im Blutplasma von allen untersuchten Probanden (n = 85):

- a) Rhinokonjunktivitis,
- b) Asthma und
- c) bronchiale Hyperreagibilität.

Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar, der Faktor „p“ bezeichnet die Irrtumswahrscheinlichkeit im Mann-Whitney-U-Test in Bezug zu beschwerdefreien Probanden (wurde nur angegeben, wenn die Unterschiede signifikant sind).

### 5.3.7 sIL-2R

In Hinblick auf die klinische Ausprägung der Rhinokonjunktivitis konnte mit zunehmender Schwere der Symptomatik ein leichter Anstieg der sIL-2R-Konzentration festgestellt werden (siehe Abb. 15a). Hierbei zeigten gesunde Kinder mit einer mittleren Expression von 16,7 ng/ml einen niedrigeren Wert als Allergiker, die unter einer mittelschweren (17,4 ng/ml) und einer schweren (18,5 ng/ml) Rhinokonjunktivitis litten ( $p = 0,082$  im Kruskal-Wallis-Test).

Ein analoges Resultat wurde in Bezug auf die übrigen atopischen Erkrankungen beobachtet. Patienten mit intermittierend schweren asthmatischen Symptomen wiesen mit 18,7 ng/ml einen höheren Serumwert auf als Milbenallergiker mit intermittierend leichten Beschwerden (17,7 ng/ml) und gesunde Probanden mit 16,7 ng/ml (siehe Abb. 15b). Diese Unterschiede konnten mit  $p = 0,085$  statistisch jedoch nicht gesichert werden.

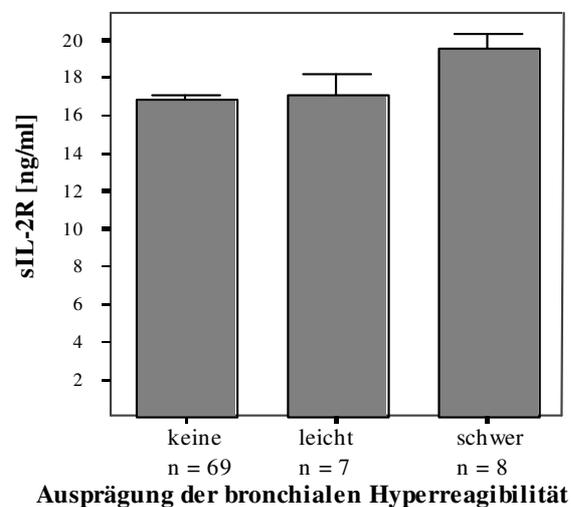
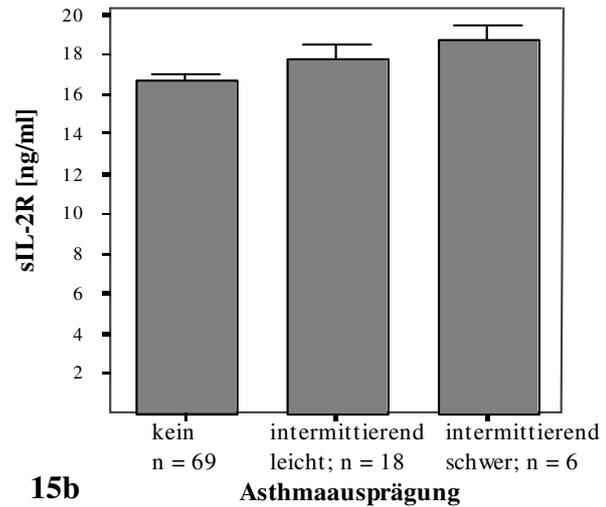
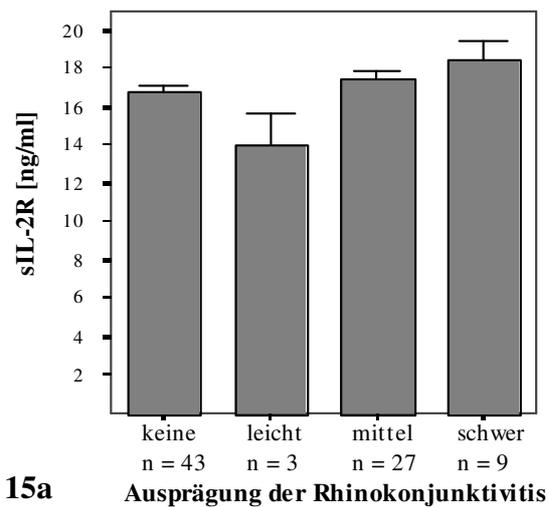


Abb. 15 a, b, c: Zusammenhang zwischen der klinischen Ausprägung der allergischen Symptomatik mit der mittleren Konzentration an sIL-2R [ng/ml] im Blutplasma von allen untersuchten Probanden ( $n = 85$ ):  
 a) Rhinokonjunktivitis,  
 b) Asthma und  
 c) bronchiale Hyperreagibilität.  
 Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar.

Ebenso zeigte sich eine leichte Erhöhung der sIL-2R-Konzentration im Zusammenhang mit einer verstärkten Ausprägung der bronchialen Hyperreagibilität (siehe Abb. 15c).

Beschwerdefreie Probanden präsentierten mit 16,8 ng/ml eine niedrigere Produktion als Atopiker mit einer leichten (17,1 ng/ml) und schweren (19,6 ng/ml) Symptomatik ( $p = 0,060$ ). Da bezüglich aller drei allergischen Erkrankungen das Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  im Kruskal-Wallis-Test nicht erreicht werden konnten, kann die Abhängigkeit zwischen der

sIL-2R-Sekretion und der Manifestation von atopischen Symptomen als Tendenz angesehen werden. Durch weitere Untersuchungen könnten noch deutlichere Unterschiede aufgezeigt werden.

### 5.3.8 sICAM-1

Eine positive Abhängigkeit der Serumkonzentration zur Manifestation der allergischen Erkrankung konnte ebenfalls für das interzelluläre Adhäsionsmolekül sICAM-1 erfasst werden. Im Zusammenhang mit den rhinokonjunktivischen Beschwerden ergab sich bei Patienten mit schweren Symptomen ein Wert von 99,7 ng/ml, der somit gegenüber Allergikern mit mittelschweren Symptomatiken (69 ng/ml) und gesunden Probanden (57,4 ng/ml) erhöht war (siehe Abb. 16a). Dieses Ergebnis konnte im Kruskal-Wallis-Test mit  $p = 0,403$  statistisch nicht gesichert werden.

Ein ähnliches Resultat bestand in Hinblick auf die bronchiale Hyperreagibilität, wobei mit einer zunehmenden Verschlechterung der Befindlichkeit ein Anstieg des sICAM-Spiegels zu beobachten war (siehe Abb. 16c). Eine Signifikanz ergab sich mit  $p = 0,149$  jedoch nicht.

Bezüglich der Asthmaausprägung zeigte sich ebenfalls eine Veränderung der sICAM-1-Expression (siehe Abb. 16b). Hierbei wiesen Atopiker mit einer intermittierend schweren Manifestation eine signifikant höhere Konzentration mit 161,8 ng/ml auf als beschwerdefreie Probanden mit 58,7 ng/ml ( $p < 0,001$ ).

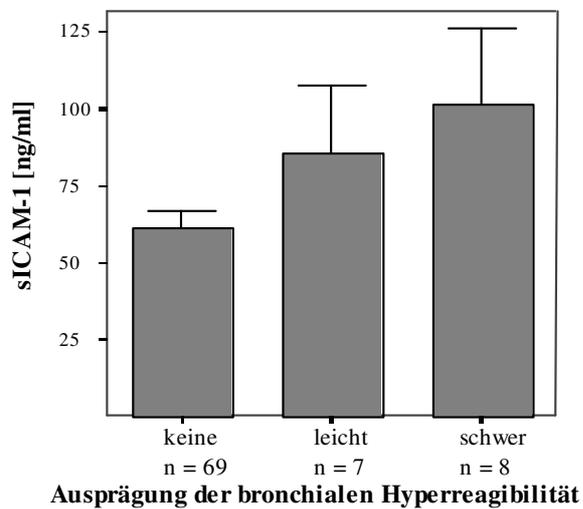
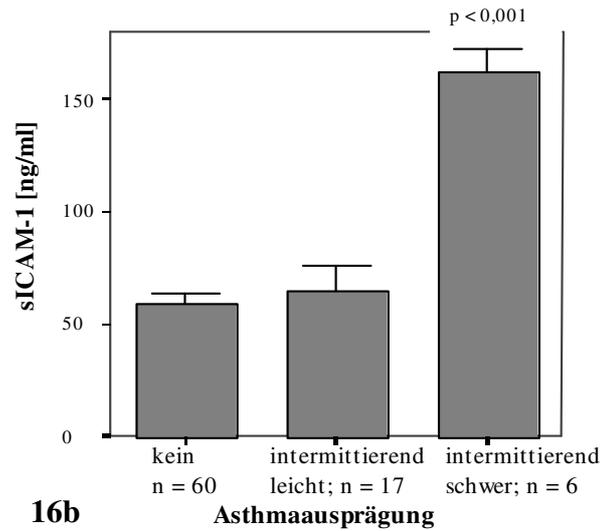
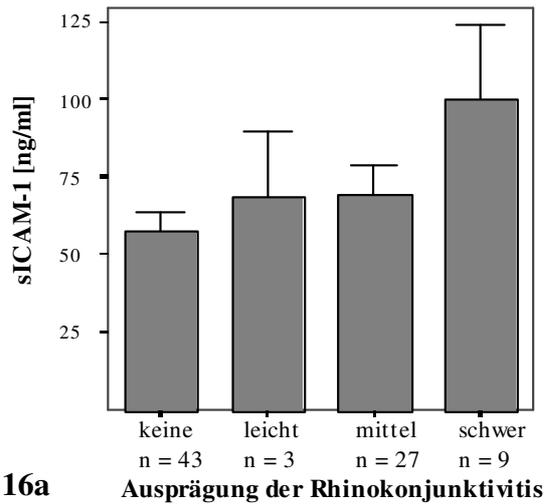


Abb. 16 a, b, c: Zusammenhang zwischen der klinischen Ausprägung der allergischen Symptomatik mit der mittleren Konzentration an sICAM-1 [ng/ml] im Blutplasma von allen untersuchten Probanden (n = 85):

- Rhinokonjunktivitis,
- Asthma und
- bronchiale Hyperreagibilität.

Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar, der Faktor „p“ bezeichnet die Irrtumswahrscheinlichkeit im Mann-Whitney-U-Test in Bezug zu beschwerdefreien Probanden (wurde nur angegeben, wenn die Unterschiede signifikant sind).

## 6 DISKUSSION

### 6.1 Immunologische Parameter in den einzelnen Patientengruppen sowie im Zusammenhang mit der Ausprägung der klinischen Symptomatik

Obwohl ein positiver Einfluss der spezifischen Immuntherapie auf die allergischen Beschwerden von Atopikern in verschiedenen klinischen Studien nachgewiesen werden konnte, bestehen noch Wissenslücken hinsichtlich des genauen Wirkmechanismus dieser Behandlungsform (siehe Kapitel 2.2.2). Immunologische Analysen zeigten, dass es unter einer subkutanen Immuntherapie zur Modulation des Th1-/Th2-Verhältnisses zugunsten der Th1-Antwort kommt. Dies hat langfristig eine Verminderung der allergenspezifischen IgE-Produktion und einen Klassenwechsel zur Bildung von IgG4-Antikörpern zur Folge, wodurch die allergische Entzündungsreaktion abgeschwächt wird. (Bellinghausen I et al. 1997) Ebenso erfolgt eine Beeinflussung der involvierten inflammatorischen Effektorzellen wie Mastzellen, eosinophilen und basophilen Granulozyten. (Klimek L 2000)

Inwieweit eine solche Veränderung auch im Rahmen der sublingualen Immuntherapie abläuft, ist noch nicht vollständig aufgeklärt. So zeigte eine Untersuchung von Reich et al, dass es nach einer einjährigen SLIT zu keiner Veränderung des IgG4-Spiegels im Blutserum von Allergikern kam (Reich M et al. 2003b). Im Gegensatz dazu dokumentierten Marcucci et al einen ausbleibenden Anstieg der spezifischen IgE-Antikörper-Bildung im Nasensekret bei Milbenallergikern nach einer einjährigen SLIT. (Marcucci F et al. 2003)

Um die spezifischen molekularen Veränderungen bei Allergikern vor und während einer sublingualen Immuntherapie im Vergleich zu Gesunden zu analysieren und mögliche Verlaufparameter für die Entwicklung einer allergischen Erkrankung ausfindig zu machen, wurden im Rahmen dieser Arbeit verschiedene Oberflächenmoleküle (CD23, IgA, CD54, CD69, CD154) auf B- bzw. T-Lymphozyten sowie die Adhäsionsmoleküle sELAM-1, sICAM-1 und sIL-2R im Blutplasma der ausgewählten Probanden untersucht. Anschließend werden die tendenziellen Ergebnisse im Einzelnen diskutiert.

### 6.1.1 Der IgE-Rezeptor CD23

CD23 (FcεRII) wird von reifen B-Zellen, aktivierten Makrophagen, eosinophilen Zellen, folliculären dendritischen Zellen und Blutplättchen exprimiert. Es fungiert als niedrigaffiner IgE-Rezeptor und hat somit Einfluss auf die Manifestation von atopischen Erkrankungen. (Janeway CA et al. 2002)

Die lösliche Form des CD23-Moleküls wird auch als sCD23 oder IgE-bindender Faktor bezeichnet, wobei seine Freisetzung über verschiedene proteolytische Schritte erfolgt (Letellier M et al. 1990). Das sCD23-Molekül kann eine spontane Steigerung der IgE-Produktion im Rahmen der allergischen Erkrankung bewirken (Sarfati M et al. 1984).

Die Expression des Oberflächenmoleküls CD23 bei Allergikern mit persistierendem atopischen Asthma wurde in einer Studie von Tomita et al untersucht (Tomita K et al. 1997). Hierbei zeigte eine Analyse der aktivierten mononukleären Zellen (Lymphozyten und Monozyten) in der Durchflusszytometrie bei Patienten mit allergischem Asthma signifikant höhere CD23-Konzentrationen als bei den gesunden Kontrollpatienten.

Eine andere Arbeit (Alesina R et al. 2001) bestätigt dieses Resultat. Bezüglich der Veränderung in der sCD23-Expression während einer SIT konnte hier jedoch ein leichter Anstieg der sCD23-Konzentration bei Allergikern nach einer über 3jährigen spezifischen Immuntherapie im Gegensatz zu Patienten mit einer Behandlungsdauer der SIT von 3 Monaten bis 3 Jahren beobachtet werden. Außerdem zeigte sich in einer Promotionsarbeit (Schneider S 2004) eine negative, aber nicht signifikante Korrelation der CD23-Expression auf B-Lymphozyten von Allergikern unter einer zweijährigen SLIT mit der Schwere der atopischen Symptomatik, d.h. je ausgeprägter die Symptome waren, umso niedriger waren die CD23-Werte.

Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu anderen Studien (Boznanski A et al. 1996, Ohashi Y et al. 1998a, Tanaka A et al. 1999), bei denen eine Reduktion des sCD23-Levels während einer spezifischen Immuntherapie auffiel. Ähnliches zeigte eine Untersuchung von Ohashi et al (Ohashi Y et al. 1997a), bei der die Effekte einer SIT auf den saisonalen Anstieg der spezifischen IgE- und sCD23-Level bei Patienten mit saisonaler allergischer Rhinitis untersucht wurden. Hierbei konnte sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Patientengruppe, die eine subkutane Immuntherapie nach besonderem Plan erhielt, ein saisonaler Anstieg der sCD23-Konzentration im Patientenblut beobachtet werden, der signifikant mit der saisonalen

Erhöhung des spezifischen IgE-Wertes korrelierte. Bei den Allergikern, die mit einer SIT behandelt wurden, war der Anstieg jedoch signifikant kleiner als in der Kontrollgruppe.

Im Rahmen der eigenen Untersuchung konnte bei Allergikern vor einer SLIT eine höhere CD23-Expression auf CD20-positiven B-Lymphozyten festgestellt werden als bei Patienten unter einer spezifischen Immuntherapie und bei den gesunden Kontrollpatienten.

Möglicherweise wird diese verstärkte CD23-Produktion bei Milbenallergikern durch die gesteigerte IgE-Bildung während des allergischen Entzündungsgeschehens mitverursacht. In dieser Arbeit wurden die spezifischen IgE-Werte jedoch nicht mit erfasst, da diese in einem privaten externen Labor ermittelt wurden und dementsprechend nicht zugänglich waren. Aus diesem Grund kann über die Veränderungen des spezifischen IgE-Levels unter SLIT keine weitere Aussage gemacht werden.

Des Weiteren zeigte sich ein Anstieg der CD23-Konzentration mit Zunahme der klinischen Beschwerden bezüglich aller untersuchten atopischen Symptomkomplexe. Die Veränderungen im CD23-Spiegel ergaben in der statistischen Analyse jedoch keine signifikanten Unterschiede, weshalb diese Ergebnisse als Tendenz zu betrachten sind.

#### 6.1.2 Oberflächen-gebundenes IgA auf B-Zellen

Ein weiteres Molekül, welches für die Immunabwehr auf den Körperoberflächen eine besondere Bedeutung hat, stellt das IgA dar. Vor allem im Gastrointestinaltrakt und in den Körpersekreten (Speichel, Milch, Bronchial- und Nasensekret, Verdauungssäfte) sind hohe Konzentrationen an IgA-Antikörpern enthalten, wodurch Krankheitserreger gleich an der Eintrittspforte bekämpft werden können. (Kayser FH et al. 2001)

Sekretorische IgA-Antikörper, die durch eine dimere Struktur charakterisiert sind, haben hierbei eine besondere Funktion. Sie können Viren neutralisieren, Bakterien agglutinieren und sowohl Toxine als auch verschiedene andere Antigene binden. (Weemaes C et al. 2003)

Im Zusammenhang mit der immunologischen Bedeutung dieser Moleküle stellt sich nun die Frage, inwieweit IgA-Antikörper in der Pathogenese von allergischen Erkrankungen eine Rolle spielen und ob Konzentrationsänderungen ein Indikator für eine atopische Prädisposition sein könnten. Dieses Problem wurde in unterschiedlichen Studien untersucht. Lúðvíksson et al analysierten den Zusammenhang der Höhe des Gesamt-IgA-Spiegels im Blutserum und Speichel mit der Manifestation von atopischen Symptomatiken bei

Kleinkindern in den ersten 4 Lebensjahren. Bei Kindern, die ein atopisches Ekzem oder eine allergische Rhinokonjunktivitis entwickelten, konnten signifikant niedrigere

IgA-Konzentrationen beobachtet werden als bei Gesunden. (Lúðvíksson BR et al. 2005)

Eine Studie von Böttcher et al zeigte hingegen, dass Kleinkinder, die in den ersten beiden Lebensjahren eine allergische Erkrankung entwickelten, höhere Konzentrationen an Gesamt-IgA und allergenspezifischem IgA, jedoch niedrigere Werte an sekretorischem IgA aufwiesen als beschwerdefreie Kinder. (Böttcher MF et al. 2002)

Dieses Ergebnis wird unterstützt durch eine Untersuchung von Keen et al. Hierbei wurde die IgA-Konzentration im Nasensekret von Birkenpollen-Allergikern mit intermittierender Rhinitis im Vergleich zu gesunden Probanden untersucht. Es konnte ein Anstieg des allergenspezifischen IgAs im Verhältnis zum Gesamt-IgA bei den Allergikern während der Pollensaison festgestellt werden. In der gesunden Kontrollgruppe zeigte sich keine Veränderung. Aufgrund dieses Resultats wurde hier die Hypothese aufgestellt, dass allergenspezifisches IgA möglicherweise die allergische Entzündungsreaktionen triggern kann. (Keen C et al. 2005)

Ebenso existieren kontroverse Studienergebnisse hinsichtlich der Veränderungen des IgA-Spiegels im Rahmen einer spezifischen Immuntherapie.

So ergab eine Untersuchung von Fu et al einen signifikant höheren Serum-IgA-Spiegel bei Milbenallergikern nach einer eineinhalbjährigen SIT im Vergleich zu unbehandelten Atopikern. Als mögliche Begründung für den IgA-Anstieg unter SIT wurde hier die antigenbindende und entzündungsprotektive Funktion von IgA-Antikörpern angeführt. (Fu CL et al. 2003) Da dies jedoch hauptsächlich auf die dimeren sekretorischen IgA-Antikörper der Haut- und Schleimhautoberflächen zutrifft und bei dieser Studie die IgA-Konzentration im Blutserum gemessen wurde, ist es fraglich, ob die oben genannte Erklärung überhaupt im Rahmen dieser Untersuchung eine Rolle spielt.

Im Gegensatz dazu zeigten Bahceciler et al, dass bei Milbenallergikern während einer 6 bis 12 monatigen sublingualen Immuntherapie der allergenspezifische IgA-Spiegel absank, wobei es nach der Behandlung zu einer Annäherung an den IgA-Wert der gesunden Patienten kam.

(Bahceciler NN et al. 2005)

In der durchgeführten Arbeit wurde im Vergleich zu den oben genannten Studien die Konzentration des gebundenen IgAs auf CD20-positiven B-Zellen gemessen. Hierbei konnte bei den Milbenallergikern vor einer sublingualen Immuntherapie ein signifikant höherer IgA-Wert festgestellt werden als bei den gesunden Kontrollen. Die IgA-Konzentration bei

Patienten unter einer SLIT war geringfügig niedriger als bei den Atopikern vor der Behandlung, wobei sie gegenüber den beschwerdefreien Kindern immer noch erhöht war. Bei der Betrachtung der IgA-Konzentration im Zusammenhang mit der klinischen Ausprägung der atopische Symptomatik zeigte sich eine positive Abhängigkeit in Hinblick auf die Rhinokonjunktivitis und das allergische Asthma. Lediglich die Manifestation der bronchialen Hyperreagibilität wies eine negative Beziehung auf, d.h. je stärker die Symptome waren, desto niedriger war die IgA-Konzentration.

Dieses Resultat entspricht den Studienergebnissen von Böttcher et al und Keen et al. In diesen Arbeiten wurden jedoch die löslichen IgA-Konzentrationen im Blutserum bzw. im Nasensekret gemessen, weshalb es fraglich ist, ob diese Ergebnisse überhaupt mit der hier dargestellten Untersuchung verglichen werden kann. In der eigenen Analyse wurde im Gegensatz zu den oben genannten Studien die Konzentration des gebundenen IgAs auf B-Zellen bestimmt.

Nach heutigem Wissenstand ist außerdem immer noch unklar, ob den IgA-Antikörpern im Rahmen des allergischen Entzündungsprozesses eine protektive oder eine verstärkende Funktion zukommt, weshalb weiterführende Studien hinsichtlich dieser Fragestellung notwendig sind.

### 6.1.3 Das Zelladhäsionsmolekül CD54 und seine lösliche Isoform sICAM-1

Das interzelluläre Adhäsionsmolekül CD54 (ICAM-1) wird auf Gefäßendothelzellen, epithelialen Zellen, Fibroblasten, aber auch auf T- und B-Lymphozyten, Makrophagen und natürlichen Killerzellen exprimiert. CD54 hat dabei eine besondere Bedeutung für die Transmigration von aktivierten T-Zellen durch das Gefäßendothel ins entzündliche Gewebe. (Lin SJ et al. 2003) Des weiteren wurde durch verschiedene in-vitro-Studien gezeigt, dass CD54 (ICAM-1) als Hauptrezeptor für humane Rhinoviren fungiert (Greve JM et al.1989, Staunton DE et al. 1989). Dies ist insofern von Bedeutung, dass die Exazerbation von allergischem Asthma in der Kindheit häufig mit vermehrten viralen Infektionen der Atemwege assoziiert ist (Johnston SL et al. 1995).

Eine Analyse mittels ELISA von Gilain et al zeigte, dass im Nasensekret von Patienten mit perennialer Rhinitis signifikant höhere sICAM-1-Konzentrationen auftraten als bei Allergikern mit saisonaler allergischer Rhinitis und gesunden Probanden (Gilain L et al. 2000). Dies wird bestätigt durch eine Arbeit von Grzelewska-Rzymowska und Pietrzakowicz, bei der eine CD54-Expression auf epithelialen und endothelialen Zellen bei Allergikern mit

rhinitischen Beschwerden nachgewiesen wurde. Ebenso zeigte sich eine erhöhte sICAM-1-Konzentration im peripheren Blut sowie in der bronchoalveolären und nasalen Lavage.

(Grzelewska-Rzymowska I und Pietrkowicz M 2004)

In einer Untersuchung von Reich et al konnte außerdem ein Anstieg der sICAM-1-Expression im Blutplasma von Allergikern mit Rhinitis, Dermatitis und allergischem Asthma gegenüber beschwerdefreien Patienten beobachtet werden. Hierbei wurden signifikant höhere sICAM-1-Werte bei Atopikern mit Gräser- oder Milbenallergie festgestellt, jedoch nicht bei Patienten mit Birkenallergie. (Reich M et al. 2003a)

Ferner dokumentierten Uchio et al, dass Patienten mit vernaler Keratokonjunktivitis und atopischer Dermatitis signifikant höhere sICAM-1-Konzentrationen im Blutserum aufwiesen als gesunde Probanden (Uchio E et al. 1999). Die Conjunctivitis vernalis wird auch als Frühjahrskatarrh bezeichnet und ist auf eine allergische, IgE-vermittelte Pathogenese zurückzuführen, wobei eine Assoziation mit anderen atopischen Erkrankungen (z.B. Asthma) auftreten kann (Grehn F 1998).

Die Veränderung der ICAM-1-Expression auf nasalen epithelialen Zellen im Rahmen einer sublingualen Immuntherapie wurde in einer Studie von Silvestri et al anhand von Milbenallergikern mit Rhinokonjunktivitis und Asthma analysiert. Hierbei konnte nach einer zweijährigen SLIT eine Verringerung der ICAM-1-Produktion festgestellt werden. (Silvestri M et al. 2002) Eine andere Analyse von Ohashi et al ergab ein ähnliches Resultat. Es wurde eine statistisch gesicherte Abnahme der Serumkonzentration an sICAM-1 unter SIT beobachtet, wobei diese positiv mit der Dauer der Immuntherapie korrelierte. (Ohashi Y et al. 1998b) Dies wird durch eine weitere Untersuchung von Reich et al bestätigt (Reich M et al. 2003b).

Ferner fanden Passalacqua et al einen Rückgang der sICAM-1-Produktion in der Konjunktivalflüssigkeit von Milbenallergikern mit Rhinokonjunktivitis nach einer einjährigen SLIT (Passalacqua G et al. 1998). Huang et al beobachteten außerdem, dass die Expression von CD54 auf CD3-positiven T-Lymphozyten bei asthmatischen Allergikern signifikant höher ist als bei gesunden Probanden. Des Weiteren wurde nach einer spezifischen Immuntherapie ein statistisch gesicherter Rückgang der CD54-Expression im Vergleich zum Ausgangswert festgestellt. (Huang JL et al. 2002)

Die eigenen Untersuchungen zeigten sowohl eine höhere Expression des CD54-Moleküls auf CD3-positiven T-Lymphozyten als auch einen gesteigerten sICAM-1-Wert im Blutserum von Allergikern vor einer sublingualen Immuntherapie im Vergleich zu gesunden Probanden, wobei bezüglich der CD54-Expression ein signifikantes Ergebnis vorlag. Ebenso wurde bei Allergikern unter einer SLIT ein niedrigerer CD54- bzw. sICAM-1-Wert gegenüber Patienten

vor der Immuntherapie festgestellt. Auch hier konnten die Veränderungen der CD54-Konzentration statistisch gesichert werden.

Im Vergleich der sICAM-1-Expression mit der klinischen Manifestation von allergischer Rhinokonjunktivitis, Asthma und bronchialer Hyperreagibilität ergab sich eine positive Beziehung für alle drei Symptomkomplexe, die jedoch nur bezüglich der Asthmaausprägung signifikant war. Im Gegensatz dazu zeigte sich kein klarer Zusammenhang hinsichtlich der Schwere der Symptomatik in Verbindung mit der CD54-Produktion. Hierbei konnte lediglich für die Ausprägung der allergischen Rhinokonjunktivitis eine signifikante positive Abhängigkeit beobachtet werden, d.h. je schlechter es den Patienten ging, umso höher war der mittlere CD54-Wert.

Durch die dargestellten Resultate wird verdeutlicht, dass es im Rahmen der sublingualen Immuntherapie zu einer verminderten Expression an CD54 bzw. sICAM-1 kommt und ebenso ein Zusammenhang mit der Manifestation der atopischen Symptomatik besteht. Weitere klinische und molekularbiologische Untersuchungen sollten diese Ergebnisse absichern.

#### 6.1.4 Das Aktivierungsantigen CD69

Der Oberflächenmarker CD69 wird auf aktivierten T-Zellen, B-Lymphozyten und natürlichen Killerzellen sowie auf aktivierten eosinophilen Granulozyten exprimiert. Er hat die Funktion eines frühen unspezifischen Aktivierungsmarkers. (Pignatti P et al. 2002)

CD69 spielt somit möglicherweise durch die Regulation des Stimulationsprozesses von Eosinophilen im Rahmen der allergischen Entzündungsreaktion eine wesentliche Rolle. (Walsh GM et al. 1996)

Nopp et al analysierten den Einfluss der CD69-Konzentration auf die Stimulation von eosinophilen Granulozyten. Es zeigte sich, dass CD69 in Form von vorgeformten Granula im Zytoplasma von eosinophilen und neutrophilen Granulozyten vorkommt, durch spezifische Stimuli jedoch nur auf der Oberfläche von Eosinophilen exprimiert wird. Diese vermehrte CD69-Präsentation wurde dabei mit einer Hochregulation des allergischen Entzündungsprozesses in Verbindung gebracht. (Nopp et al. 2000)

In einer Studie von Julius et al wurde die CD69-Expression auf eosinophilen Granulozyten von Allergikern mit asthmatischen Beschwerden nach einer Allergenprovokation untersucht. Hierbei konnte ein Anstieg der CD69-Konzentration innerhalb von 18 Stunden nach dem Allergenkontakt beobachtet werden. (Julius P et al. 1999) Eine Untersuchung von Pignatti et al ergab ein ähnliches Resultat. (Pignatti P et al. 2002)

In einer Analyse von Toma et al wurde die Bedeutung der Aktivierung von eosinophilen Granulozyten bei Kindern mit atopischer Dermatitis untersucht. Patienten mit CD69-positiven Eosinophilen zeigten signifikant höhere Konzentrationen an eosinophilen Granulozyten und Thrombozyten sowie einen gesteigerten IgE-Gesamtspiegel. Dies unterstützt die Hypothese, dass eine erhöhte CD69-Expression im Zusammenhang mit systemischen allergischen Entzündungsreaktionen steht. (Toma T et al. 2005)

Die Veränderung der CD69-Konzentration im Rahmen einer spezifischen Immuntherapie bei asthmatischen Kindern mit Sensibilisierung gegen Hausstaub- und Milbenallergene wurde in einer Analyse von Huang et al dargestellt. Hierbei ergab sich, dass die CD69-Expression auf CD3-positiven T-Lymphozyten bei Allergikern vor einer SIT signifikant höher war als bei gesunden Kontrollpatienten. Des weiteren zeigte sich ein Abfall des CD69-Wertes nach einer maximal 3jährigen Immuntherapie bei Patienten mit guter Ansprechbarkeit auf die SIT im Vergleich zum Ausgangswert. (Huang JL et al. 2002)

Dieses Ergebnis wird durch eine Dissertationsarbeit untermauert (Debevc F 2005). Hierbei konnte eine geringere CD69-Expression auf CD3-positiven T-Lymphozyten nach Allergenstimulation bei Patienten unter einer sublingualen Immuntherapie im Gegensatz zu Allergikern vor der Behandlung festgestellt werden.

Ein ähnliches Resultat ergab die eigene Analyse anhand der Blutproben von allergischen Kindern. Atopiker vor einer SLIT zeigten eine signifikant höhere CD69-Expression auf CD3-positiven T-Lymphozyten als gesunde Kontrollprobanden, während bei Milbenallergikern unter einer sublingualen Immuntherapie eine statistisch gesicherter geringerer CD69-Wert im Vergleich zu Patienten vor der Behandlung vorlag. Ebenso konnte ein positiver Zusammenhang zwischen der CD69-Konzentration und der Ausprägung von allergischer Rhinokonjunktivitis und Asthma festgestellt werden, d.h. je schlechter das Befinden der untersuchten Patienten war, desto höher war der CD69-Wert.

Aufgrund dieser Ergebnisse besteht die Annahme, dass es während des allergischen Entzündungsgeschehens zu quantitativen Veränderungen der CD69-Expression kommt bzw. die Stärke der inflammatorischen Symptomatik durch dieses Aktivierungsmolekül beeinflusst wird. Somit ist die Schlussfolgerung möglich, dass sich CD69 als klinischer Verlaufparameter von atopischen Erkrankungen eignen könnte.

### 6.1.5 Der CD40-Ligand CD154

Die Interaktion zwischen dem CD40-Molekül und seinem Liganden CD154 hat eine wesentliche Bedeutung für zahlreiche immunologische Reaktionen, so auch für den allergischen Entzündungsprozess. CD40 wird auf B-Lymphozyten, aber auch auf Monozyten und dendritischen Zellen exprimiert, während CD154 vor allem auf aktivierten T-Zellen vorkommt. Die Kopplung beider Moleküle vermittelt dabei wesentliche Signale für die Proliferation und Differenzierung von B-Zellen, wodurch ein IgE-Klassenswitch ausgelöst wird. (Srahna M et al. 2001)

In einer Studie von Nakstad et al wurden die Veränderungen der CD154-Expression nach einer Stimulation von CD3-positiven T-Lymphozyten mit Birkenpollenallergenen untersucht. Hierbei zeigte sich ein Anstieg der CD154-Produktion bei Atopikern, nicht jedoch bei gesunden Probanden. (Nakstad B et al. 1999)

Ein ähnliches Resultat erbrachte eine Analyse von Markert et al, wobei nach unspezifischer T-Zell-Stimulation, unter anderem mit Ionomycin, die Expression des CD40-Liganden bei Allergikern höher war als bei beschwerdefreien Kontrollpatienten. (Markert UR et al. 1999) Hermes et al stellten außerdem fest, dass in der Dermis und Epidermis von Patienten mit atopischer Dermatitis und Scabies eine erhöhte IgE-, CD40- und CD154-Expression im Vergleich zu gesunden Patienten vorhanden ist. (Hermes B et al. 1997) Dies führt zu der Annahme, dass bei Allergikern eine wesentlich höhere Fähigkeit zur Produktion des CD40/CD40-Liganden-Systems gegeben ist als bei Nichtatopikern und demzufolge eine größere Tendenz zur B-Zell-Differenzierung und IgE-Bildung besteht.

Im Rahmen der eigenen Untersuchung konnte ein vergleichbares Resultat gesichert werden. Hierbei zeigte sich eine tendenziell höhere CD154-Expression auf CD4-positiven T-Lymphozyten bei unbehandelten Milbenallergikern im Vergleich zu gesunden Probanden.

In Hinblick auf die Veränderungen der CD154-Konzentration unter einer spezifischen Immuntherapie existieren derzeit nur wenige Forschungsergebnisse. In einer doppelblinden placebokontrollierten Studie von Ippoliti et al wurden die Konzentrationen von verschiedenen Zytokinen und kostimulatorischen Molekülen vor und unter einer sublingualen Immuntherapie bei Milbenallergikern gemessen. Nach der sechsmonatigen SLIT konnte eine signifikante Verbesserung des Asthma- und Rhinitisscores sowie eine verminderte Produktion

an IL-13 festgestellt werden. IL-13 wirkt als Stimulationsfaktor bei der B-Zell-Differenzierung mit, wodurch der IgE-Isotypenwechsel als Einleitung der allergischen Entzündungsreaktion verursacht wird. Es konnte jedoch keine Veränderung der CD40-Expression unter der Immuntherapie festgestellt werden. (Ippoliti F et al. 2003)

Hinsichtlich dieses Ergebnisses stellt sich nun die Frage, ob eine spezifische Immuntherapie ebenfalls keinen wesentlichen Einfluss auf die Produktion des CD40-Liganden (CD154) hat. Die eigene Analyse zeigte jedoch einen geringeren CD154-Wert bei den Milbenallergikern unter sublingualer Immuntherapie im Vergleich zu Atopikern vor der Behandlung, wobei die Veränderungen statistisch nicht signifikant waren. Zudem konnte in Bezug auf die Manifestation der allergischen Symptomatik eine signifikante Erhöhung der CD154-Konzentration mit Zunahme der klinischen Schweregrade von Rhinokonjunktivitis und Asthma festgestellt werden.

Ein Abfall der intrazellulären CD154-Expression (nach T-Zell-Stimulation in vitro) unter einer einjährigen SLIT bei Atopikern mit Gräserpollen-, Birkenpollen- oder Milbenallergie wurde ebenfalls in einer anderen Promotionsarbeit beobachtet. Dies ging mit einer Verminderung der asthmatischen Beschwerden und atopischen Ekzeme sowie einer Senkung des IgE-Gesamtspiegels und der RAST-Klasse bei der Mehrheit der Patienten einher. (Bär C 2001)

Anlässlich dieser Resultate ist ein Einfluss der Immuntherapie auf die Expression des CD40/CD154-Systems nicht von der Hand zu weisen, obgleich der genaue Effektormechanismus noch unklar ist. Zudem ist die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Untersuchung lediglich als vorläufiges tendenzielles Ergebnis anzusehen, da die Allergikergruppe unter SLIT nur eine geringe Probandenanzahl (n = 6) einschloss. Da jedoch eine signifikante positive Abhängigkeit zur Manifestation der atopischen Symptomkomplexe festgestellt wurde, könnte sich das CD154-Molekül als potentieller klinischer Verlaufsparemeter erweisen.

#### 6.1.6 Das Endothelzell-Adhäsionsmolekül sELAM-1

Das Oberflächenmolekül ELAM-1 (CD62E oder E-Selektin) spielt eine tragende Rolle bei der Adhäsion von Entzündungszellen an das Gefäßendothel, wodurch die Voraussetzung für die Einwanderung der Leukozyten ins inflammatorische Gewebe geschaffen wird (Sack U et al. 1998). ELAM-1 wird von Endothelzellen exprimiert und vermittelt durch die schwache

Bindung an den von T-Zellen präsentierten Kohlenhydratliganden Sialyl-Lewis<sup>x</sup> das Entlangrollen der neutrophilen Zellen auf der Gefäßinnenwand. (Janeway CA et al. 2002)

Verschiedene klinische Studien belegen, dass es im Rahmen des allergischen Entzündungsprozesses zu Veränderungen hinsichtlich der Expression an ELAM-1 und seiner löslichen Form sELAM-1 kommt.

So fanden Dogu et al heraus, dass Kinder mit akutem Asthma höhere sELAM-1-Werte im Blutserum aufwiesen als beschwerdefreie Patienten und gesunde Kontrollen. (Dogu F et al. 2002) Dies bekräftigt eine Untersuchung von Janson et al, bei der ein Anstieg der sELAM-1-Konzentration bei Patienten mit allergischem Asthma gegenüber der Referenzgruppe (gesunde Probanden und Patienten mit nichtallergischem Asthma) beobachtet werden konnte (Janson C et al. 2005).

Ebenso zeigten verschiedene Studien eine positive Korrelation der sELAM-1-Konzentration mit der symptomatischen Schwere einer atopischen Dermatitis bei allergischen Patienten (Gutgesell C et al. 2002, Wolkerstorfer A et al. 2003). Ein ähnliches Resultat erbrachte eine Analyse von Hirai et al. Bei Patienten mit atopischer Dermatitis traten dabei signifikant höhere sICAM-1- und sELAM-1-Spiegel auf als bei beschwerdefreien Probanden, wobei sich zusätzlich eine Korrelation zur allergischen Symptomatik abzeichnete. Hierdurch wird verdeutlicht, dass ein hohes sICAM-1- und sELAM-1-Niveau die allergische Entzündungsreaktion triggern kann und diese Parameter zur klinischen Verlaufskontrolle genutzt werden könnten. (Hirai S et al. 1996)

Aufgrund der oben angeführten Steigerung der sELAM-1-Expression im Verlauf einer allergischen Erkrankung ist es nun interessant herauszufinden, inwieweit eine spezifische Immuntherapie zu einer Veränderung des sELAM-1-Spiegels führt. Eine Arbeit von Reich et al befasst sich mit dieser Problematik. Nach einer einjährigen sublingualen Immuntherapie zeigte sich eine Abnahme der sELAM-1-Konzentration im Blutserum bei allen untersuchten Allergikern. Dieses Ergebnis war bei Atopikern mit Birkenpollenallergie statistisch signifikant, jedoch nicht bei Patienten mit Gräser- bzw. Milbenallergie. (Reich M et al. 2003b) In der eigenen Arbeit konnten bei Allergikern vor einer SLIT signifikant höhere sELAM-1-Werte festgestellt werden als bei gesunden Kindern. Atopiker während einer SLIT zeigten im Vergleich zu Patienten vor der Behandlung eine signifikant niedrigere sELAM-1-Konzentration. Ebenso war eine tendenziell niedrigere sELAM-1-Expression im Gegensatz zu beschwerdefreien Probanden zu erkennen.

Dieses geringere sELAM-1-Niveau bei Allergikern unter einer SLIT gegenüber gesunden Kindern kann jedoch durch weitreichendere Einflussfaktoren bedingt sein. So ergab eine Studie von Ponthieux et al eine positive Assoziation der ELAM-1-Konzentration im Blutserum mit dem Body Mass Index (BMI). (Ponthieux A et al. 2004) Da das Körpergewicht der untersuchten Kinder im Rahmen der eigenen Datenerhebung nicht mit erfasst wurde, könnte zwar theoretisch eine Beeinflussung der Messergebnisse bestehen, aber es ist eher unwahrscheinlich, dass sich der BMI in den analysierten Gruppen unterscheidet.

Der Vergleich der sELAM-1-Konzentration mit der klinischen Manifestation der allergischen Beschwerden zeigte in der hier dargestellten Analyse signifikante Veränderung bezüglich der Rhinokonjunktivitis, des Asthmas und der bronchialen Hyperreagibilität. Hierbei konnte für alle drei Symptomkomplexe ein positiver Zusammenhang mit der Symptomschwere festgestellt werden, d.h. je schlechter es den Patienten ging, desto höhere sELAM-1-Werte präsentierten sich. Unterstützt wird dieses Resultat besonders durch eine Arbeit von Hamzaoui et al, in der ein signifikant höherer sELAM-1-Spiegel bei Patienten mit schwerem Asthma im Vergleich zu Patienten mit leichten oder mäßigen Beschwerden beobachtet werden konnte (Hamzaoui A et al. 2001).

Aufgrund der eigenen und der in der Literatur beschriebenen Ergebnisse ist das Fazit möglich, dass das Endothelzell-Adhäsionsmolekül sELAM-1 durchaus geeignet sein könnte, um den Verlauf einer allergischen Erkrankung zu dokumentieren.

#### 6.1.7 Der Interleukin-2-Rezeptor sIL-2R

Dem Interleukin-2-Rezeptor (IL-2R) kommt bezüglich der T-Zell-Aktivierung im Rahmen der allergischen Entzündungsreaktion eine besondere Bedeutung zu. Er wird auf der Oberfläche von T-Helfer- und zytotoxischen T-Lymphozyten, aber auch auf B-Zellen, Neutrophilen, Monozyten und anderen Zellen exprimiert. (Reich M et al. 2003b)

Der IL-2R besteht dabei aus den drei Ketten  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$ . Ruhende T-Zellen präsentieren lediglich die  $\beta$ - und  $\gamma$ -Kette, die eine mäßige Affinität zum IL-2 aufweisen. Durch den Antigenkontakt und verschiedene kostimulatorische Signale wird die Bildung der  $\alpha$ -Kette ausgelöst, wodurch sich die Affinität zu IL-2 um ein Vielfaches erhöht. Dies hat zur Folge, dass sich naive T-Zellen in zahlreicher Form zu bewaffneten T-Effektor-Zellen differenzieren und somit die Immunantwort eingeleitet wird. (Janeway CA et al. 2002)

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die lösliche Form sIL-2R im Blutplasma von Allergikern vor und unter SLIT sowie von gesunden Probanden untersucht.

Die Unterschiede der IL-2R-Expression bei Allergikern und Gesunden wurden in verschiedensten Studien analysiert. So beobachteten Shi et al, dass Patienten mit akuten Asthmaattacken eine erhöhte Expression des IL-2-Rezeptors auf Lymphozyten sowie höhere sIL-2R-Konzentrationen im Blutserum aufweisen als gesunde Kontrollprobanden und Patienten mit stabilem Asthma. (Shi HZ et al. 1999)

In einer weiteren Untersuchung von Park et al wurden die Konzentrationen von IL-2, IL-2R und die zelluläre Zusammensetzung der bronchoalveolären Lavage bei Asthmatikern und Nichtasthmatikern analysiert. Symptomatische Patienten zeigten hierbei höhere IL-2- und IL-2R-Spiegel als gesunde Probanden, wobei eine signifikante Korrelation mit der Anzahl an eosinophilen Granulozyten im Bronchialbaum festgestellt werden konnte. (Park CS et al. 1994) Eine andere Studie von Halmerbauer et al beschäftigte sich mit dem Zusammenhang der Expression verschiedener Adhäsionsmoleküle und der Ausprägung von atopischer Dermatitis vor und unter einer 4tägigen Prednisolontherapie. Patienten vor der Behandlung präsentierten dabei signifikant höhere sIL-2R- und sICAM-1-Werte als gesunde Probanden, wobei nach der Therapie ein Rückgang der sIL-2R- und sICAM-1-Expression festgestellt werden konnte. Besonders für die Produktion des IL-2-Rezeptors zeigte sich eine positive Korrelation zur Symptomschwere sowohl vor als auch unter der Steroidtherapie. (Halmerbauer G et al. 1997)

Ebenso existieren verschiedene Analysen hinsichtlich der Veränderung der sIL-2R-Konzentration unter einer spezifischen Immuntherapie. Dies wird durch zwei Studien von Ohashi et al verdeutlicht. Die erste Arbeit beschäftigte sich dabei mit den Langzeiteffekten einer SIT anhand von Atopikern mit einer Hausstaub- und Milbenallergie. Es zeigte sich, dass Allergiker vor der Behandlung signifikant höhere sIL-2R-Konzentrationen im Blutserum aufwiesen als gesunde Probanden. Während einer 5 bis 15jährigen Immuntherapie sank die sIL-2R-Expression ab und näherte sich am Ende der Behandlung an die Werte der beschwerdefreien Kontrollpatienten an. Als mögliche Erklärung für diese Phänomen wurde die Dämpfung der Hyperreaktivität von T-Helfer-Zellen unter SIT herangezogen. (Ohashi et al. 1996) Die zweite Studie beschreibt die saisonalen Veränderungen des sIL-2R-Spiegels bei Pollenallergikern während der Pollensaison und unter dem Einfluss einer Immuntherapie. Es konnte beobachtet werden, dass eine SIT den saisonalen sIL-2R-Anstieg stärker supprimiert als eine antiallergische Pharmakotherapie. (Ohashi Y et al. 1997b)

Diese Resultate werden durch eine Arbeit von Tsai et al unterstützt. Hierbei zeigte sich bei Milbenallergikern mit asthmatischen Beschwerden ebenfalls ein Abfall der IL-2- und IL-2R-Konzentration nach einer 3jährigen Hyposensibilisierung. (Tsai LC et al. 1990) Andere Analysen bestätigen dies (Reich M et al. 2003b).

Im Rahmen der eigenen Untersuchung zeigte sich bei Atopikern vor einer SLIT ein tendenziell höherer sIL-2R-Wert als bei gesunden Patienten, wohingegen Allergiker während der Behandlung signifikant niedrigere sIL-2R-Konzentrationen aufwiesen als Probanden vor der Therapie. Patienten unter SLIT präsentierten außerdem einen leicht erniedrigten sIL-2R-Spiegel im Vergleich zu Gesunden, was statistisch jedoch nicht gesichert werden konnte. Da es im Rahmen einer spezifischen Immuntherapie zu einer Herunterregulierung der Aktivität von Th2-Zellen kommt, ist die damit zusammenhängende IL-2R-Expression während einer SIT möglicherweise so beträchtlich reduziert, dass die IL-2R-Produktion sogar geringer ausfällt als bei beschwerdefreien Probanden.

Die Untersuchung der sIL-2R-Expression mit der klinischen Manifestation der allergischen Symptomatik zeigte sowohl für die Rhinokonjunktivitis als auch für das Asthma und die bronchiale Hyperreagibilität einen positiven Zusammenhang, jedoch war keines dieser Ergebnisse statistisch signifikant. Trotzdem konnte in der oben angeführten Literatur demonstriert werden, dass sich der IL-2-Rezeptor als möglicher Verlaufparameter für atopische Erkrankungen eignen könnte, was durch das tendenzielle Resultat dieser Arbeit bestätigt wird.

## 6.2 Klinische Effekte der sublingualen spezifischen Immuntherapie

Die allergenspezifische Immuntherapie ist nach heutigem Wissensstand neben der Allergenkenz die einzige kausale Behandlungsoption von Typ-1-Allergien. Neben der Pharmakotherapie spielt sie in der Basisbehandlung von atopischen Erkrankungen eine wesentliche Rolle. Die klinische Wirksamkeit der renommierten subkutanen Immuntherapie konnte in der Vergangenheit durch zahlreiche placebokontrollierte Studien nachgewiesen werden (Ewan PW et al. 1988, Haugaard L et al. 1993, Kelso JM et al. 1995, Dokic D et al. 2005). Dennoch ist es immer mehr Ziel der Forschung, lokale und somit nebenwirkungsärmere Applikationsformen der spezifischen Immuntherapie zu entwickeln. Für die orale (Cooper PJ et al. 1984, Oppenheimer J et al. 1994, Litwin A et al. 1997) und bronchiale (Crimi E et al. 1991) Behandlungsoption fehlen bis jetzt jedoch eindeutige Effektivitätsnachweise, während verschiedene klinische Untersuchungen den positiven Einfluss der nasalen Immuntherapie auf die Schwere der allergischen Symptomatik bestätigen konnten (Nickelsen JA et al. 1981, Andri L et al. 1993, Bertoni M et al. 1999). Da allerdings noch keine Langzeiteffekte beobachtet wurden, wird die nasale IT lediglich zur Prophylaxe von polleninduzierter Rhinitis empfohlen (Passalacqua G et al. 1997).

Eine im Vergleich zu den anderen lokalen Immuntherapien weitaus geeignetere Behandlungsform für allergische Erkrankungen scheint die sublinguale Immuntherapie zu sein. In der Vergangenheit wurde die klinische Wirksamkeit der SLIT anhand von verschiedenen Untersuchungen nachgewiesen. Es zeigte sich besonders eine Verbesserung von rhinitischen (Clavel R et al. 1998, La Rosa M et al. 1999, Tonnel AB et al. 2004) und konjunktivischen Beschwerden (Mortemousque B et al. 2003). Ebenso konnte ein positiver Einfluss auf die Symptomatik des allergische Asthmas (Bousquet J et al. 1999, Pajno GB et al. 2000) und der bronchialen Hyperreaktivität (Pajno GB et al. 2004, Marogna M et al. 2004) unter SLIT festgestellt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde die klinische Ausprägung von allergischer Rhinokonjunktivitis, Asthma und bronchialer Hyperreaktivität bei Milbenallergikern vor und unter einer sublingualen Immuntherapie erfasst. Die dabei erhobenen Daten bestätigen die in der Literatur beschriebene Effektivität der sublingualen Immuntherapie. Der Vergleich der klinischen Ausgangslage bei Patienten unter SLIT mit der Manifestation der allergischen Beschwerden nach der Behandlung (verbundene Stichprobe) zeigte hierbei für die Ausprägung aller drei Symptomkomplexe eine Besserung, d.h. unter der sublingualen

Immuntherapie gingen die atopischen Beschwerden zurück. Ein ähnliches Resultat konnte in der unverbundenen Stichprobe gezeigt werden, wobei die untersuchten Patienten vor der SLIT eine wesentlich schwerere Manifestation der allergischen Symptomatik aufwiesen als Atopiker unter einer Desensibilisierungstherapie.

In der Basisbehandlung von Typ-1-Allergien werden derzeit außerdem verschiedene Pharmaka, wie beispielsweise Antihistaminika oder lokale Corticosteroide, zur symptomatischen Therapie eingesetzt. Eine Studie von Rolinck-Werninghaus et al beschäftigte sich u.a. damit, inwieweit allergische Patienten unter einer sublingualen Immuntherapie diese medikamentöse Begleittherapie weiterhin benötigen. Zu diesem Zweck wurde die Häufigkeit der Anwendung von verschiedenen antiallergischen Pharmaka vor und unter SLIT in einem Medikamentenscore erfasst. Es zeigte sich, dass es bei Atopikern nach einer sublingualen Immuntherapie zu einer signifikanten Reduktionen der Verwendung von Begleitpharmaka kam, was mit einer Verminderung der allergischen Symptomatik einherging. (Rolinck-Werninghaus C et al. 2004)

Ähnliches konnte in der eigenen Arbeit beobachtet werden. Patienten unter einer SLIT benötigten weniger häufig eine medikamentöse Begleittherapie als vor der Behandlung. Auch dies spricht für einen Therapieerfolg der sublingualen Immuntherapie.

Im Gegensatz zu all diesen Untersuchungen haben einige Studien gezeigt, dass eine sublinguale Immuntherapie lediglich geringe klinische Therapieerfolge aufweist (Guez S et al. 2000, Lima MT et al. 2002). So beobachteten Bufe et al, dass es bei Kindern mit Gräserallergie nach einer einjährigen SLIT zu keinen wesentlichen Veränderungen der klinischen Beschwerden kam. Erst nach einer dreijährigen Behandlung konnte bei Patienten mit schwerer allergischer Symptomatik eine signifikante Verbesserung der Rhinokonjunktivitis und des Asthmas festgestellt werden. Als Erklärung für diesen Therapieerfolg wurde ein möglicher Placebo-Effekt während der SLIT herangezogen. (Bufe A et al. 2004)

Jedoch wurden bis heute verschiedene Analysen veröffentlicht, die auch nach einer langjährigen Anwendung der sublingualen Immuntherapie eine klinische Effektivität nachweisen konnten (Pajno GB et al. 2000, Di Rienzo V et al. 2003). Es ist somit fragwürdig, ob der bei Bufe et al angesprochene Placebo-Effekt überhaupt als Einflussfaktor unter einer SLIT eine Rolle spielt und inwieweit er bei pädiatrischen Patienten möglich ist.

In Hinblick auf die Sicherheit und das Nebenwirkungsprofil der sublingualen Immuntherapie erfolgten in der Vergangenheit verschiedene Untersuchungen. Eine Studie von Lombardi et al

zeigte, dass von 198 untersuchten Allergikern, die eine 3jährige SLIT erhielten, lediglich 17 Patienten (7,5 %) milde Nebenwirkungen wie leichte Rhinitis, oralen Juckreiz, Urtikaria, gastrointestinale Beschwerden oder Konjunktivitis entwickelten, wobei diese in den meisten Fällen selbstlimitierend und nicht behandlungsbedürftig waren. Schwere systemische Reaktionen konnten nicht beobachtet werden. (Lombardi C et al. 2001) Andere Studien bestätigen die hohe Sicherheit der SLIT ebenfalls (Di Rienzo V et al. 2005).

Die hier dargestellte Anwendungsbeobachtung erbrachte ein ähnliches Resultat. Keiner der untersuchten Allergiker unter einer sublingualen Immuntherapie entwickelte lokale oder systemische Nebenwirkungen.

Bei der Anwendung der sublingualen Immuntherapie bestehen jedoch noch Unsicherheiten hinsichtlich der genauen Dosierung und Therapiedauer. Klassische Dosisfindungsstudien existieren derzeit noch nicht, allerdings tritt das Hochdosiskonzept der SLIT immer mehr in den Vordergrund. (Bergmann KC 2005) Dies bestätigt eine Studie von Marcucci et al, bei der bei Allergikern, die mit einer höheren SLIT-Dosis behandelt wurden, eine stärkere Reduktion des Symptom- und Medikationsscores auftrat als bei Patienten mit einer niedrigen SLIT-Dosis. (Marcucci F et al. 2005) Ein Problem in der praktischen Anwendung ergibt sich jedoch daraus, dass die Dosisangaben der verschiedenen Hersteller meist nicht vergleichbar sind.

Dementsprechend empfiehlt die ARIA-Arbeitsgruppe als Bezugsgröße die Relation zwischen sublingualer und subkutaner kumulativer Dosis, wobei wahrscheinlich als minimale sublinguale Dosis das mindestens 50 bis 100fache der applizierten Subkutandosis für eine optimale klinische Effektivität notwendig ist. (Zwacka G und Markert UR 2003, Bergmann KC 2005)

Unter diesen Gesichtspunkten stellt die sublinguale Immuntherapie eine vielversprechende Alternative im Vergleich zu anderen Formen der Immuntherapie dar. Klinische Studien haben gezeigt, dass die SLIT im Gegensatz zur renommierten subkutanen Applikationsform ebenso wirksam ist und dass gleichzeitig die Tendenz zur Entwicklung von schweren systemischen Nebenwirkungen unter SLIT um ein Vielfaches geringer ist als bei der SCIT. (Khinchi MS et al. 2004) Dennoch sind weiterführende klinische und immunologische Untersuchungen unabdingbar, um den immunmodulatorischen Wirkmechanismus der sublingualen Immuntherapie weiter zu analysieren und die Frage der klinische Effektivität sowie der optimalen Dosisfindung und Behandlungsdauer genauer aufzuklären.

## 7 SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die sublinguale Immuntherapie stellt als eine Variante der Desensibilisierung eine Möglichkeit zur kausalen Behandlung von Typ-1-Allergien, so auch der Hausstaub- und Milbenallergie, dar. In der Vergangenheit konnten verschiedene doppelblinde placebo-kontrollierte Studien zeigen, dass die SLIT auch in der Langzeitanwendung eine klinische Wirksamkeit aufweist und dass sie im Gegensatz zur häufig angewendeten subkutanen Applikationsweise meist nur lokale Nebenwirkungen verursacht. Im Rahmen der dargestellten Analyse konnte dies bestätigt werden. Die SLIT führte dabei zu einer Verbesserung der allergischen Symptomatik, ebenso wurde die Behandlung gut toleriert und verursachte bei den untersuchten Milbenallergikern keine wesentlichen Nebenwirkungen. Die unkomplizierte Applikation der Allergenextrakte im Rahmen der sublingualen Immuntherapie fördert außerdem die Compliance und eignet sich somit vor allem für die Anwendung bei Kindern. Dennoch sind die Erfahrung hinsichtlich der Wirksamkeit und Sicherheit der SLIT bei pädiatrischen Patienten nach heutigem Wissenstand noch lückenhaft, so dass weitere klinische Studien zur weltweiten Etablierung notwendig sind.

Da der Therapieerfolg der SLIT in den bis jetzt durchgeführten Untersuchungen jedoch meist nur anhand der klinischen Symptomatik überprüft wurde, ist noch wenig über den molekularen Wirkmechanismus bekannt. Allerdings gilt es als wahrscheinlich, dass der unspezifische allergische Entzündungsprozess durch die veränderte Expression von inflammatorischen Botenstoffen und Oberflächenmolekülen im Rahmen der spezifischen Immuntherapie modifiziert wird und somit eine Verbesserung der atopischen Beschwerden eintritt. Ähnliches konnte in der vorliegenden Arbeit beobachtet werden, wobei Milbenallergiker vor einer SLIT höhere Konzentrationen der untersuchten Oberflächen- und Adhäsionsmoleküle aufwiesen als Atopiker nach der Desensibilisierungstherapie und gesunde Probanden.

Nach derzeitigem Forschungsstand ist außerdem noch nicht vollständig gesichert, ob die in dieser Arbeit untersuchten Parameter zur diagnostischen Kontrolle einer Allergie geeignet sind. Das tendenzielle Ergebnis dieser Untersuchung zeigt jedoch, dass mit Hilfe von einigen Entzündungsmarkern, wie am ehesten CD69, sELAM-1 und sICAM-1, aber auch CD54 und sIL-2R, der Verlauf einer allergischen Erkrankung und der Effekt einer sublingualen Immuntherapie mit hoher Wahrscheinlichkeit dokumentiert werden kann. Außerdem ist es

möglich, dass die untersuchten Oberflächenmoleküle und Plasmaproteine nur einen limitierten Vorhersagewert für den einzelnen Patienten haben, jedoch zur Gruppenanalyse geeignet sind.

Der direkte kausale Zusammenhang zwischen der Konzentrationsänderung dieser inflammatorischen Parameter und der klinischen Symptomatik vor und unter SLIT bedarf allerdings einer genaueren Betrachtung anhand von größeren Patientenkollektiven, verbundenen Stichproben und längeren Zeiträumen. Ferner ist es notwendig, andere Faktoren, die möglicherweise einen Einfluss auf die Expression der Entzündungsmoleküle haben könnten, ausfindig zu machen und zu analysieren.

**LITERATUR- UND QUELLENVERZEICHNIS**

- Aalberse RC. 2000. Structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol*, 106(2):228-238.
- Abramson MJ, Puy RM, Weiner JM. 2000. Allergen immunotherapy for asthma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2.
- Akdis CA, Blaser K. 2000. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Allergy*, 55:522-530.
- Akdis M, Schmidt-Weber C, Jutel M, Akdis CA, Blaser K. 2004. Mechanisms of allergen immunotherapy. *Clin Exp All Rev*, 4:56-60.
- Alesina R, De Amici M, Quaglini S, Puggioni F, Moratti R. 2001. CD23 during SIT. *Allergy*, 56:917-918.
- André C, Vatrinet C, Galvain S, Carat F, Sicard H. 2000. Safety of sublingual-swallow immunotherapy in children and adults. *Int Arch Allergy Immunol*, 121:229-234.
- Andri L, Senna G, Betteli C, Givanni S, Andri G, Falagiani P. 1993. Local nasal immunotherapy for Dermatophagoides-induced rhinitis: efficacy of a powder extract. *J Allergy Clin Immunol*, 91(5):987-996.
- Arlian LG, Platts-Mills TAE. 2001. The biology of dust mites and the remediation of mite allergen in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*, 107(3):406-413.
- Bachert C. 2002. Die Bedeutung von Histamin als Entzündungsmediator bei allergischen Erkrankungen. *Allergologie*, 2:74-80.
- Bachert C, Wiesmüller A. 2002. *Allergie und Umwelt*. 1. Auflage Bremen: UNI-MED SCIENCE.
- Bahceciler NN, Arikan C, Taylor A, Akdis M, Blaser K, Barlan IB, Akdis CA. 2005. Impact of sublingual immunotherapy on specific antibody levels in asthmatic children allergic to house dust mites. *Int Arch Allergy Immunol*, 136(3):287-294.
- Bär C. 2001. Vergleich der Interleukin- und CD154-Produktion in T-Zell-Kulturen aus dem Blut gesunder und allergischer Kinder vor und unter spezifischer sublingualer Immuntherapie. [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
- Bauer CP. 1998. Hausstaubmilbenallergie. Aspekte zur Sensibilisierung und Allergenreduktion. *Pädiatrische Allergologie in Klinik und Praxis*, 1:6-13.
- Bellinghausen I, Metz G, Enk AH, Christmann S, Knop J, Saloga J. 1997. Insect venom immunotherapy induces interleukin-10 production and a Th2- to-Th1 shift, and changes surface marker expression in venom-allergic subjects. *Eur J Immunol*, 27(5):1131-1139.
- Bergmann KC. 2005. Sublinguale Immuntherapie - Studien bestätigen Sicherheit und Wirksamkeit. *Päd*, 11:51-55.
- Bergmann KC, Müsken H. 1992. Durchführung und Bewertung des Pricktests. *Allergo J*, 1:56-60.
- Bergmann KC, Müsken H. 1994. Durchführung und Bewertung des nasalen Provokationstest. *Allergo J*, 3:103-106.
- Bertoni M, Cosmi F, Bianchi I, Di Berardino L. 1999. Clinical efficacy and tolerability of a steady dosage schedule of local nasal immunotherapy. Results of preseasonal treatment in grass pollen rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 82(1):47-51.
- Blainey AD, Topping MD, Ollier S, Davies RJ. 1989. Allergic respiratory disease in grain workers: The role of storage mites. *J Allergy Clin Immunol*, 84:296-303.

- Böttcher MF, Häggström P, Björkstén B, Jenmalm MC. 2002. Total and allergen-specific immunoglobulin A levels in saliva in relation to the development of allergy in infants up to 2 years of age. *Clin Exp Allergy*, 32(9):1293-1298.
- Bousquet J, Maasch HJ, Martinot B, Hejjaoui A, Wahl R, Michel FB. 1988. Double blind, placebo-controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids. II. Comparison between parameters assessing the efficacy of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*, 82(3 Pt 1):439-446.
- Bousquet J, Lockey RF, Malling HJ. 1998. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. WHO position paper. *Allergy*, 44:1-42.
- Bousquet J, Scheinmann P, Guinépain MT, Perrin-Fayolle M, Sauvaget J, Tonnel AB, Pauli G, Caillaud D, Dubost R, Leynadier F, Vervloet D, Herman D, Galvain S, André C. 1999. Sublingual-swallow immunotherapy (SLIT) in patients with asthma due to house-dust mites: a double-blind, placebo-controlled study. *Allergy*, 54:249-260.
- Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltayev N. 2001. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 108:147-334.
- Boznanski A, Willak-Janc E, Domanasiewicz M, Pirogowicz I, Widerska A. 1996. Evaluation of soluble components of receptors with weak affinity for IgE (sCD23) in children with pollinosis given specific immunotherapy. *Pneumonol Alergol Pol*, 64(7-8):386-391.
- Brown H, Merrett TG. 1991. Effectiveness of an acaricide in management of house mite allergy. *Ann Allergy*, 67(1):25-31.
- Bufe A, Ziegler-Kirbach E, Stoeckmann E, Heidemann P, Gehlhar K, Holland-Letz T, Braun W. 2004. Efficacy of sublingual swallow immunotherapy in children with severe grass pollen allergic symptoms: a double-blind placebo-controlled study. *Allergy*, 59:498-504.
- Bühl A, Zöfel P. 2005. SPSS 12. Einführung in die moderne Datenanalyse unter Windows. 19. Auflage. München: Pearson Studium.
- Canonica GW, Passalacqua G. 2003. Noninjection routes for immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*, 111(3):437-448.
- Carlson JA, Rogers BB, Sifers RN, Hawkins HK, Finegold MJ, Woo SLC. 1988. Multiple tissues express alpha-1-antitrypsin in transgenic mice and man. *J Clin Invest*, 82:26-36.
- Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C, Azuma M, Okumura K, Lanier LL, Banchereau J. 1994. B70/B7-2 is identical to CD86 and is the major functional ligand for CD28 expressed on human dendritic cells. *J Exp Med*, 180:1841-1847.
- Chapman MD, Smith AM, Vailes LD, Arruda LK. 1997. Recombinant mite allergens. New technologies for the management of patients with asthma. *Allergy*, 52(4):374-379.
- Cirla AM, Sforza N, Roffi GP, Alessandrini A, Stanizzi R, Dorigo N, Sala E, Della Torre F. 1996. Preseasonal intranasal immunotherapy in birch-alder allergic rhinitis. A double-blind study. *Allergy*, 51:299-305.
- Clavel R, Bousquet J, André C. 1998. Clinical efficacy of sublingual-swallow immunotherapy : a double-blind, placebo-controlled trial of standardized five-grass-pollen extract in rhinitis. *Allergy*, 53:493-498.
- Cooper PJ, Darbyshire J, Nunn AJ, Warner JO. 1984. A controlled trial of oral hyposensitization in pollen asthma and rhinitis in children. *Clin Allergy*, 14(6):541-550.
- Crimi E, Voltolini S, Troise C, Gianiorio P, Crimi P, Brusasco V, Negrini AC. 1991. Local immunotherapy with Dermatophagoides extract in asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 87(3):721-728.
- Custovic A, Green R, Smith A, Chapman MD, Woodcock A. 1996. New mattresses - how fast do they become a significant source of exposure to house dust mite allergens? *Clin Exp Allergy*, 26(11):1243-1245.

- Custovic A, Simpson A, Chapman MD, Woodcock A. 1998. Allergen avoidance in the treatment of asthma and atopic disorders. *Thorax*, 53:63–72.
- Cuthbert OD, Jeffrey IG, McNeill HB, Wood J, Topping MD. 1984. Barn allergy among Scottish farmers. *Clin Allergy*, 14(2):197-206.
- Debevc F. 2005. Immunologische Effekte einer sublingualen Immuntherapie bei Milbenallergikern [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
- Di Rienzo V, Marcucci F, Puccinelli P, Parmiani S, Frati F, Sensi L, Canonica GW, Passalacqua G. 2003. Long-lasting effect of sublingual immunotherapy in children with asthma due to house dust mite: a 10-year prospective study. *Clin Exp Allergy*, 33:206-210.
- Di Rienzo V, Minelli M, Musarra A, Sambugaro R, Pecora S, Canonica WG, Passalacqua G. 2005. Post-marketing survey on the safety of sublingual immunotherapy in children below the age of 5 years. *Clin Exp Allergy*, 35:560–564.
- Dogu F, Ikinciogullari A, Egin Y, Babacan E. 2002. Circulating adhesion molecule levels in childhood asthma. *Indian Pediatr*, 39(11):1017-1021.
- Dokic D, Schnitker J, Narkus A, Cromwell O, Frank E. 2005. Spezifische Immuntherapie mit einem neu entwickelten Hausstaubmilbenallergoid (Acaroid®). *Allergo J*, 14:337-343.
- Ewan PW, Alexander MM, Snape C, Ind PW, Agrell B, Dreborg S. 1988. Effective hyposensitization in allergic rhinitis using a potent partially purified extract of house dust mite. *Clin Allergy*, 18(5):501–508.
- Falk ES. 1981. Serum IgE before and after treatment for scabies. *Allergy*, 36(3):167-174.
- Ferreira F, Hawranek T, Gruber P, Wopfner N, Mari A. 2004. Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic. *Allergy*, 59: 243–267.
- Fokkens WJ. 1999. Antigen-presenting cells in nasal allergy. *Allergy*, 54:1130-1141.
- Franz JT. 2004. Karenzmaßnahmen gegen Hausstaubmilben. Teil 1: Akarologische Grundlagen. *Allergo J*, 13:443-51.
- Fu CL, Ye YL, Lee YL, Chiang BL. 2003. Both allergen-specific CD4 and CD8 Type 2 T cells decreased in asthmatic children with immunotherapy. *Pediatr Allergy Immunol*, 14:284–291.
- Fuchs T, Klimek L. 2000. Die allergenspezifische Immuntherapie (Hyposensibilisierung). Teil 2. Orale, sublinguale und nasale Applikation. *HNO*, 48:158-164.
- Gilain L, Guichard C, Beaujon G, Mom T, Monneyron E, Saleh H, Advenier D, Caillaud D. 2000. Nasal soluble levels of ICAM-1 in allergic rhinitis. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac*, 117(2):91-97.
- Giovane AL, Bardare M, Passalacqua G, Ruffoni S, Scordamaglia A, Ghezzi E, Canonica GW. 1994. A three year double blind placebo-controlled study with specific oral immunotherapy to *Dermatophagoides*: evidence of safety and efficacy in pediatric patients. *Clin Exp Allergy*, 24(1):53-59.
- Grehn F. 1998. *Augenheilkunde*. 27. Auflage. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag
- Greve JM, Davis G, Meyer AM, Forte CP, Yost SC, Marlor CW, Kamarck ME, McClelland A. 1989. The major human rhinovirus receptor is ICAM-1. *Cell*, 56(5):839-47.
- Grzelewska-Rzymowska I, Pietrzakowicz M. 2004. Role of intra cellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and its soluble form (sICAM) in chronic airway inflammation. *Pol Merkuriusz Lek*, 16(92):179-182.
- Guez S, Vatrinet C, Fadel R, André C. 2000. House dust mite sublingual swallow immunotherapy (SLIT) in perennial rhinitis: a double-blind, placebo-controlled study. *Allergy*, 55:369-75.
- Gutgesell C, Heise S, Seubert A, Stichtenoth DO, Frölich JC, Neumann C. 2002. Comparison of different activity parameters in atopic dermatitis: correlation with clinical scores. *Br J Dermatol*, 147(5):914–919.

- HAL ALLERGIE GmbH. 1999. Fachinformation SUBLIVAC® B.E.S.T. [Beipackzettel]. Düsseldorf
- Hal Allergy. 2002. Hal Therapeutika [Broschüre]. Düsseldorf
- Halmerbauer G, Frischer T, Koller DY. 1997. Monitoring of disease activity by measurement of inflammatory markers in atopic dermatitis in childhood. *Allergy*, 52(7):765-769.
- Hamzaoui A, Ammar J, El Mekki F, Borgi O, Ghrairi H, Ben Brahim M, Hamzaoui K. 2001. Elevation of serum soluble E-selectin and VCAM-1 in severe asthma. *Mediators Inflamm*, 10(6):339-342.
- Haugaard L, Dahl R. 1992. Immunotherapy in patients allergic to cat and dog dander. I. Clinical results. *Allergy*, 47(3):249-254.
- Haugaard L, Dahl R, Jacobsen L. 1993. A controlled dose-response study of immunotherapy with standardized, partially purified extract of house dust mite: clinical efficacy and side effects. *J Allergy Clin Immunol*, 91(3):709-722.
- Hayden ML, Rose G, Diduch KB, Domson P, Chapman MD, Heymann PW, Platts-Mills TA. 1992. Benzyl benzoate moist powder - investigation of acaricidal [correction of acarical] activity in cultures and reduction of dust mite allergens in carpets. *J Allergy Clin Immunol*, 89(2):536-545.
- Hedlin G, Graff-Lonnevig V, Heilborn H, Lilja G, Norrlind K, Pegelow K, Sundin B, Lowenstein H. 1991. Immunotherapy with cat- and dog-dander extracts.V. Effects of 3 years treatment. *J Allergy Clin Immunol*, 87(5):955-964.
- Hepner MJ, Ownby DR, Anderson JA, Rowe MS, Sears-Ewald D, Brown EB. 1990. Risk of systemic reactions in patients taking beta-blocker drugs receiving allergen immunotherapy injections. *J Allergy Clin Immunol*, 86(3 PT 1):407-411.
- Hermes B, Worm M, Nowak F, Kroczeck RA, Stein H, Henz BM. 1997. Upregulation of CD40 and CD40 ligand expression in IgE-associated cutaneous diseases. *Acta Derm Venereol*, 77(6):441-445.
- Hewitt CRA, Brown AP, Hart BJ, Pritchard DI. 1995. A major house dust mite allergen disrupts the Immunglobulin E network by selectivity cleaving CD23: innate protection by antiproteases. *J Exp Med*, 182:1537-44.
- Hirai S, Kageshita T, Kimura T, Tsujisaki M, Okajima K, Imai K, Ono T. 1996. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and soluble E-selectin levels in patients with atopic dermatitis. *Br J Dermatol*, 134(4):657-661.
- Hirsch T, Sahn M, Leupold W. 1997. Double-blind placebo-controlled study of sublingual immunotherapy with house dust mite extract in children. *Pediatr Allergy Immunol*, 8(1):21-27.
- Høst A, Andrae S, Charkin S, Diaz-Vázquez C, Dreborg S, Eigenmann PA, Friedrichs F, Grinsted P, Lack G, Meylan G, Miglioranza P, Muraro A, Nieto A, Niggemann B, Pascual C, Pouech MG, Ranc F, Rietschel E, Wickman M. 2003. Allergy testing in children: why, who, when and how? *Allergy*, 58:559-569.
- Huang JL, Ou LS, Tsao CH, Chen LC, Kuo ML. 2002. Reduced expression of CD69 and adhesion molecules of T lymphocytes in asthmatic children receiving immunotherapy. *Pediatr Allergy Immunol*, 13(6):426-433.
- Huss RW, Huss K, Squire EN Jr, Carpenter GB, Smith LJ, Salata K, Hershey J. 1994. Mite allergen control with acaricide fails. *J Allergy Clin Immunol*, 94(1):27-32.
- Ippoliti F, De Santis W, Volterrani A, Lenti L, Canitano N, Lucarelli S, Frediani T. 2003. Immunomodulation during sublingual therapy in allergic children. *Pediatr Allergy Immunol*, 14(3):216-221.
- Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M. 2002. *Immunologie*. 5. Auflage. Heidelberg-Berlin: Spektrum Akademischer Verlag
- Janson C, Ludviksdottir D, Gunnbjornsdottir M, Bjornsson EH, Hakansson L, Venge P, BHR-study group. 2005. Circulating adhesion molecules in allergic and non-allergic asthma. *Respir Med*, 99(1):45-51.

- Johansson SGO, O'B Hourihane J, Bousquet J, Bruijnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, Kowalski ML, Mygind N, Ring J, van Cauwenberge P, van Hage-Hamsten M, Wüthrich B. 2001. A revised nomenclature for Allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*, 56:813-824.
- Johnston SL, Pattemore PK, Sanderson G, Smith S, Lampe F, Josephs L, Symington P, O'Toole S, Myint SH, Tyrrell DAJ, Holgate ST. 1995. Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. *BMJ*, 310:1225-1229.
- Julius P, Luttmann W, Knoechel B, Kroegel C, Matthys H, Virchow JC. 1999. CD69 surface expression on human lung eosinophils after segmental allergen provocation. *Eur Respir J*, 13:1253-1259.
- Jung EG, Moll I. 2003. *Duale Reihe. Dermatologie*. 5. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag
- Kägi MK, Wüthrich B. 2002. Different methods of local allergen-specific immunotherapy. *Allergy*, 57:379-388.
- Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM. Hrsg. 2001. *Medizinische Mikrobiologie*. 10. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Keen C, Johansson S, Reinholdt J, Benson M, Wennergren G. 2005. Bet v 1-specific IgA increases during the pollen season but not after a single allergen challenge in children with birch pollen-induced intermittent allergic rhinitis. *Pediatr Allergy Immunol*, 16(3):209-216.
- Kelso JM, Jones RT, Tellez R, Yunginger JW. 1995. Oral allergy syndrome successfully treated with pollen immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 74(5):391-396.
- Khinchi MS, Poulsen LK, Carat F, André C, Hansen AB, Malling HJ. 2004. Clinical efficacy of sublingual and subcutaneous birch pollen allergen-specific immunotherapy: a randomized, placebo-controlled, double-blind, double-dummy study. *Allergy*, 59:45-53.
- Kirchner H, Kruse A, Neustock P, Rink L. 1994. *Cytokine und Interferone: Botenstoffe des Immunsystems*. 1. korrigierter Nachdruck. Heidelberg-Berlin-Oxford: Spektrum Akademischer Verlag.
- Klein-Tebbe J, Fuchs T, Klimek L, Kühr J, Lepp U, Niggemann B, Rakoski J, Renz H, Saloga J, Simon J. 2001. Die spezifische Immuntherapie (Hyposensibilisierung) mit Allergenen. Positionspapier der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie inhaltlich abgestimmt mit dem Ärzteverband Deutscher Allergologen. *Pneumologie*, 55:438-444.
- Klein-Tebbe J, Fuchs T, Klimek L, Kühr J, Kunkel G, Lepp U, Niggemann B, Rakoski J, Renz H, Saloga J, Simon J. 2003. Spezifische Immuntherapie bei IgE-vermittelten allergischen Atemwegserkrankungen. *Deutsches Ärzteblatt*, 100:334-339.
- Klimek L. 2000. Die allergenspezifische Immuntherapie (Hyposensibilisierung). Teil 1. Grundlagen und subkutane Applikation. *HNO*, 48:59-67.
- La Rosa M, Ranno C, André C, Carat F, Tosca MA, Canonica GW. 1999. Double-blind placebo-controlled evaluation of sublingual-swallow immunotherapy with standardized Parieta judaica extract in children with allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol*, 104:425-432.
- Lau S, Wahn J, Schulz G, Sommerfeld C, Wahn U. 2002. Placebo-controlled study of the mite allergen-reducing effect of tannic acid plus benzyl benzoate on carpets in homes of children with house dust mite sensitization and asthma. *Pediatr Allergy Immunol*, 13(1):31-36.
- Letellier M, Nakajima T, Pulido-Cejudo G, Hofstetter H, Delespesse G. 1990. Mechanism of formation of human IgE-binding factors (soluble CD23). III. Evidence for a receptor (FcεRII)-associated proteolytic activity. *J Exp Med*, 172(3):693-700.
- Liccardi G, Custovic A, Cazzola M, Russo M, D'Amato M, D'Amato G. 2001. Avoidance of allergens and air pollutants in respiratory allergy. *Allergy*, 56:705-722.

- Lima MT, Wilson D, Pitkin L, Roberts A, Nouri-Aria K, Jacobson M, Walker S, Durham S. 2002. Grass pollen sublingual immunotherapy for seasonal rhinoconjunctivitis: a randomized controlled trial. *Clin Exp Allergy*, 32:507-514.
- Lin SJ, Chang LY, Yan DC, Huang YJ, Lin TJ, Lin TY. 2003. Decreased intercellular adhesion molecule-1 (CD54) and L-selectin (CD62L) expression on peripheral blood natural killer cells in asthmatic children with acute exacerbation. *Allergy*, 58:67–71.
- Litwin A, Flanagan M, Entis G, Gottschlich G, Esch R, Gartside P, Michael JG. 1997. Oral immunotherapy with short ragweed in a novel encapsulated preparation: a double-blind study. *J Allergy Clin Immunol*, 100(1):30-38.
- Lombardi C, Gargioni S, Melchiorre A, Tiri A, Falagiani P, Canonica GW, Passalacqua G. 2001. Safety of sublingual immunotherapy with monomeric allergoid in adults: multicenter post-marketing surveillance study. *Allergy*, 56:989–992.
- Lommatzsch M, Virchow JC. 2002. Die allergische Entzündung der oberen und unteren Atemwege. *Allergologie*, 2:96-107.
- Lúðvíksson BR, Arason GJ, Thorarensen O, Árdal B, Valdimarsson H. 2005. Allergic diseases and asthma in relation to serum immunoglobulins and salivary immunoglobulin A in pre-school children: a follow-up community-based study. *Clin Exp Allergy*, 35(1):64-69.
- Luttmann W, Bratke K, Küpper M, Myrtek D. 2004. *Der Experimentator: Immunologie*. 1. Auflage. München: Elsevier GmbH, Spektrum Akademischer Verlag.
- Marcucci F, Sensi L, Frati F, Bernardini R, Novembre E, Barbato A, Pecora S. 2003. Effects on inflammation parameters of a double-blind, placebo controlled one-year course of SLIT in children monosensitized to mites. *Allergy*, 58:657–662.
- Marcucci F, Sensi L, Di Cara G, Incorvaia C, Frati F. 2005. Dose dependence of immunological response to sublingual immunotherapy. *Allergy*, 60:952–956.
- Markert UR, Bär C, Niess JH, Vogelsang H, Zwacka G. 1999. Elevated CD154 (CD40 ligand) synthesis in T-cells from allergic patients after nonspecific stimulation in vitro. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 9(4):248-52.
- Markert UR. 2003. Local immunotherapy in allergy: prospects for the future. *Chem Immunol Allergy*, 82:127-135.
- Marks GB, Tovey ER, Green W, Shearer M, Salome CM, Woolcock AJ. 1994. House dust mite allergen avoidance – a randomized controlled trial of surface chemical treatment and encasement of bedding. *Clin Exp Allergy*, 24(11):1078-1083.
- Marogna M, Spadolini I, Massolo A, Canonica GW, Passalacqua G. 2004. Randomized controlled open study of sublingual immunotherapy for respiratory allergy in real-life: clinical efficacy and more. *Allergy*, 59:1205–1210.
- McDonald LG, Tovey E. 1992. The role of water temperature and laundry procedures in reducing house dust mite populations and allergen content of bedding. *J Allergy Clin Immunol*, 90(4 Pt 1):599-608.
- McWilliam AS, Nelson DJ, Holt PG. 1995. The biology of airway dendritic cells. *Immunol. Cell Biol*, 73(5):405-413.
- Mock BA, Peiker G, Markert UR, Jager L. 2000. Specific immunotherapy (hyposensitization) with insect venom in pregnancy. *Z Geburtshilfe Neonatol*, 204(3):117-119.
- Moller C, Dreborg S, Lanner A, Bjorksten B. 1986. Oral immunotherapy of children with rhinoconjunctivitis due to birch pollen allergy. A double-blind Study. *Allergy*, 41(4):271-279.
- Mortemousque B, Bertel F, De Casamayor J, Verin P, Colin J. 2003. House-dust mit sublingual-swallow immunotherapy in perennial conjunctivitis: a double-blind, placebo-controlled study. *Clin Exp Allergy*, 33:464-469.

- Moustafa EH, el-Kadi MA, al-Zeftawy AH, Singer HM, Khalil KA. 1998. The relation between scabies and hypersensitivity to antigens of house dust mites and storage mites. *J Egypt Soc Parasitol*, 28(3):777-787.
- Munir AK, Einarsson R, Dreborg SK. 1993. Vacuum cleaning decreases the levels of mite allergens in house dust. *Pediatr Allergy Immunol*, 4(3):136-143.
- Müsken H. 2004. Vorratsmilben: aktuelles Wissen und Karenzmöglichkeiten. *Allergo J*, 13:452-459.
- Nakstad B, Kähler H, Lyberg T. 1999. Allergen-stimulated expression of CD154 (CD40-Ligand) on CD3+ lymphocytes in atopic, but not in nonatopic individuals. Modulation by bacterial lipopolysaccharide. *Allergy*, 54:722-729.
- Nickelsen JA, Goldstein S, Mueller U, Wypych J, Reisman RE, Arbesman CE. 1981. Local intranasal immunotherapy for ragweed allergic rhinitis. 1. Clinical response. *J Allergy Clin Immunol*, 68(1):33-40.
- Nishioka K, Yasueda H, Saito H. 1998. Preventive effect of bedding encasement with microfine fibers on mite sensitization. *J Allergy Clin Immunol*, 101(1 Pt 1):28-32.
- Noon L. 1911. Prophylactic inoculation of hay fever. *Lancet*, 1:1572-1573.
- Nopp A, Lundahl J, Halldén G. 2000. Quantitative, rather than qualitative, differences in CD69 upregulation in human blood eosinophils upon activation with selected stimuli. *Allergy*, 55:148-156.
- Ohashi Y, Nakai Y, Sakamoto H, Ohno Y, Sugiura Y, Okamoto H, Tanaka A, Kakinoki Y, Kishimoto K, Hayashi M. 1996. Serum levels of soluble interleukin-2 receptor in patients with perennial allergic rhinitis before and after immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 77(3):203-208.
- Ohashi Y, Nakai Y, Kakinoki Y, Ohno Y, Tanaka A, Masamoto T, Sakamoto H, Washio Y, Kato A. 1997a. Immunotherapy affects the seasonal increase in specific IgE and Interleukin-4 in Serum of patients with seasonal allergic rhinitis. *Scand J Immunol*, 46:67-77.
- Ohashi Y, Tanaka A, Kakinoki Y, Ohno Y, Sakamoto H, Kato A, Masamoto T, Wahio Y, Nakai Y. 1997b. Serum level of soluble interleukin-2 receptor in patients with seasonal allergic rhinitis. *Scand J Immunol*, 45(3):315-321.
- Ohashi Y, Nakai Y, Tanaka A, Kakinoki Y, Ohno Y, Masamoto T, Sakamoto H, Kato A, Washio Y, Hayashi M. 1998a. Immunotherapy decreases seasonal rise in serum-soluble CD23 in seasonal allergic rhinitis. *Laryngoscope*, 108(5):706-711.
- Ohashi Y, Nakai Y, Tanaka A, Kakinoki Y, Washio Y, Kato A, Masamoto T, Sakamoto H, Yamada K. 1998b. Ten-year follow-up study of allergen-specific Immunglogulin E and Immunglobulin G4, soluble Interleukin-2 Receptor, Interleukin 4, soluble Intercellular Adhesion Molecule-1 and soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1 in Serum of Patients on Immunotherapy for perennial allergic rhinitis. *Scand J Immunol*, 47:167-178.
- Oppenheimer J, Areson JG, Nelson HS. 1994. Safety and efficacy of oral immunotherapy with standardized cat extract. *J Allergy Clin Immunol*, 93(1 Pt 1):61-67.
- Owen S, Morganstern M, Hepworth J, Woodcock A. 1990. Control of house dust mite antigen in bedding. *Lancet*, 335(8686):396-397.
- Pajno GB, Morabito L, Barberio G. 2000. Clinical and immunologic effects of long-term sublingual immunotherapy in asthmatic children sensitized to mites: a double-blind, placebo-controlled study. *Allergy*, 55:842-849.
- Pajno GB, Passalacqua G, Vita D, Caminiti L, Parmiani S, Barberio G. 2004. Sublingual immunotherapy abrogates seasonal bronchial hyperresponsiveness in children with Parietaria-induced respiratory allergy: a randomized controlled trial. *Allergy*, 59:883-887.
- Park CS, Lee SM, Chung SW, Uh S, Kim HT, Kim YH. 1994. Interleukin-2 and soluble interleukin-2 receptor in bronchoalveolar lavage fluid from patients with bronchial asthma. *Chest*, 106(2):400-406.

- Passalacqua G, Albano M, Pronzato C, Riccio AM, Scordamaglia A, Falagiani P, Canonica GW. 1997. Long-term follow-up of nasal immunotherapy to *Parietaria*: clinical and local immunological effects. *Clin Exp Allergy*, 27(8):904–908.
- Passalacqua G, Albano M, Fregonese L, Riccio A, Pronzato C, Mela GS, Canonica GW. 1998. Randomised controlled trial of local allergoid immunotherapy on allergic inflammation in mite-induced rhinoconjunctivitis. *Lancet*, 351(9103):629-632.
- Peat JK, Li J. 1999. Reversing the trend - reducing the prevalence of asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 103(1 Pt 1):1-10.
- Pierkes M, Bellinghausen I, Hultsch T, Metz G, Knop J, Saloga J. 1999. Decreased release of histamine and sulfidoleukotrienes by human peripheral blood leukocytes after wasp venom immunotherapy is partially due to induction of IL-10 and IFN-gamma production of T cells. *J Allergy Clin Immunol*, 103(2 Pt 1):326–332.
- Pignatti P, Perfetti L, Galdi E, Pozzi V, Bossi A, Biale C, Moscato G. 2002. Increased CD69 expression on peripheral blood eosinophils after specific inhalation challenge. *Allergy*, 57:411–416.
- Ponthieux A, Herbeth B, Drosch S, Haddy N, Lambert D, Visvikis S. 2004. Biological determinants of serum ICAM-1, E-selectin, P-selectin and L-selectin levels in healthy subjects: the Stanislas study. *Atherosclerosis*, 172(2):299-308.
- Radon K, Schottky A, Garz S, Koops F, Szadkowski D, Nowak D, Luczynska C. 2000. Distribution of dust-mite allergens (Lep d 2, Der p 1, Der f 1, Der 2) in pig-farming environments and sensitization of the respective farmers. *Allergy*, 55:219-225.
- Rebmann H, Weber AK, Focke I, Rusche A, Lau S, Ehnert B, Wahn U. 1996. Does benzyl benzoate prevent colonization of new mattresses by mites? A prospective study. *Allergy*, 51(12):876-882.
- Reich M, Niess JH, Bär C, Zwacka G, Markert UR. 2003a. Elevated nonspecific plasma proteins in allergic patients *J Invest Allergol Clin Immunol*, 13(1):60-65.
- Reich M, Zwacka G, Markert UR. 2003b. Nonspecific Plasma Proteins during Sublingual Immunotherapy. *Chem Immunol Allergy*, 82:99-108.
- Rembold H, Oetzel H. 2004. Kontrolle der Hausstaubmilbe, *Dermatophagoides farinae*, durch Wirkstoffe aus Samen des Neembaums, *Azadirachta indica* A.Juss. *Allergo J*, 13:269-73.
- Riffo-Vasquez Y, Pitchford S, Spina D. 2000. Murine models of inflammation: role of CD23. *Allergy*, 55: Suppl 61:21-26.
- Rolinck-Werninghaus C, Wolf H, Liebke C, Baars JC, Lange J, Kopp MV, Hammermann J, Leupold W, Bartels P, Gruebl A, Bauer CP, Schnitker J, Wahn U, Niggemann B. 2004. A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled multi-centre study on the efficacy and safety of sublingual immunotherapy (SLIT) in children with seasonal allergic rhinoconjunctivitis to grass pollen. *Allergy*, 59:1285–1293.
- Ross RN, Nelson HS, Finegold I. 2000a. Effectiveness of specific immunotherapy in the treatment of hymenoptera venom hypersensitivity: a meta-analysis. *Clin Ther*, 22(3):351–358.
- Ross RN, Nelson HS, Finegold I. 2000b. Effectiveness of specific immunotherapy in the treatment of allergic rhinitis: an analysis of randomized, prospective, single- or double-blind, placebo-controlled studies. *Clin Ther*, 22(3):342–350.
- Rueff F, Przybilla B, Fuchs T, Gall H, Rakoski J, Stolz W, Vieluf D. 2000. Diagnose und Therapie der Bienen- und Wespengiftallergie. Positionspapier der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie (DGAI). *Allergo J*, 9:458–472.
- Sack U, Burkhardt U, Borte M, Schädlich H, Berg K, Emmrich F. 1998. Age-Dependent Levels of Select Immunological Mediators in Sera of Healthy Children. *Clin Diagn Lab Immunol*, 5(1):28-32.

- Sarfati M, Rector E, Wong K, Rubio T, Sehon AH, Delespesse G. 1984. In vitro synthesis of IgE by human lymphocytes. II. Enhancement of the spontaneous IgE synthesis by IgE-binding factors secreted by RPMI 8866 lymphoblastoid B cells. *Immunology*, 53:197-205.
- Salib RJ, Drake-Lee A, Howarth PH. 2003. Allergic rhinitis: past, present and the future. *Clin Otolaryngol*, 28:291-303.
- Schei MA, Hessen JO, Lund E. 2002. House-dust mites and mattresses. *Allergy*, 57:538–542.
- Schneider S. 2004. Analyse immunologischer und klinischer Parameter von Allergikern unter sublingualer Immuntherapie [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
- Sharma S, Lacky PM, Holgate ST. 2003. Uneasy breather: the implications of dust mite allergens. *Clin Exp Allergy*, 33:163-165.
- Shi HZ, Sun JJ, Pan HL, Lu JQ, Zhang JL, Jiang JD. 1999. Alterations of T-lymphocyte subsets, soluble IL-2 receptor, and IgE in peripheral blood of children with acute asthma attacks. *J Allergy Clin Immunol*, 103(3 Pt 1):388-394.
- Sidenius KE, Hallas TE, Poulsen LK, Mosbech H. 2001. Allergen cross-reactivity between house-dust mites and other invertebrates. *Allergy*, 56:723-733.
- Silvestri M, Spallarossa D, Battistini E, Sabatini F, Pecora S, Parmiani S, Rossi GA. 2002. Changes in inflammatory and clinical parameters and in bronchial hyperreactivity asthmatic children sensitized to house dust mites following sublingual immunotherapy. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 12(1):52-59.
- Srahna M, Remacle JE, Annamalai K, Pype S, Huylebroeck D, Boogaerts MA, Vandenberghe P. 2001. NF- $\kappa$ B is involved in the regulation of CD154 (CD40 ligand) expression in primary human T cells. *Clin Exp Immunol*, 125:229-236.
- Staunton DE, Merluzzi VJ, Rothlein R, Barton R, Marlin SD, Springer TA. 1989. A cell adhesion molecule, ICAM-1, is the major surface receptor for rhinoviruses. *Cell*, 56(5):849-853.
- Tanaka A, Ohashi Y, Nakai Y. 1999. Decrease of serum levels of soluble CD23 during immunotherapy in patients with perennial allergic rhinitis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 108(2):193-200.
- Tari MG, Mancino M, Monti G. 1992. Immunotherapy by inhalation of allergen in powder in house dust allergic asthma - a double blind study. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 2(2):59-67.
- Taudorf E, Laursen LC, Djurup R, Kappelgaard E, Pedersen CT, Soborg M, Wilkinson P, Weeke B. 1985. Oral administration of grass pollen to hay fever patients. An efficacy study in oral hyposensitization. *Allergy*, 40(5):321-335.
- Toma T, Mizuno K, Okamoto H, Kanegane C, Ohta K, Ikawa Y, Miura M, Kuroda M, Niida Y, Koizumi S, Yachie A. 2005. Expansion of activated eosinophils in infants with severe atopic dermatitis. *Pediatr Int*, 47(1):32-38.
- Tomita K, Tanigawa T, Yajima H, Sano H, Fukutani K, Hitsuda Y, Matsumoto Y, Sasaki T. 1997. Expression of adhesion molecules on mononuclear cells from individuals with stable atopic asthma. *Clin Exp Allergy*, 27:664-671.
- Tonnel AB, Scherpereel A, Douay B, Mellin B, Leprince D, Goldstein N, Delecluse P, Andre C. 2004. Allergic rhinitis due to house dust mites: evaluation of the efficacy of specific sublingual immunotherapy. *Allergy*, 59:491–497.
- Tsai LC, Tang RB, Hung MW, Chen HM, Tsai SJ. 1990. Expression of serum IL-2, IL-2R, and CD8 levels during hyposensitization in house-dust-sensitive asthmatics. *J Asthma*, 27(5):307-313.
- Uchio E, Ono S, Ikezawa Z, Ohno S. 1999. Serum levels of soluble intercellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1 and interleukin-2 receptor in patients with vernal keratokconjunctivitis and allergic conjunctivitis. *Allergy*, 54:135-141.

- Uecker M. 1997. Aktuelle Konzepte zur kausalen Therapie der Hausstaubmilbenallergie. *Allergologie*, 20(6):283-290.
- van der Heide S, Niemeijer NR, Hovenga H, de Monchy JG, Dubois AE, Kauffman HF. 1998. Prevalence of sensitization to the storage mites *Acarus siro*, *Tyrophagus putrescentiae*, and *Lepidoglyphus destructor* in allergic patients with different degrees of sensitization to the house-dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Allergy*, 53(4):426-430.
- van Neerven RJJ, Wikborg T, Lund G, Jacobsen B, Brinch-Nielsen A, Arnved J, Ipsen H. 1999. Blocking Antibodies Induced by Specific Allergy Vaccination Prevent the Activation of CD4<sup>+</sup> T Cells by Inhibiting Serum-IgE-Facilitated Allergen Presentation. *J Immunol*, 163:2944–2952.
- van Ree R, Antonicelli L, Akkerdaas JH, Garritani MS, Aalberse RC, Bonifazi F. 1996a. Possible induction of food allergy during mite immunotherapy. *Allergy*, 51(2):108-113.
- van Ree R, Antonicelli L, Akkerdaas JH, Pajno GB, Barberio G, Corbetta L, Ferro G, Zambito M, Garritani MS, Aalberse RC, Bonifazi F. 1996b. Asthma after consumption of snails in house-dust-mite-allergic patients: a case of IgE cross-reactivity. *Allergy*, 51(6):387-393.
- van Steenberghe W. 1993. Alpha-1-Antitrypsin deficiency: An overview. *Acta Clin Belg*, 48(3):171-189.
- Vaughan JW, McLaughlin TE, Perzanowski MS, Platts-Mills TAE. 1999. Evaluation of materials used for bedding encasement: effect of pore size in blocking cat and dust mite allergen. *J Allergy Clin Immunol*, 103(2 Pt 1):227-231.
- Vuitton DA, Ranc e F, Paquin ML, Adessi B, Vigan M, Gomot A, Dutau G. 1998. Cross-reactivity between terrestrial snails (*Helix* species) and house-dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*). In vivo study. *Allergy*, 53(2):144-150.
- Walsh GM, Williamson ML, Symon FA, Willars GB, Wardlaw AJ. 1996. Ligation of CD69 induces apoptosis and cell death in human eosinophils cultured with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, 87(7):2815–2821.
- Wan H, Winton HL, Soeller C, Tovey ER, Gruenert DC, Thompson PJ, Stewart GA, Taylor GW, Garrod DR, Cannell MB, Robinson C. 1999. Der p 1 facilitates transepithelial allergen delivery by disruption of tight junctions. *J Clin Invest*, 104(1):123-133.
- Wan H, Winton HL, Soeller C, Gruenert DC, Thompson PJ, Cannell MB, Stewart GA, Garrod DR, Robinson C. 2000. Quantitative structural and biochemical analysis of tight junction dynamics following exposure of epithelial cells of house dust mite allergen Der p 1. *Clin Exp Allergy*, 30(5):685-698.
- Weemaes C, Klasen I, Göertz J, Beldhuis-Valkis M, Olafsson O, Haraldsson A. 2003. Development of Immunoglobulin A in Infancy and Childhood. *Scand J Immunol*, 58:642–648.
- Wickman M, Paues S, Emenius G. 1997. Reduction of the mite-allergen reservoir within mattresses by vacuumcleaning. A comparison of the vacuum-cleaning systems. *Allergy*, 52(11):1123-1127.
- Wilson DR, Irani AM, Walker SM, Jacobson MR, Mackay IS, Schwartz LB, Durham SR. 2001. Grass pollen immunotherapy inhibits seasonal increases in basophils and eosinophils in the nasal epithelium. *Clin Exp Allergy*, 31(11):1705–1713.
- Wilson DR, Torres Lima M, Durham SR. 2003. Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis. *The Cochrane Library*. Issue 2.
- Witteman AM, van den Oudenrijn S, van Leeuwen J, Akkerdaas J, van der Zee JS, Aalberse RC. 1995. IgE antibodies reactive with silverfish, cockroach and chironomid are frequently found in mite-positive allergic patients. *Int Arch Allergy Immunol*, 108(2):165-169.
- Wolkerstorfer A, Savelkoul HFJ, de Waard van der Spek FB, Neijens HJ, van Meurs T, Oranje AP. 2003. Soluble E-selectin and soluble ICAM-1 levels as markers of the activity of atopic dermatitis in children. *Pediatr Allergy Immunol*, 14(4):302–306.

Yman L. 2001. Standardization of in vitro methods. *Allergy*, 56 Suppl 67:70–74.

Zwacka G, Markert UR. 2003. Therapeutic procedures of sublingual immunotherapy in clinical practice. *Chem Immunol Allergy*, 82:44-52.

# ANHANG

Erhebungsbogen mit Bewertungsschema für die allergische Symptomatik

## Patientendaten

Laufende Nr.	Patientenname	Geburtsdatum	Abnahmedatum

## Immunglobulin E

IgEges	Spezifisches IgE					
		RK		RK		RK

## Diagnose

Erstdiagnose der Allergie im Jahr \_\_\_\_\_

Frühblüher  ①      Gräser/Roggen  ②      Milbe  ③      Kontrolle  ④

## Behandlung

Beginn am \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. (Trennung nach Jahren; immer bis zum vollendeten Jahr)

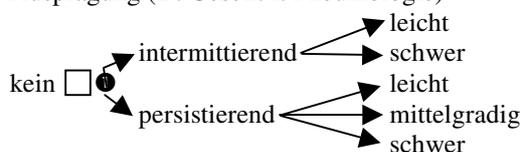
Sublivac SLIT  ① subkutane Therapie  ② klassische Pharmakotherapie  ③

## Rhinokonjunktivitis

keine  ①      leicht  ②      mittel  ③      schwer  ④

## Asthma

Ausprägung (D. Gesell. f. Pneumologie)



FEV 1

Bronchiale Hyperreagibilität

nein  ①  
leicht  ②  
schwer  ③

## Ekzem

Ausprägung

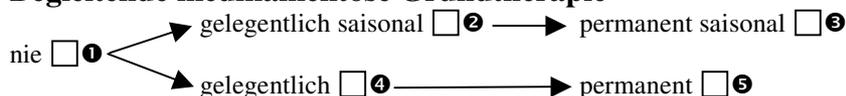
kein  ① (0 Gelenke)  
leicht  ② (1-2 Gelenke)  
mittel  ③ (2-4 Gelenke)  
stark  ④ (5-6 Gelenke)

Häufigkeit

nie  ①  
1-5x jährlich  ②  
6-10x jährlich  ③  
öfter als 10x jährlich  ④

## Befindlichkeitsscore

## Begleitende medikamentöse Grundtherapie



## Nebenwirkungen der Hyposensibilisierung

keine  ①      lokal  ②      Symptome der Grundkrankheit  ③      Schock  ④

## Ausscheiden aus der Studie (Mehrfachauswahl möglich)

Beschwerdefreiheit       keine Compliance       Übergang zu s. c. Applikation   
Arztwechsel       Nebenwirkungen   
Unzufriedenheit       andere Erkrankungen

## Sonstige Anmerkungen (Hier bitte Besonderheiten eintragen)

## Gesamtübersicht 1

Tab. 8: Messwerte aller untersuchten Milbenallergiker und Kontrollen

Patienten- Nummer	Patientengruppe	CD23	IgA	CD54	CD69	CD154	sElam-1	sIL-2R	sICAM-1
		[% von CD20+ B-Lymphozyten]	[% von CD20+ B-Lymphozyten]	[% von CD3+ T-Lymphozyten]	[% von CD3+ T-Lymphozyten]	[% von CD4+ T-Lymphozyten]	[ng/ml]	[ng/ml]	[ng/ml]
1	Milbenallergiker vor Therapie	62,43	27,59	2,42	12,96	1,04	109	19,4	73
2	Milbenallergiker vor Therapie	16,36	8,04	6,52	13,42	14,47	153	21,7	76
3	Milbenallergiker vor Therapie	37,96	24,76	1,78	6,16	6,89	232	17	159
4	Milbenallergiker vor Therapie	50,36	27,62	5,68	9,02	2,48	217	17,8	119
5	Milbenallergiker vor Therapie	82,71	26,95	1,01	-	11,51	151	19,4	196
6	Milbenallergiker vor Therapie	16,58	15,59	2,11	5,48	2,44	221	14,4	184
7	Milbenallergiker vor Therapie	43,48	27,18	2,24	0,81	1,69	41	13	138
8	Milbenallergiker vor Therapie	26,69	13,85	6,59	6,76	2,28	91	16,8	33
9	Milbenallergiker vor Therapie	38,12	3,23	5,49	1,4	1,86	242	18,3	73
10	Milbenallergiker vor Therapie	57,84	23,2	2,03	2,92	1,4	245	17	53
11	Milbenallergiker vor Therapie	16,97	0	0,43	0,72	0	210	21,8	28
12	Milbenallergiker vor Therapie	3,72	12,34	0,91	0,64	1,3	158	20,2	129
13	Milbenallergiker vor Therapie	21,37	8,3	4,76	10,83	3,77	172	12,4	14
14	Milbenallergiker vor Therapie	39,42	28,17	7,78	1,14	9,9	64	14,6	38
15	Milbenallergiker vor Therapie	48,75	-	13,91	13,23	5,19	158	18,9	129
16	Milbenallergiker vor Therapie	47,49	4,11	3,03	3,85	0,93	145	21	169
17	Milbenallergiker vor Therapie	20,75	0	11,99	-	12,66	194	19,8	47
18	Milbenallergiker vor Therapie	4,84	1,3	1,4	2,95	1,07	172	14,6	33
19	Milbenallergiker vor Therapie	49,32	29,21	5,23	7,51	10,14	272	17,8	33
20	Milbenallergiker vor Therapie	29,12	9,15	8,83	6,91	-	103	18,8	38
21	Gesunde Kontrolle	39,97	4,29	1,02	1,56	1,7	110	18,4	14

Patienten- Nummer	Patientengruppe	CD23 [% von CD20+ B-Lymphozyten]	IgA [% von CD20+ B-Lymphozyten]	CD54 [% von CD3+ T-Lymphozyten]	CD69 [% von CD3+ T-Lymphozyten]	CD154 [% von CD4+ T-Lymphozyten]	s-Elam-1 [ng/ml]	s-IL-2R [ng/ml]	s-ICAM-1 [ng/ml]
22	Milbenallergiker vor Therapie	35,46	2,77	0,83	2,17	1,63	137	18,5	47
23	Milbenallergiker vor Therapie	55,31	3,61	0,3	3,8	1,77	288	21,5	33
24	Milbenallergiker vor Therapie	75,46	2,8	0,35	-	3,2	40	15,5	14
25	Milbenallergiker vor Therapie	35,38	4,73	0,34	1,85	0,69	212	16,9	72
26	Milbenallergiker vor Therapie	30,02	2,89	0,09	0,68	0,08	78	18,5	19
27	Gesunde Kontrolle	24,69	0,93	0,42	0,52	0,55	82	14,7	19
28	Gesunde Kontrolle	47,1	2,92	0,57	2,57	0,6	53	13,2	47
29	Gesunde Kontrolle	40,25	1,88	0,1	0,95	0,19	-	14,7	28
30	Milbenallergiker vor Therapie	74,45	0,55	0,2	3,48	0,85	2	16,2	35
31	Milbenallergiker vor Therapie	57,26	1,06	0,62	4,47	0,12	22	15,2	31
32	Gesunde Kontrolle	53,28	1,32	0	0,32	9,7	109	20,5	92
33	Gesunde Kontrolle	56,38	5,32	0,22	2,53	7,57	149	19,9	74
34	Gesunde Kontrolle	37,64	5,65	0,43	0,93	0,48	18	19,6	45
35	Gesunde Kontrolle	73,64	0	0,03	0,33	0,95	-	19,7	75
36	Milbenallergiker vor Therapie	82,16	10,16	0,25	0,83	6,8	286	16,7	92
37	Gesunde Kontrolle	26,74	0,46	0,07	0,39	1,41	112	14,8	35
38	Milbenallergiker unter Therapie	63,73	0	0,28	1,24	0,42	86	19,6	79
39	Gesunde Kontrolle	40,52	3,21	0,11	2,18	3,77	196	16,7	73
40	Milbenallergiker unter Therapie	52,94	12,12	1,23	3,58	1,83	102	16,7	3
41	Milbenallergiker vor Therapie	68,93	6,67	6,68	13,29	9,56	58	15	44
42	Gesunde Kontrolle	66,67	1,79	0,19	0,65	3,62	141	18,4	39
43	Gesunde Kontrolle	67,86	7,97	0,16	0,19	2,06	93	14,1	23
44	Milbenallergiker unter Therapie	63	10,71	0	2,33	2,15	-	13,7	24
45	Milbenallergiker vor Therapie	16,03	6,92	6,38	6,27	0,46	81	11,4	23

Patienten- Nummer	Patientengruppe	CD23 [% von CD20+ B-Lymphozyten]	IgA [% von CD20+ B-Lymphozyten]	CD54 [% von CD3+ T-Lymphozyten]	CD69 [% von CD3+ T-Lymphozyten]	CD154 [% von CD4+ T-Lymphozyten]	s-Elam-1 [ng/ml]	s-IL-2R [ng/ml]	s-ICAM-1 [ng/ml]
46	Milbenallergiker unter Therapie	65,84	12,82	0,72	2,65	3,77	5	15,3	13
47	Gesunde Kontrolle	24,56	1,76	-	-	4,53	6	13,9	23
48	Gesunde Kontrolle	38,17	3,42	-	-	9,52	37	16,7	49
49	Gesunde Kontrolle	10,2	2,17	-	-	2,39	187	18,7	74
50	Milbenallergiker unter Therapie	56,52	3,31	1,27	0,81	0,88	11	16,9	9
51	Gesunde Kontrolle	35,8	2,2	0,94	2,6	0,41	112	-	91
52	Gesunde Kontrolle	43,66	4,32	0,05	0,67	0,09	37	18,2	23
53	Gesunde Kontrolle	68,22	6,54	0,53	1,11	8,3	45	18,3	-
54	Gesunde Kontrolle	69,23	3,13	0,2	1,35	8,77	150	20,8	-
55	Milbenallergiker vor Therapie	96,86	6,09	1,54	8,93	9,15	194	20,1	58
56	Gesunde Kontrolle	34,38	-	0,53	2,04	-	146	15,7	18
57	Milbenallergiker vor Therapie	46,28	5,08	0,18	0,93	0,97	112	18,5	168
58	Milbenallergiker unter Therapie	7,24	0,39	0,14	4,57	1,82	142	19,6	-
59	Milbenallergiker vor Therapie	80,66	9,14	2,77	-	10,05	296	20,8	153
60	Gesunde Kontrolle	43,18	4,63	0,82	1,04	0,56	69	17	24
61	Gesunde Kontrolle	72,73	1,44	0,46	0,86	0,16	164	-	145
62	Milbenallergiker unter Therapie	67,19	-	0,55	1,33	-	59	15,7	33
63	Milbenallergiker unter Therapie	74,29	-	0,23	0,99	-	69	-	19
64	Milbenallergiker unter Therapie	48,74	-	0,81	2,25	-	90	16,3	53
65	Milbenallergiker unter Therapie	38,86	-	0,14	0,51	-	119	16,6	77
66	Milbenallergiker unter Therapie	72,9	-	0	-	-	28	11,9	51
67	Milbenallergiker unter Therapie	5,5	-	0	0,78	-	44	16,3	121
68	Milbenallergiker unter Therapie	33,97	-	0,05	2,45	-	128	14,1	57
69	Milbenallergiker vor Therapie	49,73	-	6,72	3,21	-	164	21,8	77

Patienten- Nummer	Patientengruppe	CD23	IgA	CD54	CD69	CD154	s-Elam-1	s-IL-2R	s-ICAM-1
		[% von CD20+ B-Lymphozyten]	[% von CD20+ B-Lymphozyten]	[% von CD3+ T-Lymphozyten]	[% von CD3+ T-Lymphozyten]	[% von CD4+ T-Lymphozyten]	[ng/ml]	[ng/ml]	[ng/ml]
70	Gesunde Kontrolle	25,49	-	0,05	0,75	-	62	14,1	57
71	Milbenallergiker vor Therapie	47,93	-	3,42	6,52	-	346	19,1	172
72	Milbenallergiker unter Therapie	6,31	-	0	2	-	88	15,5	51
73	Milbenallergiker unter Therapie	25,53	-	0,3	4,26	-	74	11,4	27
74	Milbenallergiker unter Therapie	36,67	-	0	0,78	-	154	14	77
75	Gesunde Kontrolle	22,97	-	0,5	1,38	-	101	16,5	77
76	Milbenallergiker unter Therapie	53,04	-	0,68	0,69	-	60	13,4	96
77	Gesunde Kontrolle	8,05	-	0,22	0,83	-	116	19,3	8
78	Milbenallergiker vor Therapie	44,66	-	2,97	3,45	-	279	17,4	129
79	Milbenallergiker unter Therapie	31,52	-	0,62	1,43	-	80	21	47
80	Gesunde Kontrolle	30,43	-	0,14	1,12	-	126	17,1	103
81	Milbenallergiker unter Therapie	44,03	-	0,03	0,6	-	98	16,3	77
82	Milbenallergiker unter Therapie	31,01	-	1,29	0,84	-	73	18,7	24
83	Milbenallergiker unter Therapie	13,72	-	0,95	3,97	-	169	15	146
84	Milbenallergiker unter Therapie	15,49	-	1,32	4,92	-	46	17,1	82
85	Milbenallergiker unter Therapie	11,65	-	0	0,19	-	144	12,9	81

## Gesamtübersicht 2

Tab. 9: Übersicht über alle relevanten klinischen Parameter vor und unter sublingualer Immuntherapie

Patienten- Nummer	Patientengruppe	Rhinokonjunktivitis		Asthma		Bronchiale Hyperreagibilität	
		vor Therapie	unter Therapie	vor Therapie	unter Therapie	vor Therapie	unter Therapie
1	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	kein	-	keine	-
2	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	intermittierend leicht	-	keine	-
3	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	intermittierend schwer	-	keine	-
4	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	kein	-	keine	-
5	Milbenallergiker vor Therapie	schwer	-	intermittierend schwer	-	keine	-
6	Milbenallergiker vor Therapie	schwer	-	kein	-	leicht	-
7	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	intermittierend leicht	-	keine	-
8	Milbenallergiker vor Therapie	schwer	-	intermittierend leicht	-	keine	-
9	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	kein	-	keine	-
10	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	kein	-	keine	-
11	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	kein	-	schwer	-
12	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	kein	-	keine	-
13	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	intermittierend leicht	-	keine	-
14	Milbenallergiker vor Therapie	schwer	-	kein	-	keine	-
15	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	intermittierend leicht	-	keine	-
16	Milbenallergiker vor Therapie	schwer	-	intermittierend leicht	-	keine	-
17	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	intermittierend leicht	-	keine	-
18	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	intermittierend leicht	-	leicht	-
19	Milbenallergiker vor Therapie	schwer	-	intermittierend leicht	-	keine	-
20	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	intermittierend leicht	-	leicht	-
21	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
22	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	intermittierend leicht	-	leicht	-

Patienten- Nummer	Patientengruppe	Rhinokonjunktivitis		Asthma		Bronchiale Hyperreagibilität	
		vor Therapie	unter Therapie	vor Therapie	unter Therapie	vor Therapie	unter Therapie
23	Milbenallergiker vor Therapie	schwer	-	intermittierend leicht	-	schwer	-
24	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	kein	-	keine	-
25	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	intermittierend leicht	-	leicht	-
26	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	kein	-	keine	-
27	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
28	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
29	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
30	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	kein	-	keine	-
31	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	kein	-	keine	-
32	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
33	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
34	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
35	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
36	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	intermittierend leicht	-	schwer	-
37	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
38	Milbenallergiker unter Therapie	leicht	keine	kein	kein	keine	keine
39	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
40	Milbenallergiker unter Therapie	schwer	mittel	kein	kein	keine	keine
41	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	kein	kein	keine	keine
42	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
43	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
44	Milbenallergiker unter Therapie	mittel	keine	intermittierend leicht	kein	leicht	keine
45	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	kein	-	keine	-
46	Milbenallergiker unter Therapie	mittel	keine	intermittierend schwer	intermittierend leicht	schwer	keine
47	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine

Patienten- Nummer	Patientengruppe	Rhinokonjunktivitis		Asthma		Bronchiale Hyperreagibilität	
		vor Therapie	unter Therapie	vor Therapie	unter Therapie	vor Therapie	unter Therapie
48	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
49	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
50	Milbenallergiker unter Therapie	schwer	keine	kein	kein	keine	keine
51	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
52	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
53	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
54	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
55	Milbenallergiker vor Therapie	schwer	-	kein	-	keine	-
56	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
57	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	kein	-	keine	-
58	Milbenallergiker unter Therapie	mittel	keine	intermittierend schwer	intermittierend leicht	schwer	keine
59	Milbenallergiker vor Therapie	schwer	-	intermittierend schwer	-	schwer	schwer
60	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
61	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
62	Milbenallergiker unter Therapie	schwer	keine	kein	kein	keine	keine
63	Milbenallergiker unter Therapie	mittel	keine	kein	kein	leicht	keine
64	Milbenallergiker unter Therapie	mittel	keine	kein	kein	keine	keine
65	Milbenallergiker unter Therapie	schwer	keine	kein	kein	keine	keine
66	Milbenallergiker unter Therapie	schwer	keine	kein	kein	keine	keine
67	Milbenallergiker unter Therapie	mittel	keine	intermittierend leicht	kein	keine	keine
68	Milbenallergiker unter Therapie	keine	keine	intermittierend schwer	intermittierend leicht	schwer	keine
69	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	intermittierend leicht	-	leicht	-
70	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
71	Milbenallergiker vor Therapie	keine	-	intermittierend schwer	-	schwer	-
72	Milbenallergiker unter Therapie	mittel	keine	kein	kein	keine	keine

Patienten- Nummer	Patientengruppe	Rhinokonjunktivitis		Asthma		Bronchiale Hyperreagibilität	
		vor Therapie	unter Therapie	vor Therapie	unter Therapie	vor Therapie	unter Therapie
73	Milbenallergiker unter Therapie	schwer	leicht	kein	kein	schwer	keine
74	Milbenallergiker unter Therapie	schwer	keine	intermittierend schwer	kein	schwer	keine
75	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
76	Milbenallergiker unter Therapie	schwer	leicht	kein	kein	keine	keine
77	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
78	Milbenallergiker vor Therapie	mittel	-	intermittierend schwer	-	schwer	-
79	Milbenallergiker unter Therapie	schwer	keine	intermittierend leicht	kein	leicht	keine
80	Gesunde Kontrolle	keine	keine	kein	kein	keine	keine
81	Milbenallergiker unter Therapie	schwer	keine	intermittierend leicht	kein	schwer	keine
82	Milbenallergiker unter Therapie	mittel	keine	kein	kein	keine	keine
83	Milbenallergiker unter Therapie	schwer	keine	intermittierend schwer	kein	schwer	leicht
84	Milbenallergiker unter Therapie	schwer	leicht	intermittierend schwer	kein	schwer	keine
85	Milbenallergiker unter Therapie	schwer	keine	intermittierend schwer	kein	schwer	keine

## Lebenslauf

<b>Name</b>	Stephanie Carla Reber	
<b>Geburtsdaten</b>	15. April 1982 in Greiz	
<b>Schulbildung</b>	1988 - 1992	Grundschule Hans Beimler, Greiz
	1992 - 2000	Pestalozzigymnasium Greiz
	2000	Abitur
<b>Studium</b>	10 / 2000	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena
	09 / 2002	Ärztliche Vorprüfung
	09 / 2003	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
	09 / 2005	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
	06 / 2007	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
<b>Berufstätigkeit</b>	seit 07 / 2007	Assistenzärztin für Neurologie HELIOS Klinikum Erfurt

Jena im August 2007

Stephanie Carla Reber

## **Danksagung**

Herrn PD Dr. med. habil. Udo R. Markert danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die wissenschaftliche Betreuung.

Für die umfassende Unterstützung bei der Konzipierung, Durchführung und Auswertung der Untersuchungen gilt mein besonderer Dank Herrn PD Dr. med. habil. U.R. Markert.

Außerdem möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Placentalabors /Abteilung Geburtshilfe und bei allen anderen an dieser Beobachtungsstudie beteiligten Doktoranden bedanken, die in vielfältiger Weise zum Gelingen der Messungen beigetragen haben.

Bei Herrn Prof. Dr. med. habil. G. Zwacka (Kinderklinik Apolda) bedanke ich mich für die klinische Betreuung der Patienten und die Bereitstellung der Blutproben.

Ebenso gilt mein Dank den Firmen HAL-Allergie GmbH und Immunotools für die geleistete Zusammenarbeit und vielseitige Unterstützung.

Außerdem möchte ich mich bei Frau Dipl.-Math. Antje Brandstädt vom Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation für die umfassende und freundliche Beratung in Bezug auf die statistische Auswertung der Ergebnisse bedanken.

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie, insbesondere meiner Mutter Carla Reber, meinen Freunden und meinem Lebensgefährten Thomas Müller für die Unterstützung und aufgebrauchte Geduld während der Erstellung dieser Arbeit.

## **Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr PD Dr. med. habil. Udo R. Markert,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena im Juni 2006

Stephanie Carla Reber