

Aus der Hals-Nasen-Ohren Klinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. med. U. Ganzer

**Einfluß einer allergenspezifischen Immuntherapie auf
proinflammatorische Zytokine am Beispiel von IL-1 β und IL-6:
Suppression der IL-1 β -Sekretion in das Nasensekret durch eine
spezifische Immuntherapie**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Brigitte Faß

2000

**Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Dieter Häussinger

Dekan

Referent: Prof. Dr. Bachert

Korreferentin: Prof. Dr. Schuster

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Material und Methoden	
2.1	Patienten	3
2.2	Präparat und Dosierung	4
2.3	Nebenreaktionen	6
2.4	Symptom- und Medikationscore	7
2.5	Prüfärztliche Beurteilung von Befinden und Medikamentenverbrauch	8
2.6	Begleitmedikation	8
2.7	Studiendesign	9
2.8	Nasale Lavage	12
2.9	Nasale Allergenprovokation	13
2.10	Quantitative Zytokinbestimmungen	14
2.11	Pollenflugdaten	16
2.12	Statistik und grafische Darstellung	16
3	Ergebnisse	
3.1	Patienten	18
3.2	Erzielte Allergendosis	19
3.3	Unerwünschte Nebenreaktionen	20
3.4	Änderung von Befinden und Medikamentenverbrauch entsprechend der prüfärztlichen Beurteilung	25
3.5	Symptom- und Medikationscore	30
3.6	Pollenflug Gräser	31
3.7	Korrelation zwischen Pollencount und Symptom- bzw Medikationscore	33
3.8	Quantitative laborchemische Untersuchungen der Zytokine	36
3.8.1	Interleukin-1 β	36
3.8.1.1	Freisetzung nach nasaler Allergenprovokation	36

3.8.1.2	Freisetzung unter natürlicher Allergenexposition	39
3.8.2	Interleukin-6	43
3.8.2.1	Freisetzung nach nasaler Allergenprovokation	43
3.8.2.2	Freisetzung unter natürlicher Allergenexposition	44
4	Diskussion	47
5	Zusammenfassung	59
6	Literaturverzeichnis	61
7	Anhang	
7.1	Abkürzungsverzeichnis	75
7.2	Tabellarischer Anhang der Einzelwerte	77
7.3	Diagramme Abb.11 und 12 Verlauf IL-6 Proteinkonzentration	85

Danksagung

Lebenslauf

1 **Einleitung**

Die allergische Rhinitis ist eine sowohl saisonal als auch perennial auftretende Entzündungsreaktion der Nasenschleimhaut. Ihre Lebenszeitprävalenz wird mit 15 bis 20% in der deutschen Bevölkerung angegeben. Die Erstdiagnose wird bei den meisten Patienten zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr gestellt, mit steigendem Lebensalter nimmt die Neigung zu allergischen Rhinitiden deutlich ab.

In den letzten Jahren ist es zu einer ausgeprägten Zunahme der allergischen Rhinitis in den westlichen Industrienationen gekommen. Dies ist zum einen durch ein wachsendes Allergiebewußtsein und eine vermehrte Allergiediagnostik bedingt. Zum anderen ist aber auch objektiv eine deutliche Zunahme zu verzeichnen, deren Ursache nicht geklärt ist. Man vermutet einen Zusammenhang mit der westlichen Lebensweise, aber auch mit der Zunahme von Umweltschadstoffen und Virusinfektionen, die als Triggerfaktor wirken können.

Ähnlich wie an der Lunge und der Haut kann auch an der Nasenschleimhaut nach Allergenexposition eine entzündliche Spätphasenreaktion ablaufen, wobei es sich um eine komplexe Entzündungsreaktion handelt. Diese Entzündung neigt bei fehlender kausaler Therapie zu einem sogenannten Etagenwechsel auf die tieferliegenden Atemwege und damit zur Entwicklung eines Asthma bronchiale. Das Asthma bronchiale ist in der westlichen Welt eine der Erkrankungen mit der höchsten Zunahme an Morbidität und Mortalität.

Zur Behandlung der allergischen Rhinitis stehen verschiedene therapeutische Möglichkeiten zur Verfügung: Karenz, Pharmakotherapie und spezifische Immuntherapie. Trotz der Fortschritte im Bereich der symptomatischen, medikamentösen Therapie gibt es neben der Allergenkarenz, die für Pollenallergiker kaum durchführbar ist, als kausalen Therapieansatz nur die spezifische Immuntherapie (SIT).

Die SIT, auch als Hyposensibilisierung bezeichnet, wurde bereits vor mehr als 80 Jahren von Freeman und Noon angewandt. Inzwischen gilt sie als anerkanntes, wirksames Therapieverfahren bei IgE-vermittelten allergischen Erkrankungen, nachdem ihre Wirksamkeit in zahlreichen kontrollierten Studien eindeutig nachgewiesen wurde. Zum Wirkmechanismus gab es verschiedene Hypothesen: Zunächst wurde von der Bildung von sogenannten blockierenden Antikörpern ausgegangen. Weitere Hypothesen waren die Bildung von anti-IgE-Antikörpern und die Aktivierung von T-Suppressorzellen. Es konnte gezeigt werden, daß die SIT die unter natürlicher Allergenexposition auftretende Einwanderung von Entzündungszellen (Eosinophilen und IgE+-Zellen) hemmt.

Spielten in der Vergangenheit vor allem Betrachtungen der Effektorzellen eine zentrale Rolle, gilt das Interesse heute den T-Lymphozyten, die ganz wesentlich an der Regulation der allergischen Entzündungsreaktion beteiligt sind. Dies gilt im Besonderen für die T-Helferzellen i.e. TH0-, TH1- und TH2-Zellen.

Da bislang der Fokus bei vielen neueren Untersuchungen v.a. auf TH2-Zytokine gelegt wurde und zu unspezifischen Entzündungsparametern nur wenig bekannt war, konzentrierten sich die Bemühungen in unserer Arbeitsgruppe auf den Nachweis von Zytokinen, die v.a. als proinflammatorisch bekannt sind und andererseits im Rahmen von allergischen Rhinitiden erhöht sind. In der vorliegenden Arbeit wurden IL-1 β und IL-6 als Vertreter für unspezifisch proinflammatorisch wirkende Zytokine untersucht.

In der Studie wurde an 34 Gräserallergikern placebokontrolliert eine SIT durchgeführt. Der Zeitraum der Studie betrug zwei Jahre. Untersucht wurde die Änderung der IL-1 β und IL-6 Freisetzung im Nasensekret unter den Bedingungen einer nasalen Provokationstestung sowie unter saisonalen Bedingungen.

2 **Material und Methoden**

2.1 Patienten

In der Vorbereitungsphase der Studie konnten zunächst über 50 interessierte Patienten gewonnen werden. Nach gründlicher Voruntersuchung sowie genauer Information über die mit der Studie verbundenen Untersuchungen wurden schließlich 34 (20 männliche und 14 weibliche) Patienten mit saisonaler allergischer Rhinitis auf Gräserpollen in die Studie eingeschlossen.

Als Einschlusskriterien galten eine mindestens dreijährige Allergieanamnese auf Gräserpollen, keine vorausgegangene spezifische Immuntherapie gegen Gräser im Verlauf der letzten 5 Jahre, ein positiver Haut-Pricktest auf Gräserpollen, sowie eine RAST (Radio-Allergo-Sorbent-Test) -Klasse von ≥ 2 auf Gräserpollen. Die Altersgrenze wurde zwischen 18 und 50 Jahren angesetzt.

Zu den Ausschlusskriterien zählten klinisch relevante Beschwerden durch andere Allergene, schwere, behandlungsbedürftige asthmatische Symptome, andere Rhinitisformen, Polyposis nasi sowie irreversible Sekundärveränderungen des Reaktionsorgans (z. Bsp. Emphysem, Bronchiektasen u.a.). Weitere Erkrankungen wie fieberhafte Infekte und Entzündungen des Respirations-traktes, schwere chronische und entzündliche Erkrankungen, multiple Sklerose, Autoimmunerkrankungen, Immundefekte oder gleichzeitige Immunsuppression, immunkomplexinduzierte Immunopathien, aktive Tuberkulose, schwere psychische Störungen, Schwangerschaft und eingeschränkt Herz-Kreislauf-Insuffizienz oder Begleitmedikationen mit Betablockern, ACE-Hemmern und Impfungen, die üblicherweise eine Kontraindikation für eine Immuntherapie darstellen, galten ebenso als Ausschlusskriterium wie eine mangelnde Compliance [6].

Nach vorzeitigem Ausscheiden von einem Patienten wegen Umzugs, ergab sich eine Aufteilung in 16 Verum-Patienten und 17 Kontroll-Patienten, so daß bei insgesamt 33 Patienten die Injektionsphase eingeleitet wurde.

Das mittlere Alter der Patienten betrug zu Beginn der Studie 27 Jahre; der jüngste Patient war 19, der älteste 46 Jahre alt.

Die beiden Therapiegruppen zeigten vor Beginn der spezifischen Immuntherapie keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich Alter, Geschlechtsverteilung, subjektiven Beschwerden, Hautreaktivität, nasalem Provokationstest und RAST.

2.2 Präparat und Dosierung

Die Verumgruppe wurde einer präseasonalen spezifischen Immuntherapie mit einem 6-Gräserpollen-Depot-Allergoid, im Handel als Allergovit[®] (Allergopharma Joachim Ganzer KG, Reinbek) erhältlich, unterzogen.

Allergoid-Präparate entstehen durch eine Formalinbehandlung von nativen Allergenen. Durch diesen Allergoidisierungsprozeß wird bei Erhalt der für die Immunogenität wichtigen Primärstruktur des Allergenproteins die für die Allergenität verantwortliche Tertiärstruktur verändert. Dadurch soll bei erhaltener immunologischer Wirkung das Auftreten von allergisch bedingten Nebenwirkungen vermindert werden. [30, 57]

Die Allergoide sind mehrfach diafiltriert, an Aluminiumhydroxid adsorbiert, in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und mit 0,4% Phenol konserviert. Die Standardisierung erfolgt in Therapeutischen Einheiten (TE); Stärke A enthält 1000 TE/ml, Stärke B enthält 10000 TE/ml.

Das Präparat ist als Kurzzeittherapeutikum konzipiert. Planmäßig werden dabei 7 Injektionen im Abstand von jeweils einer Woche appliziert, wodurch sich im günstigsten Fall ein Behandlungszeitraum von 6 Wochen ergibt. Nach Erreichen der 7. Dosis war eine Weiterbehandlung im Sinne einer Erhaltungstherapie freigestellt. Dabei konnte in zunehmenden Intervallen von bis zu vier Wochen die Maximaldosis wiederholt verabreicht werden. Die Injektionen wurden bis eine Woche vor dem voraussichtlichen Beginn des Gräserpollenfluges durchgeführt.

Im Normalfall wird die Erstbehandlung mit 0,1 ml der schwächsten Konzentration, das heißt der Stärke A eingeleitet. Im Abstand von mindestens 7 und maximal 14 Tagen folgt dann jeweils die nächsthöhere Dosis. Vom Hersteller vorgesehen ist das folgende Dosierungsschema:

Stärke A: 0,1 ml; 0,2 ml; 0,4 ml; 0,8 ml.

Stärke B: 0,15 ml; 0,3 ml; 0,6 ml.

Die Zieldosis beträgt somit 6000 TE (0,6 ml der Stärke B mit 10000 TE/ml), die kumulative Gesamtdosis 12000 TE. Das empfohlene Dosierungsschema dient als Richtlinie und sollte bei regulärem Therapieverlauf möglichst eingehalten werden. Bei Auftreten von gesteigerten Nebenwirkungen, Zeitüberschreitungen, nicht aufschiebbaren Impfungen oder anderen irregulären Umständen, ist die Dosis individuell anzupassen. Hierbei gelten folgende Richtlinien: Wird die Erstbehandlung um mehr als zwei (bis zu vier) Wochen nach der letzten Injektion unterbrochen, darf die Therapie aus Vorsichtsgründen höchstens mit der Hälfte der zuletzt gegebenen Dosis fortgesetzt werden. Bei Unterbrechungen von mehr als vier Wochen muß die Therapie erneut eingeleitet werden. Bei einer unaufschiebbaren Impfung soll zwischen der letzten Allergeninjektion und dem Impftermin mindestens eine Woche liegen. Die Fortsetzung der Hyposensibilisierung erfolgt zwei Wochen nach der Impfung mit der Hälfte der zuletzt verabreichten Dosis. Bei gesteigerter Lokalreaktion von 5-10 cm Schwellungsdurchmesser soll die zuletzt gut vertragene Dosis wiederholt werden, bei milder Allgemeinreaktion die zuletzt verabreichte Dosis um zwei bis drei Stufen verringert und bei schwerer Allgemeinreaktion die Therapie mit Stärke A Neubegonnen werden.[6]

Die Lagerung der Präparate erfolgte streng nach Angaben des Herstellers bei 7° C.

Die Kontrollgruppe erhielt im ersten Studienjahr in den gleichen Zeitintervallen ein Placebopräparat. Hierbei handelte es sich um eine entsprechend dem Verumpräparat eingefärbte Zuckerlösung, der

Histamindihydrochlorid in einer Konzentration von 0,0125 mg/ml für die Stärke A und 0,125 mg/ml für Stärke B zugefügt wurde. Dies war zur Sicherung eines doppelblinden Studiendesigns nötig, da bei regelmäßigem Ausbleiben jeglicher Lokalreaktion die Placebothherapie als solche erkannt worden wäre.

Alle Präparate waren einheitlich verpackt und als Studienmedikation gekennzeichnet.

Im zweiten Studienjahr wurde aus ethischen Gründen in der Kontrollgruppe ebenfalls das 6-Gräserpollen-Depot-Allergoid Allergovit® verabreicht und somit die Untersuchung als ‘offene Studie’ weitergeführt (Details s. Pkt. 2.7).

2.3 Nebenreaktionen

Jeder Patient mußte sich mindestens 30 Minuten nach jeder Injektion im Arbeitsbereich des Arztes aufhalten. Vor Entlassung aus der Überwachung erfolgte eine Beurteilung sowie eine Dokumentation des Patientenbefindens und der Lokalreaktion durch den Prüfarzt. Hierbei wurde eine Reaktion mit Beginn innerhalb von 30 Minuten nach der Injektion als Sofort-Reaktion, eine Reaktion mit Beginn frühestens 30 – 60 Minuten nach Injektion als verzögerte Sofort-Reaktion bezeichnet. Verzögerte Sofortreaktionen und Spätreaktionen (Beginn nach mehr als 60 Minuten) wurden vor Verabreichung der Folgeinjektion erfragt und dokumentiert.

Lokalreaktionen in Form von Quaddelbildung oder Schwellung wurden nach folgendem Schema klassifiziert:

Stärke 1 = Schwellung bis 5 cm

Stärke 2 = Schwellung 5 - 10 cm

Stärke 3 = Schwellung über 10 cm;

Nicht berücksichtigt wurden hierbei die die Schwellung umgebende Rötung oder der Juckreiz an der Injektionsstelle.

Systemische Reaktionen wurden wie folgt klassifiziert und dokumentiert:

Stärke 1 = milde Allgemeinreaktion.

Augenjucken: 1a / Niesreiz: 1b / Schnupfen: 1c / Husten: 1d /
Kopfschmerzen: 1e / Müdigkeit: 1f

Stärke 2 = mäßige Allgemeinreaktion.

Lidödem: 2a / Übelkeit: 2b / Erbrechen: 2c / Diarrhoe: 2d /
Urtikaria ohne Kreislaufbeteiligung: 2e / Giemen: 2f /
Asthmaanfall: 2g / generalisiertes Erythem: 2h / generalisierter
Pruritus: 2i / Ekzem: 2k

Stärke 3 = schwere Allgemeinreaktion.

Notfalltherapie erforderlich

2.4 Symptom- und Medikationscore

Die Patienten bekamen vor jeder Saison einen Patientenkalender ausgehändigt, in dem sie ihr Befinden bezüglich der Symptome an Augen (Juckreiz, Tränenfluß, Rötung), Nase (Niesreiz, Fließschnupfen, Obstruktion) und Lunge (Husten, Giemen, Atemnot) sowie ihren Medikamentenverbrauch während der Saison protokollieren mußten. Die Angaben jedes Patienten erfolgten entsprechend der subjektiv empfundenen Intensität der Beschwerden. Folgendes Schema wurde angewandt:

0 = keine

1 = leichte

2 = mäßige

3 = starke Beschwerden.

Die tägliche Medikamenteneinnahme wurde mit folgenden Gruppenpunkten bewertet:

lokale α - und β -Mimetika = 1 Punkt

orale Antihistaminika = 2 Punkte

steroidhaltige Medikamente = 3 Punkte.

Aus den Patientenkalendern wurden jeweils die Tage mit Augen-, Nasen- und Lungenbeschwerden sowie der Medikamentenverbrauch zusammengezählt. Die so entstandenen Werte für die einzelnen Beschwerden und den Medikamentenverbrauch wurden durch die Zahl der Tage geteilt, die der Kalender geführt wurde, und dann als Nasen-, Augen-, Lungen- bzw. Medikamentscore bezeichnet.

Die Summe der Nasen-, Augen- und Lungenscores wurde als Symptomscore bezeichnet, die Summe von Symptom- und Medikamentscore analog dazu als Symptom-Medikation-Score.

2.5 Präärztliche Beurteilung von Befinden und Medikamentenverbrauch

Nach Ablauf der Gräserpollensaison, also am Termin VII und XII (siehe Tab. 1), beurteilte der Prüfarzt das Befinden und den Medikamentenverbrauch jedes einzelnen Patienten während der Saison. Hierbei wurde das Befinden entsprechend den Kriterien 'Sehr verbessert', 'Verbessert' und 'Nicht verbessert' bewertet. Der Medikamentenverbrauch wurde analog mit den Stufen 'Sehr verringert', 'Verringert' und 'Nicht verringert' erfaßt. Dabei bezog sich die Beurteilung nach dem zweiten Jahr auf das Niveau der ersten Saison.

2.6 Begleitmedikation

Eine antiallergische Begleitmedikation während der Saison war freigestellt. Sie mußte in den Patientenkalendern zusammen mit den allergischen Beschwerden täglich dokumentiert werden (s. Pkt. 2.4 Symptom- und Medikamentscore). Vor jedem Untersuchungstermin außerhalb der Saison mußte jedoch für jedes Medikament eine bestimmte Karenzzeit eingehalten

werden, da an diesen Tagen eine nasale Provokationstestung durchgeführt wurde:

Systemische Kortikosteroide	1 Monat
Topische Kortikosteroide	2 Wochen
Cromoglykat	2 Wochen
Abschwellende Nasentropfen	3 Tage
Antihistaminika	3 Tage
Ausnahme: Astemizol	6 Wochen
Antidepressiva und andere Medikamente mit anti-allergischen Wirkungskomponenten	3 Tage

2.7 Studiendesign

Die Studie wurde im ersten Jahr als placebokontrollierte, randomisierte Doppelblinduntersuchung der Phase IV konzipiert, im zweiten Behandlungsjahr als offene Phase IV Studie, in der alle Patienten mit dem Verumpräparat behandelt wurden.

Die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf genehmigte die Studie. Die Anmeldung der Studie gemäß § 67 AMG wurde beim Regierungspräsidium Düsseldorf vorgenommen. Es erfolgte ebenfalls eine Anzeige gegenüber dem Gesundheitsamt Düsseldorf und gegenüber der Arzneimittelüberwachungsstelle Schleswig-Holstein, Kiel.

Die Studie entsprach den ‘Grundsätzen für die ordnungsgemäße Durchführung der klinischen Prüfung von Arzneimitteln’ der Gesundheitsministerien für Jugend, Familie, Frauen und Gesundheit, den Empfehlungen der Europäischen Gemeinschaft, den Richtlinien der ‘Good Clinical Practice’ sowie der ‘Declaration of Helsinki’ des Weltärztebundes von 1986.

Nach gründlicher Anamnese, einer ausführlichen Information über die Studie und nach Überprüfung der Ein- bzw. Ausschlusskriterien erfolgte nach Unterzeichnen der Einverständniserklärung die Aufnahme in die Studie.

Die Zuteilung der Patienten zu den beiden Vergleichsgruppen entsprach der Reihenfolge ihrer Aufnahme in die Studie und einer zuvor erfolgten, doppelblinden Randomisierung mit Zuteilung der laufenden Nummer zu einer der beiden Gruppen.

Für jeden Patienten wurde ein eigener Case report form (CRF) angelegt, in dem alle patientenbezogenen Daten dokumentiert wurden.

Im Herbst 1992 wurden am Termin I die Einschlusskriterien überprüft sowie Trainingsuntersuchungen vorgenommen, bei denen unter anderem von den Patienten die Lavagetechnik eingeübt wurde. An den weiteren Terminen vor Therapiebeginn (Termin II), vor der 1. Pollensaison (Termin III), am Anfang der 1. Pollensaison (Termin IV), zur Mitte der 1. Pollensaison (Termin V), am Ende der 1. Pollensaison (Termin VI), nach dem ersten Jahr (Termin VII), vor der 2. Pollensaison (Termin VIII), dreimalig während der 2. Pollensaison (Anfang, Mitte, Ende entsprechend den Terminen IX - XI) und nach Abschluß des zweiten Jahres (Termin XII) wurde eine Lavage der Nase durchgeführt sowie eine Blutprobe entnommen.

Diese Termine lagen im Oktober 1992, im April 1993, im Mai, Juni, Juli 1993, im Oktober 1993, im April 1994, im Mai, Juni, Juli 1994 und zum Abschluß im Oktober 1994 (Tab. 1).

An den Terminen außerhalb der Saison (Termin II, III, VII, VIII sowie XII) wurde zusätzlich eine nasale Allergenprovokation, ein Pricktest sowie eine Befragung nach subjektivem Befinden und Medikamentenverbrauch durchgeführt. Die Lavage wurde an diesen fünf Terminen direkt vor der Provokation sowie jeweils 1h, 4h, 8h und 24h nach der Provokation durchgeführt.

Termin I	September	1992	Voruntersuchung
Termin II	Oktober		vor Immuntherapie
	November		
	Dezember		
	Januar	1993	Immuntherapie
	Februar		Immuntherapie
	März		Immuntherapie
Termin III	April		vor 1. Pollensaison
Termin IV	Mai		Anfang 1. Pollensaison
Termin V	Juni		Mitte 1. Pollensaison
Termin VI	Juli		Ende 1. Pollensaison
	August		
	September		
Termin VII	Oktober		nach 1. Jahr
	November		
	Dezember		
	Januar	1994	Immuntherapie
	Februar		Immuntherapie
	März		Immuntherapie
Termin VIII	April		vor 2. Pollensaison
Termin IX	Mai		Anfang 2. Pollensaison
Termin X	Juni		Mitte 2. Pollensaison
Termin XI	Juli		Ende 2. Pollensaison
	August		
	September		
Termin XII	Oktober		nach 2. Jahr

Tab. 1: Untersuchungstermine und Behandlungsintervalle

2.8 Nasale Lavage

Wir wählten die Methode der nasalen Lavage, um die von der Nasenschleimhaut als dem Erfolgsorgan der allergischen Rhinitis in das Nasensekret freigesetzte Menge an Zytokinen bestimmen zu können. Dies ist eine geeignete Methode zur Beantwortung der Frage, welchen Effekt die spezifische Immuntherapie auf die Freisetzung von entzündungsmodulierenden Zellbotenstoffen an der Nase ausübt. Diese Methode hatte sich bereits in früheren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe bewährt [13, 15].

Nachdem die Patienten durch mehrmaliges Training die Technik erlernt hatten, pipettierten wir 5 ml einer 0,9% NaCl-Lösung mit Raumtemperatur bei rekliniertem und zur Seite geneigtem Kopf in eine der beiden Nasenhaupthöhlen. Nach 10 sec wurden die Patienten aufgefordert, die Spülflüssigkeit durch Vorwärtsneigen des Kopfes in einen Becher laufen zu lassen. Dasselbe Procedere wiederholten wir auf der anderen Nasenseite. Durch das zuvor abgelaufene Training wurden jeweils 70 bis 90% der Spülflüssigkeit wiedergewonnen.

Anschließend erfolgte zur Abtrennung von Schleimresten, Zellen und sonstigen Verunreinigungen eine 10minütige Zentrifugation bei 1200 Umdrehungen/min in einer Kühlzentrifuge (Hereus Sepatech Omnifuge 2.0 RS) bei 4° C.

Es folgte ein portioniertes Einfrieren zu je 250 µl bei –80° C in Eppendorf-Cups bis zur weiteren Verarbeitung.

2.9 Nasale Allergenprovokation

Die nasale Allergenprovokation wurde entsprechend den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Allergie- und Immunitätsforschung zur Provokationstestung [3] durchgeführt. Zur Anwendung kam eine Allergenlösung, die eine dem Therapiepräparat entsprechende Zusammensetzung aufwies. Die Konzentration wurde auf 10.000 BE (Biologisch Einheiten)/ml eingestellt, indem eine entsprechende Menge Allergentlyophilisat mit einer phenolhaltigen Rekonstitutionslösung versetzt wurde.

Wir führten eine beidseitige Provokation mit jeweils zwei Sprühstößen auf die Nasenschleimhaut in Richtung auf den Kopf der unteren Nasenmuschel nach tiefer Inspiration durch. Danach erfolgte ein Ausatmen durch die Nase. Dieses Ausatmen erfolgte zur Vermeidung einer bronchialen Allergenverschleppung durch die Nase.

Zum Nachweis der klinischen Relevanz der im Pricktest festgestellten Sensibilisierung, wurde die nasale Provokation im Rahmen der Einschlußuntersuchungen angewandt. Dabei wurde die Provokation als positiv gewertet, wenn entweder im 15minütigen Überwachungsintervall die typischen klinischen Zeichen einer allergischen Rhinitis wie Niesreiz, Rhinorrhoe oder nasale Obstruktion zu beobachten waren oder bei einer nach 15 Minuten durchgeführten Rhinomanometrie ein Flow-Abfall von mindestens 40% zum Ausgangswert vor Provokation auftrat.

Im Verlauf der Studie wurde an mehreren Terminen ebenfalls provoziert, um dabei den zeitlichen Verlauf der Zytokinfreisetzung nach einer einzelnen, punktuellen Allergenexposition zu verfolgen.

2.10 Quantitative Zytokinbestimmungen

Zur Untersuchung des Einflusses der spezifischen Immuntherapie auf die Entzündungsreaktion der Nase bei Gräserallergikern bestimmten wir die Interleukine IL-1 β und IL-6.

Bei Interleukin-1 β (IL-1 β) handelt es sich um ein proinflammatorisches Zytokin, das v.a. zu Beginn der entzündlichen Zytokinkaskade eine wichtige Rolle spielt. Es induziert die Freisetzung anderer proinflammatorischer Zytokine sowie die Aktivierung von B- und T-Lymphozyten. Eine weitere wichtige Eigenschaft ist die Induktion der Expression von Adhäsionsmolekülen. Zusammen mit TNF α (Tumornekrosefaktor α) führt es innerhalb von Minuten zur Expression von Selektinen an der Endothel-Oberfläche, was zur lockeren Bindung von vorbeiströmenden Zellen führt. Diese Zytokine werden daher auch als ‘Alarm-Zytokine’ bezeichnet.

In einem weiteren Schritt wird die Expression der Adhäsionsmoleküle ICAM 1 (intercellular adhesion molecule) und VCAM 1 (vascular cell adhesion molecule) angeregt. Dies führt zu einem festem Kontakt zwischen Blutgranulozyten und Gefäßendothel und stellt die Voraussetzung dar für die folgende transendotheliale Zellmigration [7]. Während ICAM 1 eine Reihe verschiedener Zelltypen bindet, bindet VCAM 1 selektiv an den Liganden VLA 4 (very late antigen), der nur auf eosinophilen und basophilen Granulozyten exprimiert wird. Dies scheint auf einen selektiven Migrationsmechanismus für allergieassoziierte inflammatorische Zellen hinzuweisen. [17]

Bei Interleukin-6 (IL-6) handelt es sich mehr um ein unspezifisch-proinflammatorisches Zytokin, das sowohl im Nasensekret von Allergikern [13] als auch von Patienten mit viraler Rhinitis [63] signifikant höher vorkommt als bei Gesunden.

IL-6 bewirkt eine verstärkte Synthese und Sekretion von Akut-Phase-Proteinen durch eine Stimulation der Hepatozyten. Es verursacht so eine Leukozytose, eine Temperatursteigerung, eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität sowie eine Veränderung der Glucocorticoidspiegel [7, 81]. Wir erwarteten, anhand von IL-6 eine Aussage über den Verlauf der Intensität der allergischen Entzündungsreaktion machen zu können.

Zur quantitativen Bestimmung des Zytokingehalts der Lavageflüssigkeit wurde das ELISA-Verfahren (Enzyme-linked immunosorbent assay) verwendet.

Die bei -80°C eingefrorenen Lavageflüssigkeiten wurden bei 4°C langsam aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht. Danach erfolgte eine quantitative Bestimmung von IL-1 β und IL-6 mittels ELISA.

Zur Testung verwendeten wir den Quantikine™ HS Human IL-1 β Immunoassay und den Quantikine™ HS Human IL-6 Immunoassay (R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA). Die Tests wurden nach Vorschrift des Herstellers durchgeführt.

Hierbei handelt es sich um quantitative Sandwich-Enzym-Immunoassays, bei denen mit spezifischen monoklonalen Antikörpern gegen humanes IL-1 β bzw. humanes IL-6 beschichtete Mikrotiterplatten verwendet werden. Nach Zugabe der Probe binden die darin enthaltenen Zytokine an die spezifischen Antikörper. Durch einen Waschvorgang werden alle ungebundenen Proteine entfernt. Zur Vervollständigung der Sandwichtechnik erfolgt die Zugabe von polyklonalen, spezifischen Antikörpern gegen IL-1 β bzw. IL-6, die mit Alkalischer Phosphatase markiert sind. Ein erneuter Waschvorgang entfernt die Reste der ungebundenen Antikörper-Enzym-Reagenzien. Durch die Zugabe von Substrat (lyophilisiertes NADPH) sowie von in Ethanol und Iodonitrotetrazoliumviolett (INT) gelösten Verstärkerenzymen kommt es zu einer Farbentwicklung (Farbstoff: Formazan), die proportional zur Menge von IL-1 β bzw. IL-6 ist und photometrisch bestimmt werden kann. Diese

Farbentwicklung ist bedingt durch eine Dephosphorylierung des NADPH zu NADH durch Alkalische Phosphatase. NADH wiederum wirkt als Kofaktor bei der Reduktion von INT zu Formazan, einem intensiven Farbstoff.

Jede Probe wurde doppelt einschließlich einer 1 : 2 Verdünnung bestimmt. Ausgewertet wurden die resultierenden Mittelwerte.

Als Negativkontrolle diente 0,9% NaCl-Lösung, als Positivkontrolle wurde der unverdünnte IL-1 β bzw. IL-6 Standard des Kits verwendet. Die Detektionsgrenze für IL-1 β lag bei 0,109 pg/ml, die für IL-6 bei 0,094 pg/ml.

Die Bestimmung erfolgte für IL-6 in den Lavageflüssigkeiten vor Provokation, 1h, 4h, 8h und 24h nach Provokation sowie während der Saison. Mangels genügendem Probenvolumen erfolgte für IL-1 β lediglich eine Auswertung für die Zeitpunkte vor Provokation sowie 8h nach Provokation und während der Saison.

2.11 Pollenflugdaten

Zur Bewertung des Ausmaßes der saisonalen Allergenbelastung verwendeten wir die Pollenflugdaten der Pollenfalle des Kamillianer Krankenhauses Mönchengladbach, die uns freundlicherweise überlassen worden waren. Es handelte sich hierbei um eine Pollenfalle nach Burkhard. Die Auswertung erfolgte täglich. Die Daten wurden in Gräserpollen/m³ Luft angegeben.

2.12 Statistik und grafische Darstellung

Da aufgrund der geringen Probandenzahl keine Normalverteilung vorlag, wurden zur Erstellung der Statistik nicht-parametrische Testverfahren verwendet.

Zur statistischen Auswertung der Veränderungen innerhalb der Therapiegruppen wurde der Friedman-Test sowie der Wilcoxon Matched-

Pairs Signed-Rank Test verwendet, zum Vergleich zwischen den beiden Therapiegruppen der Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum Test.

Um die Korrelation zwischen Gruppen zu prüfen, bestimmten wir den Korrelationskoeffizienten δ mit Hilfe des nicht-parametrischen Spearman-Tests.

Die Auswertung wurde mit dem Programm SPSS auf einem IBM-kompatiblen Personal-Computer durchgeführt.

Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha = 0,05$ festgelegt.

Im Text verwendete statistische Werte entsprechen, falls nicht anders angegeben, dem Median $\pm$ standard error of the mean (SEM).

Zur Darstellung der Grafiken wurden Boxplots verwendet. Die Box stellt hier die Werte zwischen dem 25 % und 75 % Perzentil dar. Der Median, also das 50 % Perzentil, wird durch den schwarzen Strich innerhalb der Box dargestellt. Die horizontal verlaufenden Striche über und unter der Box geben den größten und den kleinsten Wert an, der nicht als extremer Wert oder als Ausreißer klassifiziert wurde.

3 **Ergebnisse**

3.1 Patienten

Während der zweijährigen Studie kamen Therapieabbrüche aufgrund von unerwünschten Nebenwirkungen oder Verträglichkeitsproblemen nicht vor.

Bis zum Ende des ersten Jahres nahmen 32 der insgesamt 33 Patienten regelmäßig an den Untersuchungsterminen teil, so daß nach Abschluß des ersten Jahres 32 Patienten in die Auswertung eingingen. Ein Patient war im Sommer des ersten Jahres wegen Umzugs ausgeschieden, seine Daten gingen nur in die Auswertung der Injektionsphase mit ein.

Im zweiten Behandlungsjahr umfaßte die Studie nur noch 18 Patienten (8 männliche und 10 weibliche), die bis zum Abschluß des zweiten Jahres regelmäßig an der Studie teilnahmen. Die Gründe für das Ausscheiden der restlichen 14 Patienten waren folgende:

Bei vier Patienten dauerhafter Wechsel des Wohnortes, bei weiteren zwei vorübergehender Wechsel des Wohnortes. Zwei Patienten klagten über eine Unzufriedenheit mit der bisherigen Therapie sowie über eine intolerable Beeinträchtigung durch die zeitaufwendigen Begleituntersuchungen. Bei einem Patienten gab es Probleme mit dem Arbeitgeber durch entstehende Fehlzeiten. Von fünf Patienten erhielten wir trotz mehrfachen Anschreibens keine Antwort.

Es ergab sich dadurch eine gleichmäßige Verteilung in Verum- und Kontrollgruppe mit je neun Patienten. Die Kontrollgruppe umfasste die Patienten, die im Vorjahr placebothertapiert worden waren.

3.2 Erzielte Allergendosis

Im ersten Jahr betrug die mittlere Anzahl der Injektionen in beiden Therapiegruppen je 8 Injektionen. Die Verumgruppe erreichte eine mediane kumulierte Dosis von 16.800 TE, dabei erreichten 12 von 16 Verum-Patienten die angestrebte Maximaldosis von 6.000 TE/ml. Eine Abweichung vom Dosierschema in Form von Dosiswiederholungen fand in dieser Gruppe bei drei Patienten statt: einmal wegen Intervallüberschreitung, einmal wegen zu starker Lokalreaktion und einmal aufgrund eines Übermittlungsfehlers.

Die mittlere Injektionszahl im zweiten Jahr lag in der Verumgruppe bei 10 und in der Kontrollgruppe bei 9 Injektionen, wobei die mediane kumulierte Dosis 25.500 TE in der Verumgruppe und 17.700 TE in der Kontrollgruppe betrug. Innerhalb der Verumgruppe erreichten im zweiten Jahr 7 von 9 Patienten die angestrebte Maximaldosis von 6.000 TE/ml, in der Kontrollgruppe waren es ebenfalls 7 von 9 Patienten (Tab. 2). Einer der beiden Patienten, die die Zieldosis in der Kontrollgruppe nicht erreichten, litt unter einem frischen Schub einer erst im späteren Verlauf aufgedeckten Malaria.

Zu Dosiswiederholungen kam es in der Verumgruppe bei vier Patienten: bei einem wegen starker Lokalreaktion, bei einem anderen wegen mehrfacher leichter systemischer Reaktion, bei einem dritten auf Wunsch des Patienten und bei einem vierten wegen eines Übermittlungsfehlers. In der Kontrollgruppe waren Dosiswiederholungen in 5 Fällen notwendig: einmal wegen einer leichten systemischen Reaktion und viermal wegen starker Lokalreaktionen.

Der Patient mit der später diagnostizierten Malaria wies mehrfach ausgeprägte Lokalreaktionen auf, die sich nach einem auf Verdacht hin vorgenommenen Wechsel des Präparates besserten. Nach dann guter Verträglichkeit bis zu einer Dosis von 1.000 TE/ml mußte die Therapie wegen eines erneuten Malariaschubs abgebrochen werden. Eine nachträgliche Überprüfung des initial nicht vertragenen Präparates durch die

Herstellerfirma ergab keine Auffälligkeiten, so daß die zunächst beobachteten Lokalreaktionen in Zusammenhang mit der Malaria-Erkrankung interpretiert wurden.

		1. Jahr	2. Jahr
mittlere Injektionszahl	Verumgruppe	8	10
	Kontrollgruppe	8	9
mediane kumulierte Dosis in TE	Verumgruppe	16.800	25.500
	Kontrollgruppe	-	17.700

Tab. 2: Anzahl der verabreichten Injektionen sowie erreichte kumulierte Dosis

3.3 Unerwünschte Nebenreaktionen

Im ersten Jahr wurden sowohl in der Verum- als auch in der Placebogruppe lokale Nebenreaktionen der Stärke 1 registriert. In der Verumgruppe waren zusätzlich lokale Nebenreaktionen der Stärke 2 innerhalb des 30 minütigen Überwachungsintervalls nach Injektion zu verzeichnen.

Im zweiten Jahr wurden nur noch lokale Sofortreaktionen der Stärke 1 in beiden Gruppen beobachtet.

Verzögerte Lokalreaktionen traten in beiden Behandlungsjahren wesentlich häufiger auf; zumeist in milder Ausprägung, d.h. der Stärke 1. Auch Reaktionen der Stärke 2 und 3 wurden vereinzelt beobachtet.

Systemische Reaktionen traten wesentlich seltener auf und waren in beiden Gruppen prozentual etwa gleichhäufig zu beobachten. Hierbei traten vor allem milde Allgemeinreaktionen auf, die bei etwa doppelt so vielen Patienten beobachtet wurden wie mäßige Reaktionen. Schwere Allgemeinreaktionen wurden im gesamten Studienverlauf nicht beobachtet. (Tab. 3)

Betrachtet man die Anzahl der Nebenwirkungen bezogen auf die Anzahl der Injektionen (Tab. 4), so zeigt sich, daß es vor allem zu geringfügigen Lokalreaktionen der Stärke 1 gekommen ist. Lokale verzögerte Sofort-Reaktionen traten deutlich häufiger auf als lokale Sofort-Reaktionen. Auch in der Placebogruppe zeigten sich nennenswerte Lokalreaktionen aufgrund der Histaminbeimengung zum Placebopräparat. Auffällig war hier, daß es in der Placebogruppe zu mehr als doppelt so vielen systemischen Allgemeinreaktionen (12%) als in der Verumgruppe kam (5%).

Innerhalb der systemischen Nebenreaktionen dominierten die klassischen allergischen Symptome Augenjucken, Niesreiz und Schnupfen. Andere Symptome traten nur sporadisch auf. (Tab. 5)

Nebenreaktionen		1. Jahr Verum	1. Jahr Placebo	2. Jahr Verum	2. Jahr Kontrolle
Anzahl Patienten		16	17	9	9
lokal, sofort					
< 5 cm	1	11 (69%)	11 (65%)	4 (44%)	6 (67%)
5 – 10 cm	2	1 (6%)	0	0	0
> 10 cm	3	0	0	0	0
lokal, verzögert					
< 5 cm	1	16 (100%)	7 (41%)	7 (78%)	9 (100%)
5 – 10 cm	2	8 (50%)	1 (6%)	5 (56%)	6 (67%)
> 10 cm	3	6 (38%)	0	1 (11%)	5 (56%)
systemisch					
milde AR	1	4 (25%)	4 (23%)	2 (22%)	2 (22%)
mäßige AR	2	2 (13%)	2 (12%)	0	1 (11%)
schwere AR	3	0	0	0	0

Tab. 3: Nebenreaktionen, patientenbezogen

Erläuterungen zur Tabelle:

milde AR = milde Allgemeinreaktion

mäßige AR = mäßige Allgemeinreaktion

schwere AR = schwere Allgemeinreaktion

lokal, sofort = Sofortreaktion mit Beginn der Reaktion innerhalb 30 Minuten nach Injektion

lokal, verzögert = verzögerte Sofortreaktion mit Beginn der Reaktion frühestens 30 – 60 Minuten nach Injektion

Nebenreaktionen		1. Jahr Verum	1. Jahr Placebo	2. Jahr Verum	2. Jahr Kontrolle
Anzahl Injektionen		136	132	88	85
lokal, sofort					
< 5 cm	1	64 (47%)	39 (29%)	28 (32%)	32 (38%)
5 – 10 cm	2	1 (1%)	0	0	0
> 10 cm	3	0	0	0	0
lokal, verzögert					
< 5 cm	1	64 (47%)	23 (17%)	47 (53%)	42 (49%)
5 – 10 cm	2	10 (7%)	1 (1%)	11 (13%)	14 (16%)
> 10 cm	3	15 (11%)	0	1 (1%)	13 (15%)
systemisch					
milde AR	1	5 (4%)	11 (8%)	2 (2%)	5 (6%)
mäßige AR	2	2 (1%)	5 (4%)	0	1 (1%)
schwere AR	3	0	0	0	0

Tab. 4: Nebenreaktionen, injektionsbezogen

Erläuterungen siehe Tabelle 3

	1. Jahr Verum	1. Jahr Placebo	2. Jahr Verum	2. Jahr Kontrolle
Augenjucken	3	2	-	1
Niesreiz	-	3	-	1
Schnupfen	-	3	1	2
Kopfschmerzen	1	-	1	-
Giemen	-	1	-	-
Ekzem	1	-	-	-
generalisierter Pruritus	1	-	-	-
Gaumenjucken	-	1	-	-
Hitzegefühl	-	-	-	-
Übelkeit	-	-	-	1
Diarrhoe	-	-	-	1
Frösteln	-	-	1	-

Tab. 5: Art der systemischen Nebenreaktionen, patientenbezogen

3.4 Änderung von Befinden und Medikamentenverbrauch entsprechend der prüfärztlichen Beurteilung

Als therapeutischen Erfolg der SIT können die Fälle betrachtet werden, bei denen eine klinische Besserung eingetreten ist, ohne daß gleichzeitig die Begleitmedikation erhöht wurde. Ebenso die Patienten, die bei gleichem Befinden die antiallergische Medikation verringert haben. Dies wurde bei 11 von 15 Patienten (73%) in der Verumgruppe im ersten Jahr beobachtet. Bei einem Patient (7%) verbesserte sich das Befinden bei angestiegenem Medikamentenverbrauch, zwei Patienten (13%) zeigten keine klinische Veränderung und bei einem Patienten (7%) verschlechterte sich das Befinden trotz erhöhtem Medikamentenverbrauch (Tab. 6).

Im zweiten Jahr gaben 7 (78%) der 9 Verumpatienten im Vergleich zum Vorjahr eine nochmalige Verbesserung an. Zwei (22%) Patienten blieben unverändert im Vergleich zum Vorjahr (Tab. 7).

Innerhalb der Kontrollgruppe verbesserte sich das Befinden unter der Placebothherapie im ersten Jahr bei 7 der 15 Patienten, ohne daß der Medikamentenverbrauch anstieg, zwei Patienten verringerten den Medikamentenverbrauch bei unverändertem Befinden. Somit zeigte sich bei 9 Patienten (60%) ein positiver Effekt unter Placebothherapie. Zwei Patienten (13%) blieben unverändert und vier (27%) verschlechterten sich in Befinden bzw. Medikamentenverbrauch (Tab. 8).

Im zweiten Jahr, das heißt nach dem ersten Jahr mit aktiver Therapie, war unter Zugrundelegung der oben genannten Definition die Therapie in der Kontrollgruppe bei 6 der 7 Patienten (86%) erfolgreich, ein (14%) Patient blieb unverändert (Tab. 9).

Die Besserungsraten unter Therapie lagen mit 73% (1. Jahr Verum), 78% (2. Jahr Verum) und 86% (2. Jahr Kontrolle) deutlich über denen der Placebogruppe des 1. Jahres (60%). Ein statistisch signifikanter Unterschied war jedoch weder bezüglich des Befindens noch des Medikamentenverbrauchs nachweisbar mit $p = 0,09$.

Medika- menten- verbrauch	sehr verrin- gert	verrin- gert	nicht verän- dert	ver- stärkt	unge- wiß	gesamt
Befin- den						
sehr verbessert	4	1	1	-	-	40%
verbessert	1	2	1	1	-	33%
unverändert	-	1	2	-	-	20%
verschlechtert	-	-	-	1	-	7%
ungewiß	-	-	-	-	-	-
gesamt	33%	27%	27%	13%	-	100%

Tab. 6: Medikamentenverbrauch und Befinden Verumgruppe 1. Jahr

Erläuterungen zur Tabelle:

- Verbesserung unter Therapie
- Verschlechterung unter Therapie
- Keine Veränderung unter Therapie
- Ungewisser Effekt unter Therapie

Medika- menten- verbrauch	sehr verrin- gert	verrin- gert	nicht verän- dert	ver- stärkt	unge- wiß	gesamt
Befin- den						
sehr verbessert	3	-	-	-	-	33%
verbessert	1	2	1	-	-	45%
unverändert	-	-	2	-	-	22%
verschlechtert	-	-	-	-	-	-
ungewiß	-	-	-	-	-	-
gesamt	45%	22%	33%	-	-	100%

Tab. 7: Medikamentenverbrauch und Befinden Verumgruppe 2. Jahr
(im Vergleich zum Vorjahr)

Erläuterungen siehe Tab. 6

Medika- menten- verbrauch	sehr verrin- gert	verrin- gert	nicht verän- dert	ver- stärkt	unge- wiß	gesamt
Befin- den						
sehr verbessert	1	-	-	-	-	7%
verbessert	2	3	1	-	-	40%
unverändert	1	1	2	1	-	33%
verschlechtert	-	-	1	2	-	20%
ungewiß	-	-	-	-	-	-
gesamt	27%	27%	27%	19%	-	100%

Tab. 8: Medikamentenverbrauch und Befinden Kontrollgruppe 1. Jahr

Kontrollgruppe (1. Jahr): 2 Patienten ohne Angaben, d.h. n=15

Erläuterungen siehe Tab.6

Medika- menten- verbrauch	sehr verrin- gert	verrin- gert	nicht verän- dert	ver- stärkt	unge- wiß	gesamt
Befin- den						
sehr verbessert	1	1	-	-	-	29%
verbessert	-	3	1	-	-	57%
unverändert	-	-	1	-	-	14%
verschlechtert	-	-	-	-	-	-
ungewiß	-	-	-	-	-	-
gesamt	14%	57%	29%	-	-	100%

Tab. 9: Medikamentenverbrauch und Befinden Kontrollgruppe 2. Jahr
(im Vergleich zum Vorjahr)

Kontrollgruppe (2. Jahr): 2 Patienten ohne Angaben, d.h. n = 7

Erläuterungen siehe Tab.6

3.5 Symptom- und Medikationscore

Beim Vergleich der Symptomscores der Verum- und der Placebogruppe untereinander ergaben sich im ersten Jahr fast identische Werte. Das gleiche gilt für den Medikationscore der beiden Gruppen. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ließen sich nicht nachweisen.

Im zweiten Jahr besserte sich zwar das Befinden der erstmals aktiv behandelten Kontrollgruppe (Symptomscore von 2,572 auf 1,945) bei gleichzeitiger Verringerung des Medikamentenverbrauchs (Medikationscore von 0,131 auf 0,098), statistische Signifikanzen waren jedoch ebenfalls nicht nachweisbar. Andererseits zeigte die Verumgruppe gegenläufige Tendenzen. Hier kam es zu einer nicht signifikanten Zunahme des Symptomscores.

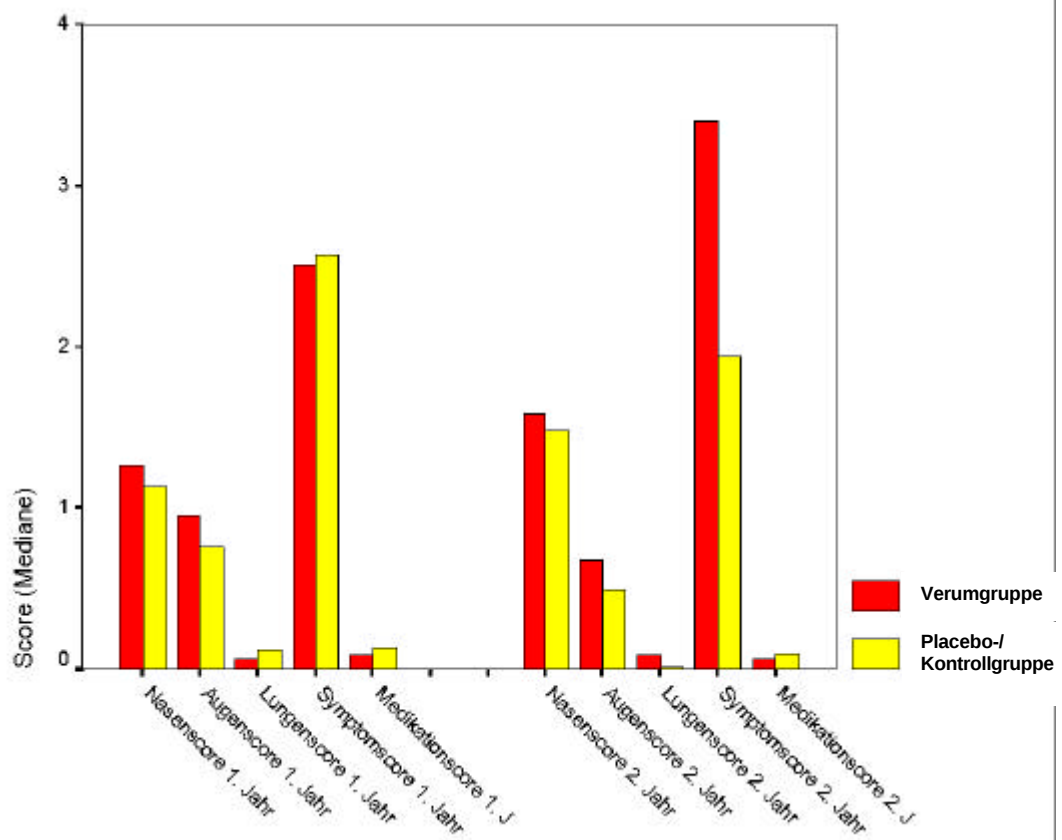


Abb. 1: Symptom- und Medikationscore

3.6 Pollenflug Gräser

Der mittlere Gräserpollenflug 1993 betrug gemessen in der Station des Kamillianer Krankenhauses Mönchengladbach 54 Gräserpollen/m³ Luft. Es wurden Mitte Juni 1993 Maximalwerte von 296 Gräserpollen/m³ Luft erreicht. Insgesamt zeigt sich ein eher dreigipfliger Verlauf mit einem Gipfel Ende Mai mit ca. 170 Gräserpollen/m³ Luft, einem weiteren Mitte Juni mit 296 Gräserpollen/m³ Luft sowie einem dritten Gipfel Ende Juni mit ca. 120 Gräserpollen/m³ Luft. Damit ist die Gräserpollensaison 1993 als Saison mit starkem Pollenflug anzusehen. Diese wird entsprechend der Klassifikation der 'Stiftung deutscher Polleninformationsdienst' ab einem Grenzwert von 30 Pollen/m³ Luft im Saisonmittel angenommen.

Der mittlere Gräserpollenflug 1994 betrug 25 Gräserpollen/m³ Luft. Es wurden Maximalwerte von 150 Gräserpollen/m³ Luft Ende Juni erreicht. Es zeigen sich hier außer Ende Juni keine deutlichen Spitzen wie 1993, vielmehr zeigt sich ein relativ gleichmäßiger Verlauf von Anfang Juni bis Mitte Juli 1994. Entsprechend der obigen Klassifikation gilt der Pollenflug in dieser Saison als mäßig (5 – 30 Pollen/ m³ Luft im Saisonmittel).

Im Vergleich zwischen den beiden Jahren 1993 und 1994 für den Pollenflug von Gräsern ergibt sich ein signifikanter Unterschied mit $p = 0,014$. Damit lagen im Jahr 1993 signifikant höhere Gräserpollenkonzentrationen vor.

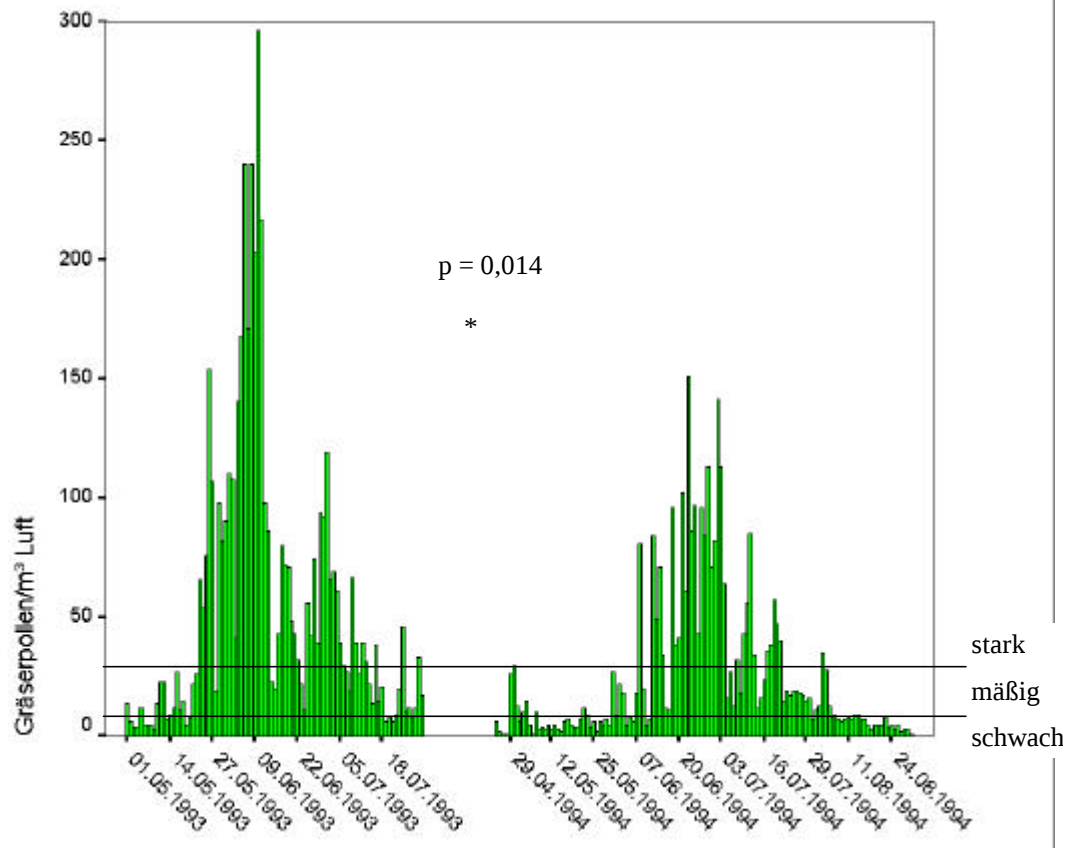


Abb. 2: Gräserpollenflug Mönchengladbach 1993 und 1994

Erläuterung zur Tabelle:

schwach = schwacher Pollenflug mit 0 – 5 Pollen/m³ Luft

mäßig = mäßiger Pollenflug mit 5 – 30 Pollen/m³ Luft

stark = starker Pollenflug mit >30 Pollen/m³ Luft

3.7 Korrelationen zwischen Pollencount und Symptom- bzw. Medikationscore

Zur Feststellung des Zusammenhangs zwischen Pollencount und Symptom- bzw. Medikationscore bestimmten wir den Korrelationskoeffizienten δ mit Hilfe des nicht-parametrischen Spearman-Tests. Zur Berechnung wurden hier jeweils aus beiden Jahren die monatlichen Mittelwerte des Pollenflugs sowie der Scores herangezogen.

In der Verumgruppe ergab sich sowohl für den Symptom- als auch für den Medikationscore in Abhängigkeit vom Pollencount eine signifikante positive Korrelation mit $\delta = 0,929$. Das bedeutet, einem hohen Pollencount entsprach ein hoher Symptom- bzw. Medikationscore und umgekehrt. (Abb. 3 und 4)

In der Kontrollgruppe zeigte sich ebenfalls eine signifikante positive Korrelation zwischen Pollencount und Symptom- bzw. Medikationscore. Hier lag der Korrelationskoeffizient δ bei 0,810 für den Symptomscore und bei 0,952 für den Medikationscore (Abb. 5 und 6).

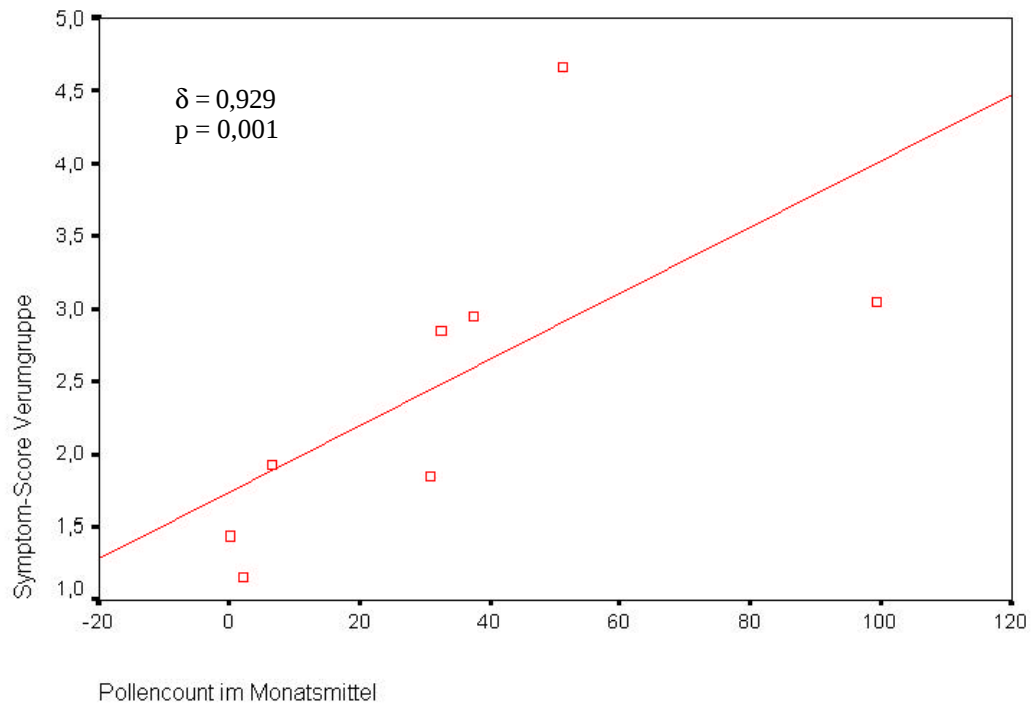


Abb.3: Verumgruppe: Streudiagramm Pollencount - Symptomscore

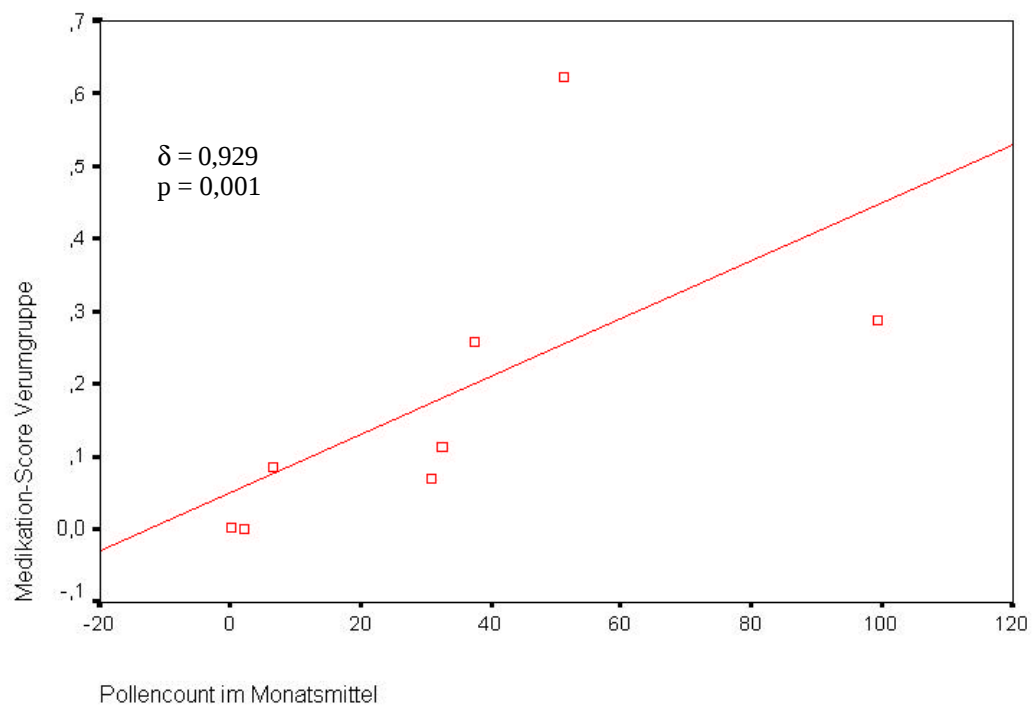


Abb.4: Verumgruppe: Streudiagramm Pollencount - Medikationscore

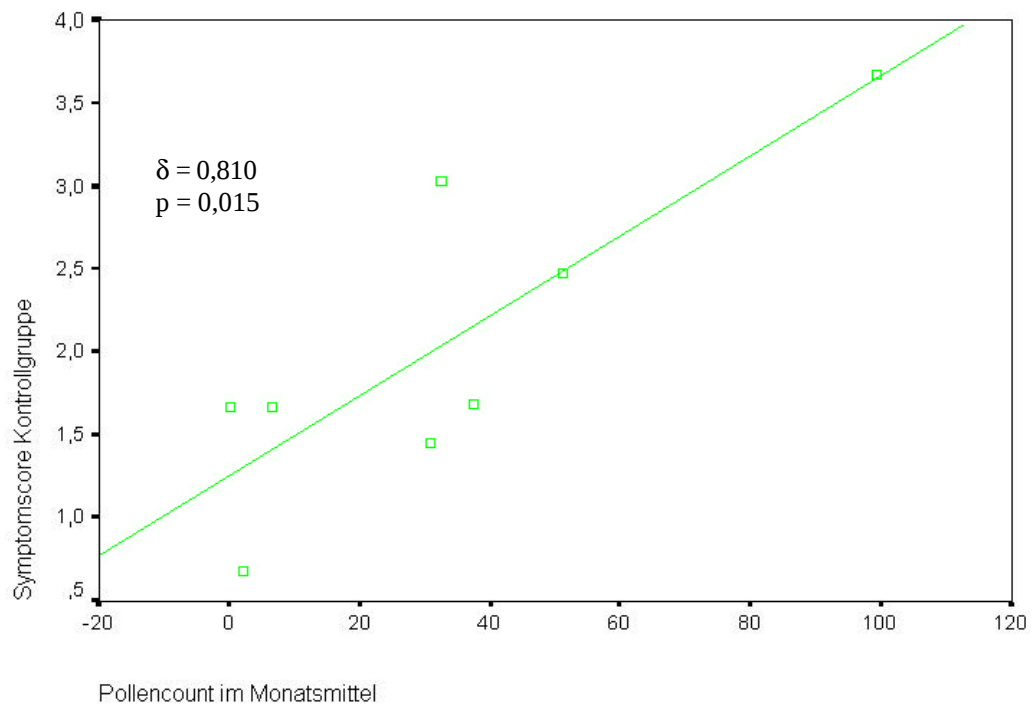


Abb.5: Kontrollgruppe: Streudiagramm Pollencount - Symptomscore

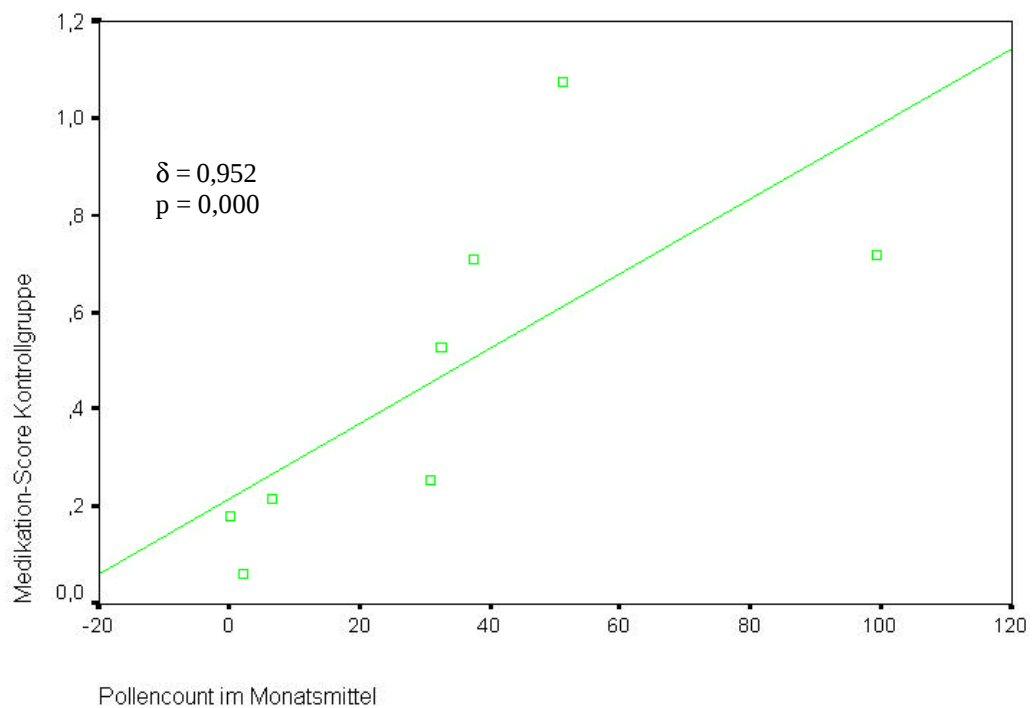


Abb.6: Kontrollgruppe: Streudiagramm Pollencount - Medikationscore

3.8 Quantitative laborchemische Untersuchungen der Zytokine

3.8.1 Interleukin-1 β

3.8.1.1 Freisetzung nach nasaler Allergenprovokation

Im Vergleich der Ausgangswerte vor Provokation sowie der Werte 8h nach Provokation, also nach artefizieller Allergenbelastung, zeigten sich in der Verumgruppe zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede:

Am Termin vor Immuntherapie lag der Wert vor Provokation etwas höher als 8h danach. Vor der ersten Pollensaison lagen die Werte erneut sehr dicht beieinander. Nach dem ersten Jahr lag der Wert vor Provokation niedriger als 8h danach. Auch vor der zweiten Pollensaison lag der Wert 8h nach Provokation etwas höher als davor. Nach dem zweiten Jahr zeigten sich nun wieder annähernd gleiche Werte. Alle Werte in der Verumgruppe lagen an den Terminen außerhalb der Saison um 5 pg/ml. (Abb. 7)

In der Kontrollgruppe hingegen lag am Termin vor Immuntherapie, also zu Beginn der Studie, der mediane Ausgangswert mit $4,49 \pm 3,4$ pg/ml signifikant niedriger als der Wert 8h nach Provokation mit $5,27 \pm 1$ pg/ml. Ansonsten ergaben sich aber auch hier keine signifikanten Unterschiede. (Abb. 8)

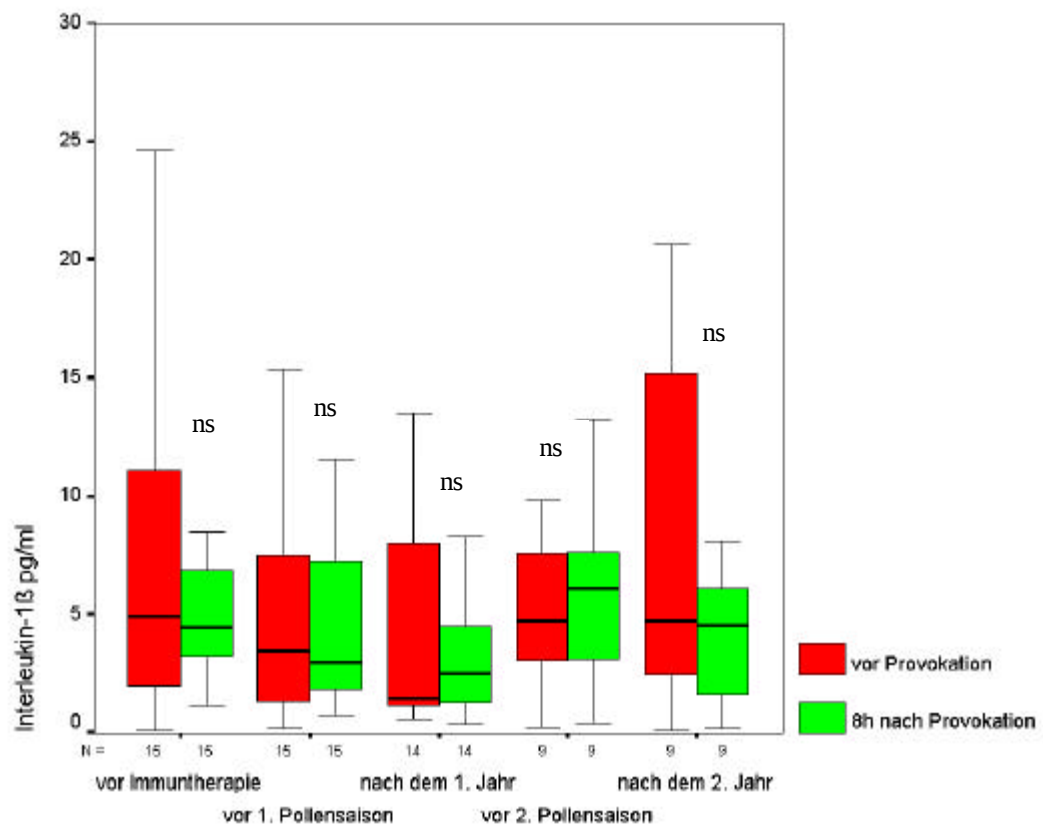


Abb.7: IL-1 β Verumgruppe

Verlauf der Proteinkonzentrationen im Nasensekret an den Untersuchungsterminen außerhalb der Saison jeweils vor und 8h nach nasaler Allergenprovokation

Erläuterung zur Abbildung: ns = nicht signifikant

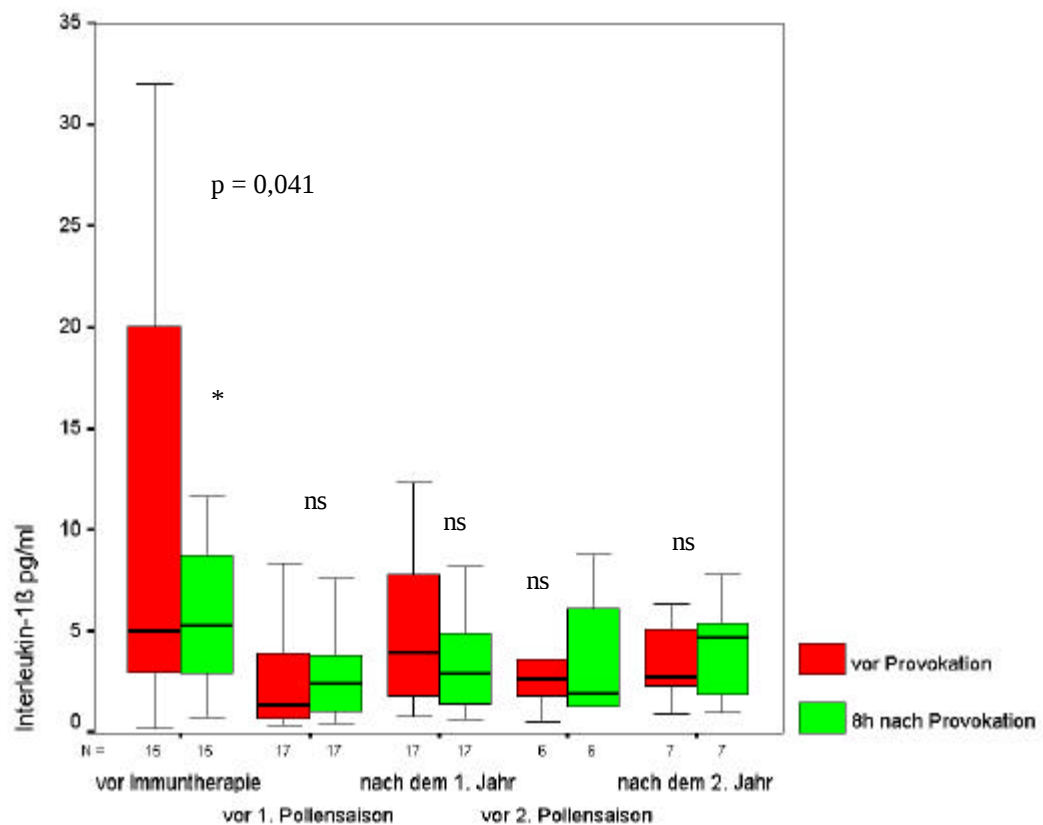


Abb.8: IL-1 β Kontrollgruppe

Verlauf der Proteinkonzentrationen im Nasensekret an den Untersuchungsterminen außerhalb der Saison jeweils vor und 8h nach nasaler Allergenprovokation

Erläuterungen zur Abbildung:

ns = nicht signifikant

** = signifikanter Unterschied ($p < 0.05$)*

3.8.1.2 Freisetzung unter natürlicher Allergenexposition

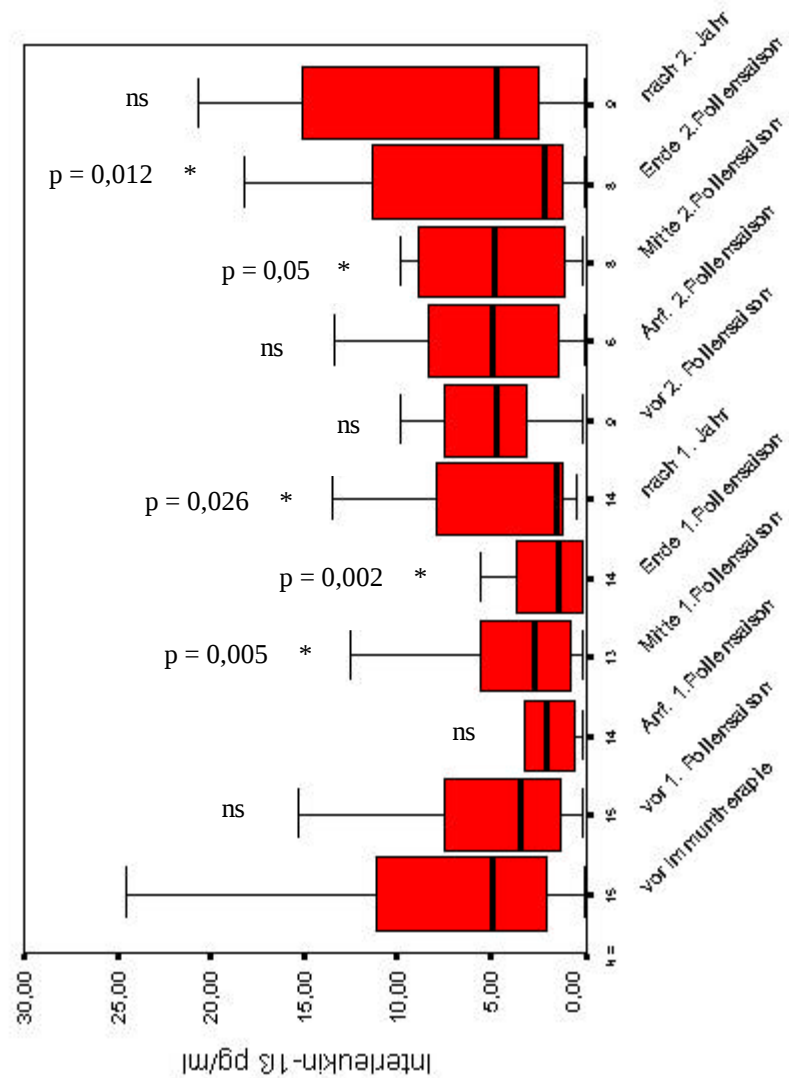


Abb.9: IL-1 β – Konzentration im Nasensekret im gesamten Verlauf der Studie

Verumgruppe

Erläuterungen zur Abbildung:

* = signifikanter Unterschied zum Wert vor Immuntherapie

ns = nicht signifikant

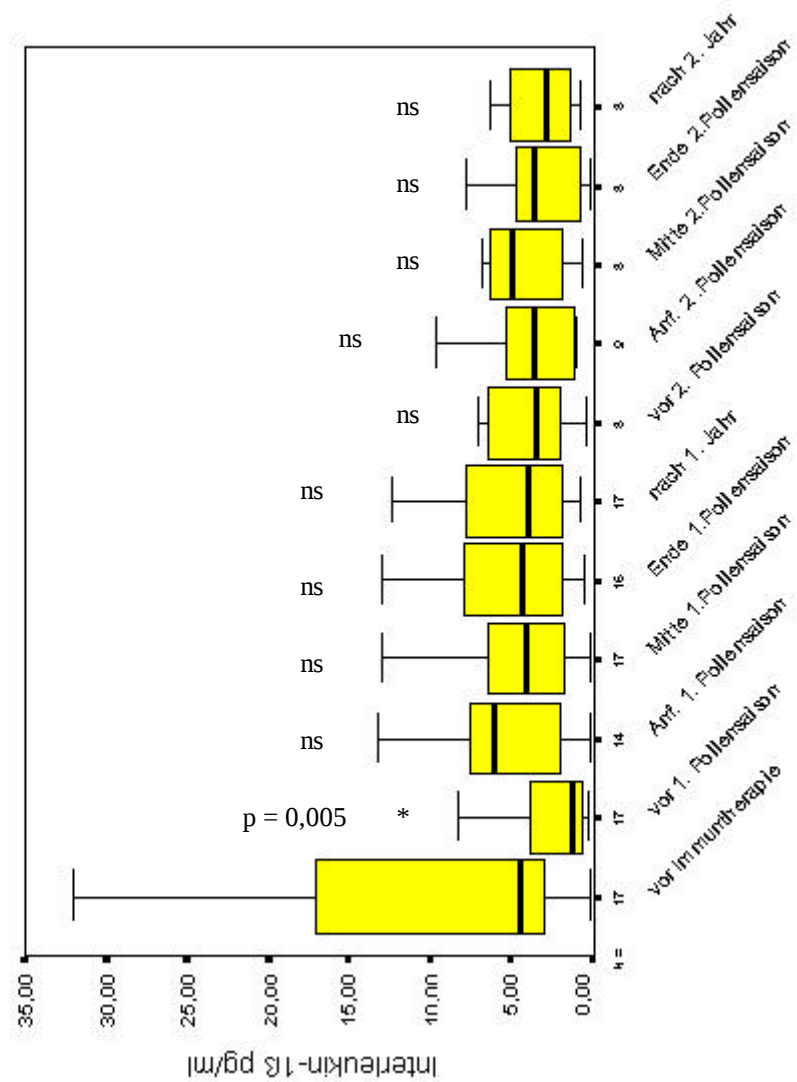


Abb.10:IL-1 β – Konzentration im Nasensekret im gesamten Verlauf der

Studie

Placebo- bzw. Kontrollgruppe

Erläuterungen siehe Abb.9

Zwischengruppenvergleich:

In der Verumgruppe zeigte sich ein Median für IL- β von $4,93 \pm 5,3$ pg/ml zu Beginn der Studie am Termin vor Immuntherapie. Es bestand hier kein signifikanter Unterschied zum Wert der Kontrollgruppe vor Immuntherapie mit $4,49 \pm 3,4$ pg/ml. Auch im weiteren Verlauf der Studie zeigte sich zunächst zwischen den Behandlungsgruppen kein signifikanter Unterschied der IL- β Werte. Erst am Ende der 1. Pollensaison zeigte sich ein signifikant höherer Wert in der Kontrollgruppe mit $4,3 \pm 2,1$ pg/ml gegenüber $1,31 \pm 1,7$ pg/ml in der Verumgruppe. Im weiteren Verlauf zeigten sich dann wieder keine signifikanten Unterschiede mehr.

Innerhalb-Gruppen-Vergleich:

Eine Betrachtung der Werte in der Verumgruppe vor Immuntherapie ($4,93$ pg/ml) mit den Werten nach der ersten Immuntherapie, zeigte zwar eine tendenzielle Abnahme der Werte, aber es ergaben sich zunächst keine signifikanten Unterschiede.

Die Werte ab Mitte der ersten Pollensaison (Mitte der 1. Pollensaison $2,64 \pm 1$ pg/ml; Ende der 1. Pollensaison $1,31 \pm 1,7$ pg/ml) bis nach der Saison (also nach dem 1. Jahr mit $1,47 \pm 1,2$ pg/ml) waren jedoch signifikant niedriger als die Anfangswerte vor Immuntherapie.

Im weiteren Verlauf der Studie zeigte sich tendenziell wieder ein leichter Anstieg der IL- β Werte mit jedoch gegenüber dem Ausgangswert wiederum signifikant erniedrigten Werten von der Mitte der 2. Pollensaison ($4,81 \pm 1,5$ pg/ml) bis zum Ende der 2. Pollensaison ($2,09 \pm 3,6$ pg/ml).

Der Wert am Studienende weit nach Abschluß der 2. Pollensaison war nicht signifikant unterschiedlich zum Ausgangswert. (Abb.9)

Eine Untersuchung in der Kontrollgruppe ergab einen signifikant niedrigeren Wert nach Placebothherapie, (vor der 1. Pollensaison $1,36 \pm 0,6$ pg/ml) im Vergleich zum Anfangswert ($4,49 \pm 3,4$).

Im weiteren Verlauf der Studie lagen die restlichen Werte wieder tendenziell höher, es zeigten sich hier jedoch keine signifikanten Unterschiede im gesamten Verlauf der zweijährigen Studie mehr. (Abb.10)

Verglich man die IL-1 β Werte der Saison 1993 mit den Werten der Saison 1994, ergaben sich weder für die Verum- noch für die Kontrollgruppe signifikante Unterschiede.

Insgesamt sah man in der Verumgruppe keine signifikanten Unterschiede vor der ersten Immuntherapie und dem Termin nach der ersten Immuntherapie (das heißt am Termin vor 1. Pollensaison), sowie vor der zweiten Immuntherapie (das heißt am Termin nach 1. Jahr) und dem Termin nach der zweiten Immuntherapie (das heißt am Termin vor 2. Pollensaison).

Auch die Werte vor der Immuntherapie und nach der zweiten Immuntherapie unterschieden sich nicht signifikant voneinander; ebenso die Werte jeweils nach Immuntherapie bzw. vor der jeweiligen Saison und die Werte nach der Saison 1993 und 1994.

Unter allen Vergleichen fiel also auf, daß nur in der Verumgruppe die Werte im Saisonverlauf signifikant abfielen und zwar um so mehr, je weiter die Saison und damit die kumulative Allergenexposition fortgeschritten war. Diese Entwicklung war in der Placebogruppe nicht erkennbar.

3.8.2 Interleukin-6

3.8.2.1 Freisetzung nach nasaler Allergenprovokation

Durch die Untersuchung der IL-6 Werte an mehreren Zeitpunkten, nämlich vor Provokation, 1h, 4h, 8h und 24h nach Provokation, ließ sich eine gewisse Regelmäßigkeit in der Freisetzung erkennen:

Es kam an allen Terminen sowohl in der Verum- als auch in der Kontrollgruppe zu einem allmählichen Ansteigen der Werte. Fast regelmäßig lagen die Gipfel 8h nach Provokation (7 von 10 Termine) am höchsten. Dabei unterschieden sich die 8h Werte in allen 7 Fällen signifikant vom Ausgangswert. Auch einige 24h Werte (6 von 10) lagen noch signifikant höher als der Ausgangswert, jedoch stellten sie nur in 1 von 6 Fällen den Höchstwert dar. In 6 von 10 Fällen lagen auch schon die 4h Werte signifikant höher als der Ausgangswert. Abgesehen von 2 Ausnahmen waren die 1h Werte typischerweise nicht erhöht.

Am letzten Untersuchungstermin waren deutlich erniedrigte IL-6 Konzentrationen in der Verumgruppe im Vergleich zu den anderen Untersuchungsterminen zu sehen. Signifikante Unterschiede wurden jedoch nicht erreicht. Des weiteren fiel ein fehlender signifikanter Anstieg nach Provokation an diesem Untersuchungstermin auf. Siehe Anhang unter 7.3, Abb.11 und 12.

3.8.2.2 Freisetzung unter natürlicher Allergenexposition

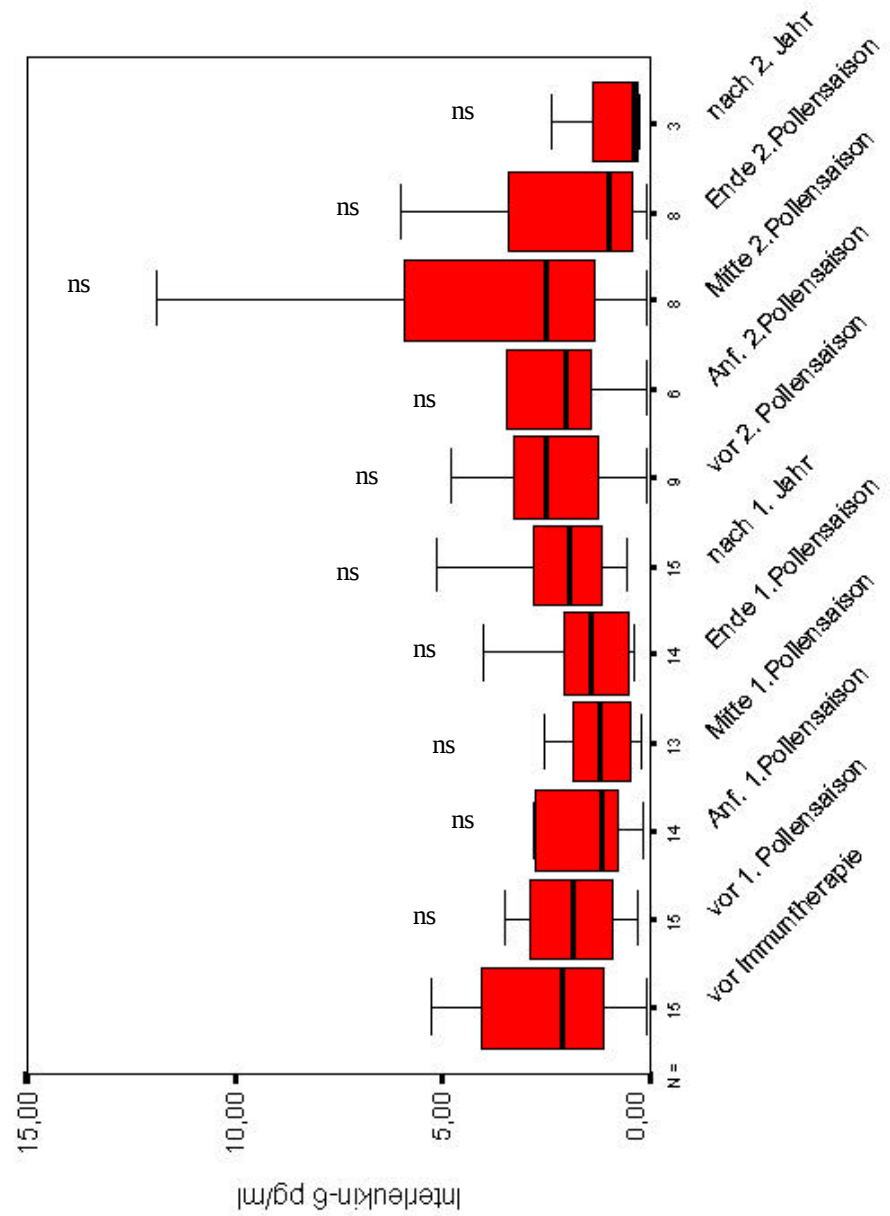


Abb.13: IL-6- Konzentration im Nasensekret im gesamten Verlauf der Studie
Verumgruppe

Erläuterungen siehe Abb.9

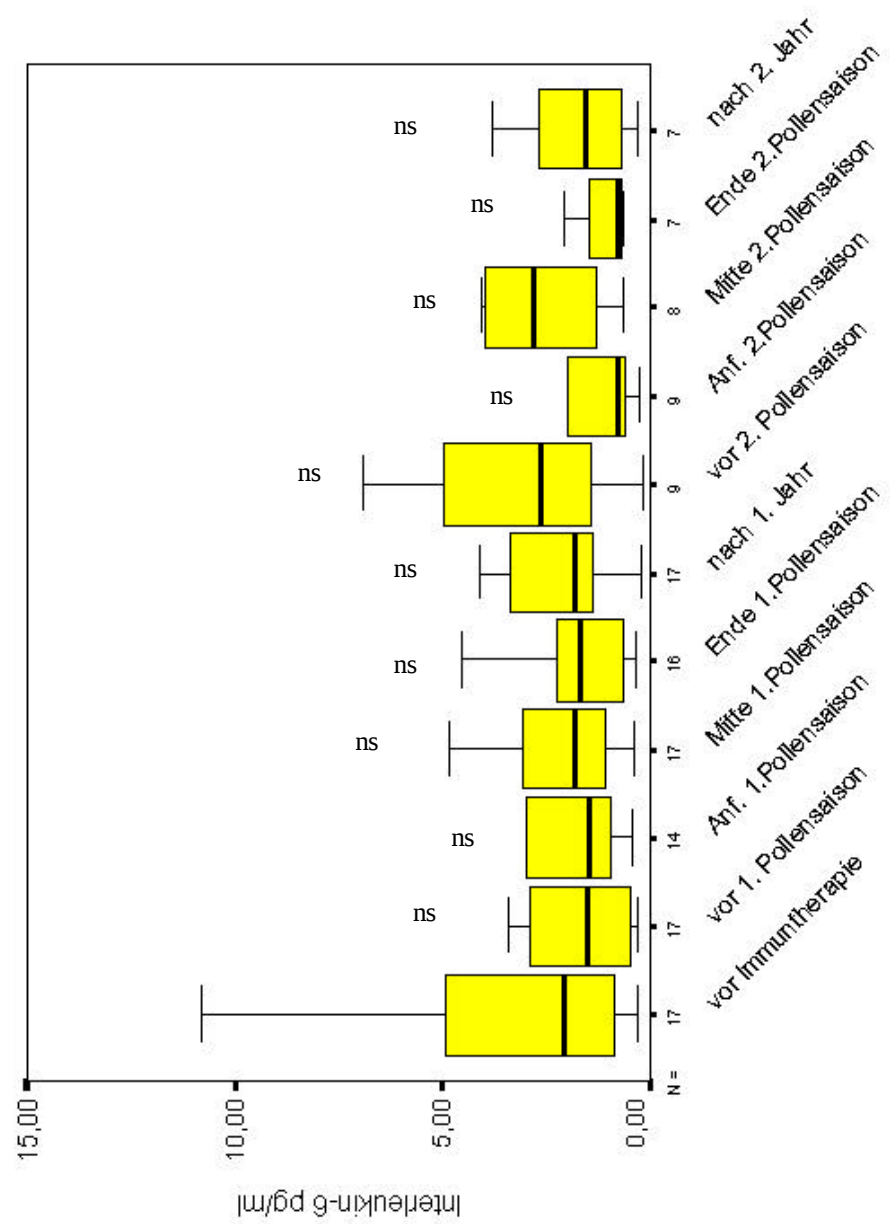


Abb.14: IL-6 Konzentration im Nasensekret im gesamten Verlauf der Studie
Placebo- bzw. Kontrollgruppe

Erläuterungen siehe Abb.9

Zwischengruppenvergleich:

Zu Beginn der Studie, also vor Immuntherapie lag in der Verumgruppe der IL-6 Wert bei $2,11 \pm 0,5$ pg/ml. Somit unterschied sich die Verumgruppe nicht signifikant von der Kontrollgruppe mit $2,06 \pm 1,6$ pg/ml. Auch im weiteren Verlauf der Studie zeigte sich zwischen den Behandlungsgruppen kein signifikanter Unterschied für IL-6.

Innerhalbgruppenvergleich:

In der Verumgruppe unterschied sich der Wert zu Beginn der Studie nicht von den Werten nach der ersten Immuntherapie (das heißt am Termin vor der 1. Pollensaison) und auch nicht von den Werten nach der zweiten Immuntherapie (am Termin vor der 2. Pollensaison).

Auch während der Saison zeigten sich die IL-6 Werte nicht unterschiedlich zum Wert vor Immuntherapie.

Zusammengefaßt bedeutet das, daß sich die IL-6 Werte in der Verumgruppe im Verlauf der Studie zu keinem Zeitpunkt vom Anfangswert der Studie unterschieden. Auch die restlichen Werte im Vergleich untereinander zeigten keine signifikanten Unterschiede.

In der Kontrollgruppe unterschied sich der Anfangswert nicht von dem Wert nach Placebothherapie (am Termin vor 1. der Pollensaison) und dem Wert nach Verumtherapie (am Termin vor 2. der Pollensaison). Auch beim Vergleich der restlichen Werte untereinander zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Auch der Umstand, daß es sich im ersten Jahr um eine Placebothherapie und im zweiten Jahr um eine Verumtherapie handelte, änderte nichts an diesen Verhältnissen. (Abb.13 und 14)

Verglich man die IL-6 Werte der Saison 1993 mit den Werten der Saison 1994 ergaben sich genau wie für Interleukin-1 β weder für die Verum- noch für die Kontrollgruppe signifikante Unterschiede.

4 **Diskussion**

Die spezifische Immuntherapie ist mittlerweile allgemein als wirksame Behandlungsmethode der allergischen Rhinitis anerkannt. Bis heute ist jedoch ihr Wirkprinzip noch nicht vollständig geklärt [4, 52, 73]. In letzter Zeit richtete sich die Aufmerksamkeit verstärkt auf Zusammenhänge zwischen allergischen und entzündlichen Veränderungen an der Nase, dem primären Erfolgsorgan der allergischen Rhinitis.

In dieser doppelblinden, placebokontrollierten Studie an 34 Gräserallergikern ist es gelungen, einen möglichen Therapieeffekt der spezifischen Immuntherapie auf die Freisetzung des Zytokins IL-1 β unter saisonaler Allergenbelastung an der Nasenschleimhaut zu zeigen, sowie ein regelmäßiges Freisetzungsmuster für IL-6 unter nasaler Provokationstestung aufzuzeigen.

Im Verlauf der zweijährigen Studie zeigen sich nur wenige Drop outs. Diese Drop outs sind nicht durch Beeinträchtigungen oder Nebenwirkungen bedingt, sondern Folge von Wohnortwechsel und Zeitaufwand.

Im ersten Jahr erreichen 12 von 17 Patienten der Verumgruppe die angestrebte Maximaldosis von 6.000 TE/ml. Trotzdem muß von einer starken Heterogenität in der therapierten Gruppe ausgegangen werden, da erhebliche Schwankungsbreiten in den individuellen kumulierten Dosen zu verzeichnen sind.

Generell sind Allergoidpräparate aufgrund ihrer verminderten Allergenität durch eine gute Verträglichkeit gekennzeichnet. Auch in dieser Studie zeigen sich unerwünschte Wirkungen nur selten und wenn, dann in geringer Ausprägung und mit abnehmender Tendenz im Therapieverlauf. Diese Beobachtungen decken sich mit den Erfahrungen anderer Arbeitsgruppen [32, 33, 61].

Trotz leicht angestiegener mittlerer Injektionszahl im zweiten Behandlungsjahr in der Verumgruppe, zeigte sich eher eine Verminderung der Anzahl und Stärke der Nebenreaktionen. Dies belegt weiterhin die gute Verträglichkeit des Allergoid-Präparates.

In der Verumgruppe waren im ersten Behandlungsjahr mehr Patienten erfolgreich in Bezug auf verbessertes Befinden und verringerten Medikamentenverbrauch als in der placebo-therapierten Kontrollgruppe. Ein therapeutischer Erfolg findet sich bei 73% der aktiv-therapierten Patienten gegenüber 60% der placebo-therapierten Patienten. Ein statistisch signifikanter Unterschied läßt sich jedoch nicht nachweisen.

Im zweiten Behandlungsjahr waren dann auch in der jetzt aktiv-therapierten Kontrollgruppe wesentlich mehr Patienten (86%) erfolgreich als im ersten Jahr nach Placebothherapie (60%). Das Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ wird hier jedoch auch nicht erreicht.

Als weiteres Maß für die klinische Wirksamkeit der Immuntherapie dienten die Patientenkalender anhand derer der Symptom- und Medikationscore berechnet wurde. Hier lassen sich weder zwischen den Behandlungsgruppen noch zwischen den beiden Behandlungsjahren in den einzelnen Gruppen signifikante Unterschiede erkennen.

Diese Ergebnisse zeigen insofern einen Kontrast zu vielen bisher publizierten Studien unter Verwendung von Allergoid-Präparaten [32, 33, 34, 70, 81], daß dort ein signifikanter Besserungseffekt nachgewiesen werden konnte. In diesen Studien standen jedoch einerseits größere Patientenkollektive zur Verfügung, andererseits wurde der therapeutische Effekt nicht an einer Placebogruppe gemessen. Eine Reihe von weiteren Umständen (Semesterferien, Impfungen, interkurrente Infekte) haben bei einigen der Patienten der Verumgruppe eine suboptimale Therapie zur Folge gehabt. Fünf von 17 Patienten erreichten die angestrebte Zieldosis nicht. Die Gruppe der verbliebenen 12 Patienten, die das anvisierte Therapieziel erreichten, ist offenbar zu klein, um statistisch signifikante Unterschiede hervorzubringen.

Weiterhin war eine nicht zufriedenstellende Compliance der Patienten beim Protokollieren der Beschwerden und Medikation im Patientenkalender zu verzeichnen. Es wurden offensichtlich häufig nachträglich Eintragungen aus dem Gedächtnis vorgenommen, die die tatsächlichen Verhältnisse nicht widerspiegeln.

Auffällig ist ein weiterer Punkt: Betrachtet man den Anteil der Probanden der Verumgruppe im ersten Jahr, der im zweiten Jahr noch vorhanden ist, so zeigt

sich, daß dort von vorneherein ein höherer Symptomscore vorliegt als in dem Anteil, der ausgeschieden ist. Trotzdem zeigt sich kein signifikanter Abfall der Symptomscores im zweiten Behandlungsjahr der Verumgruppe.

Des weiteren war die Mehrzahl der Patienten Studenten, so daß es gehäuft zu Aufhalten in anderen Klimaregionen im Rahmen von Urlaub, Famulaturen und Exkursionen in anderen Ländern kam. Dies hatte nicht nur wie bereits erwähnt, Unterschiede in der Injektionsphase zur Folge, sondern ist damit auch Ursache einer nicht mit dem Studienort vergleichbaren Gräserpollenexposition.

Die fehlende klinische Besserung im Rahmen dieser Untersuchung ist somit nicht zwingend auf eine unzureichende Wirksamkeit der gewählten Therapie zurückzuführen. Vielmehr dürften die genannten Einflußgrößen dazu geführt haben, den in anderen Untersuchungen mit demselben Präparat nachgewiesenen signifikanten positiven Effekt zu verschleiern.

Im Gegensatz zu den beschriebenen klinischen Parametern, zeigen sich, in Abhängigkeit von der Art der Allergenexposition, Effekte auf der Ebene der untersuchten Zytokine.

Die gewählte Methode der Bestimmung der Zytokine aus dem Nasensekret hat sich schon in früheren Studien [12, 13] bewährt. Auch hier zeigt sie sich als geeignet, um typische Freisetzungsmuster der Zytokine zu beschreiben, was an den reproduzierbaren Verläufen vor allem nach der nasalen Provokation für IL-6 erkennbar ist:

Die 8h nach artefizieller Allergenbelastung gemessenen IL-1 β Werte zeigen hingegen keinen signifikanten Unterschied zu den Werten vor Provokation. Für den nicht nachweisbaren Effekt der Provokation auf die IL-1 β Freisetzung nach 8h Stunden muß in Betracht gezogen werden, was zum Zeitpunkt der vorliegenden Studie noch nicht bekannt war, daß IL-1 β einen starken Anstieg v.a. in den ersten Stunden nach Allergenexposition aufweist [14]. Diese Erkenntnis hat zwischenzeitlich zur Einordnung von IL-1 β in die Gruppe der 'Alarmzytokine' geführt. Weiterhin wurde beschrieben, daß es nach dem initialen Ansteigen zu einer Normalisierung der Sekretspiegel

kommt, so daß die Werte 8h nach Provokation wieder dem Ausgangsniveau entsprechen. Wegen der begrenzten Menge an Probenvolumen, war eine an sich wünschenswerte Analyse der Kinetik nicht möglich.

Die Eignung der nasalen Provokationstestung zur Beschreibung der Freisetzungskinetik von Zytokinen zeigt sich in der vorliegenden Studie wie bereits erwähnt v.a. für IL-6. Es läßt sich ein deutlicher Effekt der Provokation auf die IL-6 Freisetzung im Nasensekret im Verlauf von 24h erkennen. An drei von fünf Terminen, in der Verumgruppe sogar an vier von fünf Terminen, zeigt sich ein signifikanter, kontinuierlicher Anstieg der IL-6 Werte nach Provokation bis zum Zeitpunkt 8h nach Provokation. Auch nach 24h sind die IL-6 Werte noch immer nicht vollständig auf den Ausgangswert zurückgegangen. Diesen Anstieg der IL-6 Werte nach Provokation mit einem Gipfel nach 6 - 8h beschreiben ebenfalls Bachert [16] und Sim [80] in ihren Studien. Auffällig sind deutlich erniedrigte IL-6 Konzentrationen in der Verumgruppe am letzten Untersuchungstermin, d.h. nach zwei Jahren spezifischer Immuntherapie. Hier fehlt auch ein signifikanter Anstieg der Werte nach Provokation. Möglicherweise ist dies durch einen dämpfenden Effekt der SIT auf die IL-6 Freisetzung im Rahmen der Provokation bedingt. Statistisch signifikante Unterschiede werden jedoch nicht erreicht.

Offenbar reicht die einmalige, punktuelle Allergenbelastung nicht aus, um die immunologischen Prozesse, die sich unter natürlicher Allergenbelastung im Verlauf einer ganzen Saison abspielen, widerzuspiegeln. Bei beiden untersuchten Zytokinen erkennt man bis auf den erwähnten Untersuchungstermin praktisch konstante Reaktionen auf die nasale Provokation, unabhängig vom Zeitpunkt im Verlauf der Studie.

Ein weiterer Beleg für diese Annahme ist die Tatsache, daß im Rahmen der saisonalen Betrachtung die IL-1 β Werte in der Verumgruppe erst nach dem zweiten Saisontermin, also erst ab Saisonmitte im Vergleich zum Ausgangswert vor Immuntherapie signifikant abfielen. Zu Saisonbeginn, nach nur kurzdauernder Allergenbelastung, war dies ebenso wie bei einer einmaligen Provokation nicht zu erkennen.

Einen Gegensatz zur einmaligen, artefiziellen Allergenexposition im Rahmen der nasalen Provokationstestung stellt die natürliche Allergenbelastung während der Pollensaison dar. Hierbei kommt es zu einer anhaltenden, kumulativen Allergenbelastung. Infolge des Priming Effektes, das heißt der gesteigerten allergisch-immunologischen Reaktionsbereitschaft nach ständig wiederkehrenden Allergenkontakten, ist unter diesen Umständen mit einer ausgeprägteren Reaktion zu rechnen wie nach einmaliger Allergenexposition. Weiterhin ist von Bedeutung, daß die Menge des in die Nase gelangenden Allergens unter natürlicher Exposition um ein vielfaches höher ist als während des nur wenige Sekunden dauernden Einsprühens der Provokationslösung während der nasalen Provokation.

Im Verlauf der zweijährigen Studie zeigt sich innerhalb der aktiv-therapierten Gruppe in beiden Behandlungsjahren unter der natürlichen, kontinuierlichen Gräserpollenexposition während der Allergiesaison von Ende April bis Ende August ein signifikanter Abfall der IL-1 β Spiegel im Nasensekret gegenüber dem Ausgangswert vor Immuntherapie. Dieser Abfall ist in der Kontrollgruppe während der Saisontermine nicht nachweisbar.

Die Abnahme der IL-1 β Spiegel während der Saison ist sowohl nach dem ersten, als auch nach dem zweiten Behandlungsjahr am Saisonende am ausgeprägtesten. Sowohl in der ersten, als auch in der zweiten Pollensaison zeigen sich erst in der Mitte und am Ende der Saison signifikant niedrigere IL-1 β Spiegel im Vergleich zum Ausgangswert. Hierbei sind die statistischen Unterschiede am Ende deutlicher ausgeprägt als zur Mitte der Saison. Diese Synchronizität mit dem Verlauf der kumulativen Allergenbelastung führt zu der Annahme, daß Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen auf Ebene der Zytokine erst dann beobachtet werden können, wenn ein gewisser Grad an Allergenbelastung vorliegt.

Ein Effekt der SIT ist in der Kontrollgruppe im Bereich der IL-1 β Werte nicht nachweisbar. Ein saisonales Absinken der IL-1 β Werte war somit in der Placebogruppe nicht vorhanden. Auffällig ist hier, daß die Kontrollgruppe, die im zweiten Jahr auch eine SIT erhielt, hierauf nicht mit einem IL-1 β -Abfall reagierte.

Im direkten Vergleich zwischen den Gruppen führt die abweichende Kinetik nicht zu signifikanten Unterschieden. Dieser beschriebene fehlende Unterschied sowie das Nichtreagieren der Kontrollgruppe im zweiten Jahr dürften einerseits durch die geringe Gruppengröße, die sich im zweiten Jahr noch weiter verringerte, mitverursacht worden sein. Zudem zeigt die Analyse des Pollenflugs, daß die Saison 1994 deutlich geringere Belastungen mit sich brachte als die vorausgegangene. Beide Faktoren tragen sicherlich dazu bei, vorhandene Effekte der nachweislich unterschiedlichen Verläufe beider Therapiegruppen im Zwischengruppenvergleich zu verschleiern.

Analog zu diesen Ergebnissen wurde in einer anderen Immuntherapie-Studie unserer Arbeitsgruppe [41] eine Verminderung der Migration von Entzündungszellen wie IgE⁺ - Zellen und eosinophilen Granulozyten nach SIT beobachtet. Hierbei zeigten sich Einwanderungsverläufe, die nahezu synchron zu der IL-1 β – Kinetik dieser Studie verlaufen: Nur in der Verumgruppe wurden vor allem zu Ende der Saison signifikant weniger Eosinophile und IgE⁺ - Zellen, die in ihrer Mehrzahl Mastzellen aber in geringer Anzahl auch basophilen Granulozyten entsprechen, auf der Schleimhautoberfläche gefunden, während in der Placebogruppe im Saisonverlauf ein kontinuierlicher Entzündungszelleinstrom nachweisbar war. Auch hier ließ sich ein Unterschied zwischen den Vergleichsgruppen unter artefizieller Allergenbelastung nicht nachweisen.

IL-6 war mit der angewandten ELISA-Bestimmungsmethode ebenfalls in allen Nasensekretproben nachweisbar. Bereits in früheren Studien waren für IL-6 deutlich erhöhte Werte im Nasensekret von Allergikern und auch von Patienten mit viraler Rhinitis nachgewiesen worden [13, 76].

Ein deutlicher Effekt der spezifischen Immuntherapie auf die IL-6 Freisetzung zeigt sich im Verlauf der zweijährigen Studie weder in der Verum- noch in der Kontrollgruppe.

Bei IL-6 handelt es sich um ein eher unspezifisches proinflammatorisches Monokin mit zahlreichen unterschiedlichen biologischen Funktionen: Es aktiviert T-Lymphozyten, kontrolliert die Differenzierung von B-Lymphozyten und malignen Plasmazellen. Des weiteren verstärkt es durch

die Stimulation von Hepatozyten die Synthese und Sekretion von Akut-Phase-Proteinen, bewirkt eine Leukozytose, Temperatursteigerung sowie eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität. Es steigert die Aktivität von natürlichen Killerzellen und zytotoxischen T-Lymphozyten.

Im Rahmen der allergischen Reaktion spielt es eine geringe Rolle bei der IL-4 abhängigen IgE-Synthese, außerdem verhindert es zusammen mit anderen Zytokinen die Synthese von IL-1 β und TNF α in Makrophagen und induziert die Bildung des IL-1 β Rezeptorantagonisten. [7, 15, 58, 88]

Im Vergleich zu anderen Zytokinen spielt IL-6 somit im Rahmen der allergischen Reaktion eine eher untergeordnete Rolle. Unsere Vorstellung, daß sich anhand dieses unspezifischen proinflammatorischen Zytokins möglicherweise die antiinflammatorische Wirkung der SIT belegen läßt, hat sich nicht realisieren lassen. Eine Therapieform, die wie die SIT einen spezifischen Effekt auf allergische Entzündungsvorgänge besitzt, reicht offensichtlich nicht aus, die IL-6 – Spiegel richtungsweisend zu beeinflussen. Da die IL-6 Freisetzung der Nasenschleimhaut auch durch andere entzündliche Vorgänge, z.Bsp. virale Infekte, beeinflussbar ist, ist IL-6 offensichtlich ein nicht ausreichend spezifischer Indikator für den Therapieeffekt einer SIT.

Zusätzlich zu den Ergebnissen unserer Studie der reduzierten IL-1 β Freisetzung während der Pollensaison, wurde in einer anderen Studie unserer Arbeitsgruppe ein ähnlicher dämpfender Effekt auf die Zytokinfreisetzung unter natürlicher Allergenexposition im Rahmen einer SIT für das Chemokin IL-8 [44, 45] und für TNF α [40] nachgewiesen. Die Zytokinspiegel von IL-8 und TNF α verbleiben in der Verumgruppe auch während der Saison auf bzw. unter dem präseasonalen Niveau, wohingegen die Werte in der Placebogruppe im Saisonverlauf deutlich ansteigen.

Der Effekt, den die SIT auf IL-1 β ausübt, bildet möglicherweise eine weitere Erklärung für das Wirkprinzip der SIT. Derzeit wird der sogenannte TH2-TH1-switch, der eine Umorientierung der T-Helferzellreaktion beschreibt [24, 25, 26, 81] als das zentrale Wirkprinzip der SIT angesehen. Allergiker reagieren auf eine Allergenexposition in erster Linie mit einer TH2-Antwort.

Diese ist durch die Freisetzung der Zytokine IL-3, IL-4, IL-5 und IL-13 charakterisiert [25]. IL-4 als repräsentativer Vertreter der TH2-Zellen spielt eine wichtige Rolle beim Isotypen-switch der B-Lymphozyten, die dadurch ihre Immunglobulin-Produktion verstärkt in Richtung IgE-Produktion verändern. Weiterhin stellt IL-4 einen Proliferationsfaktor für TH2-Zellen dar und hemmt die TH1-Antwort. IL-5 ist ein Wachstumsfaktor für Eosinophile, es führt zu deren Aktivierung und zu deren verlängertem Überleben im Gewebe durch eine Verminderung der Apoptose. Im Gegensatz zu Allergikern reagieren Nichtallergiker auf eine Antigenexposition in erster Linie mit einer TH1-Antwort, charakterisiert durch die Zytokine IL-2 und IFN γ (Interferon γ). IFN γ hemmt dabei die TH2-Reaktion auf verschiedenen Ebenen.

In einer Reihe von Studien [22, 25, 81] konnte gezeigt werden, daß es im Verlauf einer SIT bei einem Teil der Patienten zu einem Anstieg von IL-2 und IFN γ in der Haut kommt. Dies ist als Beleg dafür zu werten, daß im Rahmen der T-Zellantwort die TH1-Zellen, ähnlich wie beim Nichtallergiker, eine wichtige Rolle spielen. Gleichzeitig kommt es durch die Immuntherapie zu einer deutlich verminderten Rekrutierung CD3⁺ T-Lymphozyten sowie CD4⁺ T-Helferzellen. Diese Studien stützen somit die Annahme einer Umorientierung der T-Helferzellantwort weg von der für Allergiker typischen TH2-Antwort hin zu einer TH1-Antwort, wie sie für Nichtallergiker typisch ist.

Die Ergebnisse unserer Studie für IL-1 β und der anderen Studie für IL-8 und TNF α , stellen eine mögliche Erklärung für die Veränderungen, die die SIT auf Ebene der Zellmigration bewirkt, dar, die aber nicht als Widerspruch zum akzeptierten Modell des TH2-TH1-switchs steht.

Bei der Zellmigration sind eine Vielzahl von Adhäsionsmolekülen, Zytokinen und Chemokinen außer den bereits oben genannten involviert [7]. Adams [1] beschrieb diese komplexen Vorgänge und teilte sie v.a. aus didaktischen Gründen in vier kaskadenförmig ablaufende Einzelschritte ein. Dabei ist als Voraussetzung eine durch Entzündungsmediatoren ausgelöste Vasodilatation mit entsprechender Verlangsamung der Strömungsgeschwindigkeit des Blutes anzusehen:

Margination

Durch proinflammatorische Zytokine wie IL-1 und TNF α sowie andere Entzündungsmediatoren werden innerhalb von Minuten Selektine auf den Endothelzellen exprimiert. Selektine sind lektinartige Moleküle, deren wesentliche Aufgabe in der Einleitung der transendothelialen Migration von Entzündungszellen besteht. Sie vermögen vorbeiströmende Zellen aus dem Blut-strom herauszufangen und zunächst locker an das Endothel zu binden, so daß diese langsam an der Endothelwand entlangrollen.

Stimulation

Durch Stimulation und Triggerung der Integrine auf den Leukozyten wird deren Avidität erhöht. Integrine sind Heterodimere, die aus nicht kovalent gebundenen α - und β -Ketten zusammengesetzt sind. Sie werden auf den im Blut strömenden Zellen exprimiert. Ihre Hauptaufgabe besteht in der Anheftung der Zelle an die extrazelluläre Matrix und in der Vermittlung der späten Schritte der transendothelialen Migration von Leukozyten. Chemokine, im Verlauf der Migration von Neutrophilen spielen hier vor allem IL-8 und gro α eine wichtige Rolle, werden in der Glykokalix der Endothelzellen immobilisiert und nehmen Kontakt zu den Rezeptoren der auf der Zellwand entlangrollenden Zellen auf.

Adhäsion

Wiederum unter dem Einfluß proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 oder TNF α kommt es zur verstärkten Expression von Adhäsionsmolekülen am Endothel und von Integrinen an den vorbeiströmenden Zellen. Diese interagieren miteinander, so daß es zu einer zunehmend stärkeren Bindung zwischen den beiden bis hin zur Immobilisation der Zelle kommt. Die Zelle breitet sich dadurch flach auf der Gefäßwand aus. Die Expression der Adhäsionsmoleküle ICAM 1 (intercellular adhesion molecule) und VCAM 1 (vascular cell adhesion molecule) am Gefäßendothel ist hier von besonderer Bedeutung. Die β 2-Integrine LFA 1 (lymphocyte function associated antigen), Mac-1 und p 150,95 binden an ICAM 1, während das β 1-Integrin VLA 4 (very late antigen) an VCAM 1 bindet. β 2-Integrine kommen auf

verschiedenen Entzündungszellen vor, wohingegen VLA 4 nur auf eosinophilen und basophilen Granulozyten exprimiert wird. Die Interaktion VCAM 1 / VLA 4 kann damit als ein Beispiel für einen spezifischen Selektionsmechanismus für atopieassoziierte Zellen angesehen werden.

Transmigration

Der letzte Schritt, die Diapedese, wird ebenfalls durch Integrine sowie ICAM-1 und PECAM-1 (platelet/endothelial cell adhesion molecule) vermittelt. So kann die Zelle durch homophile Interaktionen durch die Interzellulärspalten der Endothelzellen in das Gewebe gelangen. Die weitere Wanderung innerhalb des Gewebeverbandes ist weniger genau aufgeklärt. Hier scheint ein Konzentrationsgefälle verschiedener chemotaktischer Substanzen eine Rolle zu spielen, entlang dessen Gradienten die Zellen an die Epitheloberfläche wandern. Abb.15

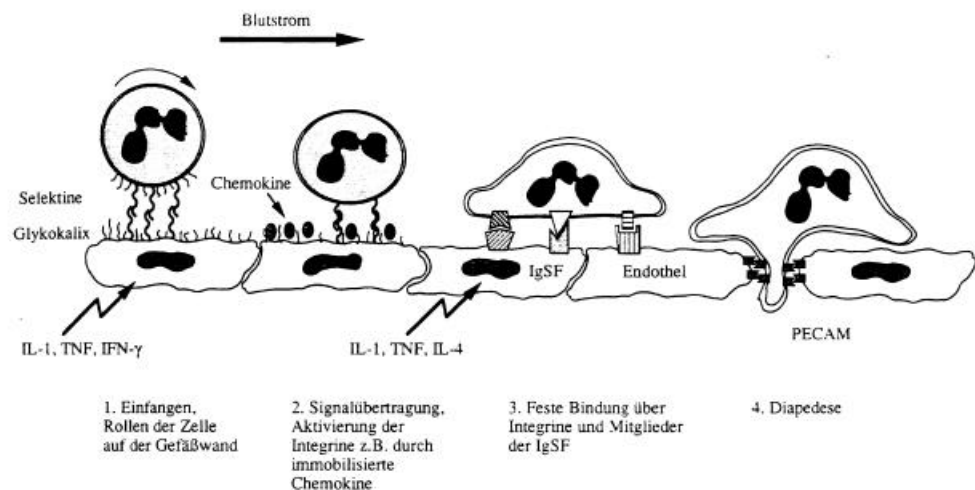


Abb.15 Die transendotheliale Zellmigration (Adhäsionskaskade)

aus: Die Schleimhaut der oberen Atemwege – Zur Pathophysiologie der Entzündung. [7]

Diese Transmigrationsvorgänge resultieren in einer Infiltration der Nasenschleimhaut mit einer Reihe von Entzündungszellen. Sowohl unter natürlicher Allergenexposition in der Pollensaison als auch nach artefizieller, nasaler Provokation läßt sich ein Einwandern von Mastzellen, basophilen, eosinophilen und neutrophilen Granulozyten, T-Lymphozyten, Makrophagen, Monozyten und epithelialen Zellen nachweisen. Von diesen Zellen spielen die eosinophilen Granulozyten und die IgE+-Zellen, die in ihrer Mehrzahl Mastzellen und Basophile darstellen, eine zentrale Rolle. Eine Reduktion dieser Zellmigration während der Pollensaison unter spezifischer Immuntherapie konnte in früheren Studien bereits nachgewiesen werden [39, 41]. Auch dort zeigte sich eine signifikante Reduktion der Zelldichte der eosinophilen Granulozyten und der IgE+-Zellen zur Saisonmitte und eine noch stärkere Reduktion zum Saisonende im Vergleich zum Ausgangswert. Am Anfang der Saison war wie in unserer Studie für IL-1 β die Reduktion zwar sichtbar, aber nicht signifikant.

Im folgenden soll auf die Bedeutung des in dieser Untersuchung im Mittelpunkt stehenden Zytokins IL-1 β auf die geschilderte transendotheliale Migration näher eingegangen werden. Weiterhin wird der Effekt der beiden Zytokine IL-8 und TNF α mitbetrachtet, die in einem anderen Teil dieser Studie untersucht wurden:

IL-1 β ist ein proinflammatorisches Zytokin, das die Sekretion anderer proinflammatorischer Zytokine induziert und B- und T-Lymphozyten aktiviert. Des weiteren induziert es die Expression der Adhäsionsmoleküle ICAM 1 und VCAM 1. VCAM 1 wiederum bindet wie bereits erwähnt selektiv an den Liganden VLA 4, der nur auf eosinophilen und basophilen Granulozyten exprimiert wird, was auf einen selektiven Migrationsmechanismus für allergieassoziierte inflammatorische Zellen hinzuweisen scheint [9, 10].

IL-8 hat außer der bekannten neutrophilenchemotaktischen Aktivität auch eine gewisse Lockwirkung auf Eosinophile, sofern diese zuvor durch andere Zytokine aktiviert worden sind [78, 79]. Eine reduzierte IL-8-Freisetzung

kann somit ebenfalls zu einer verminderten Eosinophileninfiltration beitragen [44, 45].

TNF α induziert zum einen die Freisetzung von IL-1. Zum anderen wirkt es aber auch wie IL-1 direkt auf die Zellmigration ein, indem es die Endothelzellen zur Expression von Adhäsionsrezeptoren wie E-Selektin, ICAM-1 und VCAM-1 aktiviert. Des weiteren stimuliert es die Synthese von IL-8 [7]. Somit könnte auch die verminderte TNF α Ausschüttung an der supprimierten Entzündungszellinfiltration beteiligt sein.

Zusammenfassend hat die SIT durch eine verminderte Freisetzung von IL-1 β , IL-8 und TNF α einen hemmenden Einfluß an verschiedenen Angriffspunkten der Kaskade der Entzündungszellmigration, so daß durch die Immuntherapie antiinflammatorische Mechanismen ausgelöst werden, die sich u.a. in einer reduzierten Infiltration von Entzündungszellen ausdrücken.

Des weiteren wurde in zwei Studien [56, 87] ein positiver Effekt von IL-1 β auf die Ausbildung von TH2-Zellen nachgewiesen. Ein Effekt auf die Ausbildung von TH1-Zellen oder auf die Entwicklung bereits differenzierter TH1- und TH2-Zellen konnte nicht gezeigt werden. Die in unserer Studie beschriebene Reduktion von IL-1 β während der Saison unter Immuntherapie könnte somit zusätzlich auch einen direkten Einfluß auf den TH2-TH1-switch haben.

Mit der hier festgestellten hemmenden Wirkung der SIT auf die IL-1 β Freisetzung sowie der reduzierten Freisetzung von IL-8 und TNF α zeigt sich möglicherweise eine weitere Erklärung für den Wirkmechanismus der SIT neben dem akzeptierten Modell des TH2-TH1-switchs.

5 **Zusammenfassung**

Die spezifische Immuntherapie gilt als etabliertes Verfahren zur Behandlung von allergischen Erkrankungen. Sie wirkt auf der Ebene der T-Zellen im Sinne eines TH2-TH1-Switchs und hemmt die Eosinophilenwanderung und resultiert so in einer verminderten Entzündungsreaktion. Die vorgelegte Arbeit soll die Frage beantworten, ob die spezifische Immuntherapie einen Einfluß auf unspezifische proinflammatorische Zytokine, hier stellvertretend IL-1 β und IL-6, hat.

Die vorliegende Studie wurde als doppelblinde, placebokontrollierte, randomisierte Phase IV Immuntherapie-Studie mit einem Allergoidpräparat an 34 Gräserallergikern über zwei Jahre durchgeführt.

Die Therapie wurde von allen Patienten gut vertragen, ernste Nebenwirkungen traten nicht auf. Verschiedene Parameter, die klinische Wirksamkeit betreffend, zeigten aus verschiedenen, in der Arbeit im einzelnen aufgeführten Gründen keine statistisch signifikanten Besserungen unter Therapie.

IL-1 β und IL-6 waren in allen Proben im Nasensekret mittels ELISA nachweisbar. Für IL-6 konnte unter nasaler Provokationstestung regelmäßig ein signifikanter Anstieg zum Ausgangswert innerhalb von 8–24h festgestellt werden. Es zeigte sich hier allerdings keine Veränderung unter Immuntherapie. Während der Pollensaison zeigte sich für IL-6 ebenfalls kein Therapieeffekt der Immuntherapie.

Für IL-1 β hingegen konnte unter natürlicher Allergenbelastung während der Saison ein deutlicher Effekt unter Therapie nachgewiesen werden: Sowohl während der ersten als auch während der zweiten Pollensaison fielen die IL-1 β Werte in der Verumgruppe gegenüber dem Ausgangswert vor Immuntherapie signifikant ab, während in der Placebogruppe ein solcher Abfall nicht zu messen war.

IL-1 β spielt eine wichtige Rolle bei der transendothelialen Zellmigration durch die Induktion von Adhäsionsmolekülen. Des weiteren aktiviert dieses Zytokin TH-Zellen. Die nachgewiesene Reduktion des proinflammatorischen Zytokins IL-1 β weist möglicherweise auf einen antiinflammatorischen Effekt der spezifischen Immuntherapie hin.

Zusammen mit anderen Befunden unserer Arbeitsgruppe, nach denen eine ebenfalls reduzierte Freisetzung von IL-8 und TNF α während der Saison nach Immuntherapie nachgewiesen werden konnte, zeigt sich, daß die spezifische Immuntherapie einen Einfluß auf proinflammatorische Zytokine ausübt. Möglicherweise können diese Ergebnisse eine Erklärung für eine anderenorts nachgewiesene reduzierte Zellmigration im Rahmen einer Immuntherapie liefern.

6 **Literaturverzeichnis**

1. Adams DH, Shaw S (1994)
Leucocyte-endothelial interactions and regulation of leucocyte migration.
Lancet 343: 831 – 836
2. Ärzteverband Deutscher Allergologen eV (ÄDA) (1995)
Empfehlungen zur Hyposensibilisierung mit Allergenextrakten.
Allergo J 4: 205 – 212
3. Arbeitskreis „Bronchiale und nasale Provokationstests“ der deutschen Gesellschaft für Allergie und Immunitätsforschung (1990)
Richtlinien für die Durchführung von nasalen Provokationstests mit Allergenen bei Erkrankungen der oberen Luftwege.
Allergologie 13, 2: 53 – 55
4. Albegger K (1990)
Aktuelle Aspekte der Hyposensibilisierung
HNO 38: 233 – 241
5. Albegger K (1990)
Aktuelle pathophysiologische Aspekte der allergischen Rhinitis.
HNO 38: 305 – 308
6. Allergopharma Joachim Ganzer KG
Allergovit: Gebrauchsinformation und Fachinformation
7. Bachert C (1995)
Die Schleimhaut der oberen Atemwege. Zur Pathophysiologie der Entzündung.
Eur Arch Otorhinolaryngol (Suppl. 1): 155 - 220

8. Bachert C (1995)
Wirkprinzip der Hyposensibilisierung.
HNO 43: 271 – 272
9. Bachert C, Ganzer U (1991)
Allergische Rhinitis: Zellen und Mediatoren in der Sofort- und Spätphase, Teil 1: Mastzellen und basophile Granulozyten.
Otorhinolaryngol Nova 1: 46 – 52
10. Bachert C, Ganzer U (1991)
Allergische Rhinitis: Zellen und Mediatoren in der Sofort- und Spätphase, Teil 2: Eosinophile Granulozyten und T-Lymphozyten, Makrophagen und Monozyten, neutrophile Granulozyten und epitheliale Zellen.
Otorhinolaryngol Nova 1: 69 – 74
11. Bachert C, Ganzer U (1993)
Die Rolle der proinflammatorischen Zytokine bei der Rekrutierung von Entzündungszellen an der Nase.
Laryngo Rhino Otol 72: 585 – 589
12. Bachert C, Ganzer U (1996)
Die nasale Hyperaktivität. Die allergische Rhinitis und ihre Differentialdiagnosen. Konsensusbericht zur Pathophysiologie, Klassifikation, Diagnose und Therapie.
Otorhinolaryngol Nova 6: 287 – 302
13. Bachert C, Hauser U, Prem B, Rudack C, Ganzer U (1995)
Proinflammatory cytokines in allergic rhinitis.
Eur Arch Otorhinolaryngol (Suppl. 1) 252: 44 – 49

14. Bachert C, Heppt W (1998)
Praktische Allergologie in der HNO-Heilkunde.
Thieme Verlag, ISBN: 3-13-106811-6

15. Bachert C, Seyfarth M, Plümpe S (1992)
Zellregulation durch Zytokine bei der allergischen Rhinitis.
Allergologie 15, 5: 180 – 184

16. Bachert C, Wagenmann M, Hauser U (1995)
Proinflammatory cytokines: Measurement in nasal secretion and
induction of adhesion receptor expression.
Int Arch Allergy Immunol 107: 106 – 108

17. Baroody FM, Lee BJ, Lim MC, Bochner BS (1995)
Implicating adhesion molecules in nasal allergic inflammation.
Eur Arch Otorhinolaryngol 252 (suppl 1): 50 – 58

18. Borden EC, Chin P (1994)
Interleukin-6: A cytokine with potential diagnostic and therapeutic
roles
J Lab Clin Med 123: 824 – 829

19. Bousquet J, Hatton F, Michel FB (1987)
Asthma mortality in France.
J Allergy Clin Immunol 80: 389 – 394

20. Bousquet J, Michel FB (1991)
Epidemiology and Treatment of Asthma. The European View.
Ann NY Acad Sci 629: 15 – 25

21. Burr ML (1987)
Is asthma increasing?
J Epidemiol Community Health 41: 185 – 189

22. Delneste Y, Cassalle P, Jeamin P, Joseph M, Gosset P (1994)
Histamin induces Interleukin-6 production by human endothelial cells.
Clin Exp Immunol 98: 344 – 349

23. Druce HM, Schumacher MJ (1990)
Nasal provocation challenge.
J Allergy Clin Immunol 86, 2: 261 – 264

24. Durham SR (1995)
New insights into the mechanism of immunotherapy.
Eur Arch Otorhinolaryngol 252 (Suppl 1): S64 – S67

25. Durham SR, Kay AB, Hamid QA (1995)
Changes in allergic inflammation associated with successful immunotherapy.
Int Arch Allergy Immunol 107: 282 – 284

26. Durham SR, Varney VA, Gaga M, Frew AJ, Jacobson MR, Kay AB (1991)
Immunotherapy and allergic inflammation.
Clin Exp Allergy 21 (Suppl 1): 206 – 210

27. Durham SR, Ying S, Varney VA, Jacobson MR, Sudderick RM, Mackay IS, Kay AB, Hamid QA (1996)
Grass pollen immunotherapy inhibits allergen-induced infiltration of CD4⁺ T lymphocytes and eosinophils in the nasal mucosa and increases the number of cells expressing messenger RNA for interferon- γ .
J Allergy Clin Immunol 97: 1356 – 65

28. Fiebig H (1995)
Immunologische Aspekte der spezifischen Immuntherapie (Hyposensibilisierung). Teil I: Die Steuerung der IgE-Synthese.
Allergo J 4: 336 – 339
29. Fiebig H (1995)
Immunologische Aspekte der spezifischen Immuntherapie (Hyposensibilisierung). Teil II: Die Umorientierung der T-Helferzellreaktion.
Allergo J 4: 377 – 382
30. Fiebig H (1997)
Wirkungsmechanismus der Immuntherapie mit Allergoiden.
Allergo J 6: 154 – 156
31. Fleming DH (1987)
Prevalence of asthma and hayfever in England and Wales.
Br Med J 296: 279 – 283
32. Frank E (1987)
Multicenterstudie zur Bewertung von Wirksamkeit und Verträglichkeit einer Hyposensibilisierungsbehandlung mit Allergoid-Depot mit Kurzzeitdosierungsschema.
Allergologie 10, 1: 23 – 30
33. Frank E (1988)
Frühzeitige Veränderungen klinischer und immunologischer Parameter während der Hyposensibilisierung mit Depot-Allergoid.
Allergologie 11, 9: 359 – 365

34. Frank E, Joppich B, Distler A, Cromwell O (1996)
Kurz- und mittelfristige Erfolgskontrolle nach dreijähriger
Hyposensibilisierung mit Gramineenpollen-Depot-Allergoid
(Allergovit).
Allergologie 19: 277 – 281

35. Freemann J (1914)
Vaccination against hay fever: report of results during the first three
years.
Lancet i: 1178

36. Frew AJ (1993)
Injection immunotherapy.
BMJ 307, 9: 919 - 923

37. Frew AJ (1994)
Conventional and alternative allergen immunotherapy: do they work?
are they save?
Clin Exp Allergy 24: 416 – 422

38. Fuchs T (1991)
Was ist gesichert bei der Hyposensibilisierung von IgE vermittelten
Erkrankungen?
Internist 32: 721 – 728

39. Furin MJ, Norman PS, Creticos PS (1991)
Immunotherapy decreases antigen-induced eosinophil cell migration
into the nasal cavity.
J Allergy Clin Immunology 88: 27 – 32

40. Hauser U (1997)
Erfolgreiche spezifische Immuntherapie mit Allergovit: klinische und immunologische Parameter.
24. Kongress des Ärzteverbandes deutscher Allergologen

41. Hauser U, Bachert C, Frank E (1995)
Hemmung des Einstroms von Entzündungszellen in die Nasenschleimhaut durch die allergenspezifische Immuntherapie.
Allergo J 3: 164 – 171

42. Hauser U, Bachert C, Ganzer U (1992)
Die Hyposensibilisierung führt zur Hemmung von Entzündungszellen.
Eur Arch Otorhinolaryngol (Suppl. II): 159 – 160

43. Hauser U, Bachert C, Prem B, Ganzer U (1992)
Zellwanderung und Symptomatik in der allergischen Spätphase-Reaktion der Nase.
Allergologie 15, 5: 169 – 172

44. Hauser U, Wagenmann M, Rudack C, Bachert C (1997)
Suppression der IL-8 Sekretion in das Nasensekret durch die spezifische Immuntherapie: Mögliche Ursache der gehemmten Migration eosinophiler Granulozyten?
Allergologie 20, 4: 184 – 191

45. Hauser U, Wagenmann M, Rudack C, Cromwell O, Ganzer U (1997)
Specific immunotherapy suppresses IL-1 β and IL-8 levels in nasal secretions: a possible explanation for the inhibition of inflammatory cell migration.
Otorhinolaryngol Nova 1: 31 – 39

46. Hendrich DJ (1989)
Asthma: epidemics and epidemiology.
Thorax 44: 609 – 613
47. Heppt W, Wurzer H (1995)
Zytokine bei der allergischen Rhinitis.
HNO 43: 273 – 274
48. Horak F (1993)
Seasonal allergic rhinitis. Newer treatment approaches.
Drugs 45, 4: 518 – 527
49. Jäger S (1992)
Tageszeitliche Verteilung und langjährige Trends bei
allergiekompenten Pollen.
Allergologie 13, 5: 159 – 182
50. Kleine-Tebbe J, Kunkel G (1994)
Wirkungsweise der allergenspezifischen Immuntherapie bei
inhalativen Allergien vom Soforttyp.
Allergo J 3: 9 – 35
51. Kupa A (1992)
Allergic rhinitis and immunotherapy.
Med J Aust 157: 9 – 11
52. Lask U (1990)
Nasale Allergie.
Fortschr Med 108, 12: 229 - 231

53. Löfkvist T, Agrell B, Dreborg S, Svensson G (1994)
Effects of immunotherapy with a purified standardized allergen preparation of *Dermatophagoides farinae* in adults with perennial allergic rhinoconjunctivitis.
Allergy 49: 100 – 107

54. Luger TA (1991)
Das Zytokinnetzwerk.
Allergologie 14, 5: 185 – 188

55. Malling HJ, Weeke B (1993)
Position paper: Immunotherapy.
Allergy 48 (suppl. 14): 9 – 35

56. Manetti R, Barak V, Piccinni MP, Sampognaro S, Parronchi P, Maggi E, Dinarello CA, Romagnani S (1994)
Interleukin-1 favours the in vitro development of type 2 T helper (Th2) human T-cell clones.
Res Immunol 145: 93 – 100

57. Marsh DG, Lichtenstein LM, Campbell DH (1970)
Studies on allergoids prepared from naturally occurring allergens. I. Assay of allergenicity and antigenicity of formalinized rye group I component.
Immunology 18: 705 – 722

58. Mc Hugh SM, Wilson AB, Deighton J, Lachmann PJ, Ewan PW (1994)
The profiles of interleukin-2, interleukin-6, and interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells from house-dust-mite-allergic patients: a role for interleukin-6 in allergic disease.
Allergy 49: 751 – 759

59. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin DR, Coffman RL (1986)
Two types of murine helper T cell clone.
J Immunol 136: 2348 – 2357
60. Mosmann TR, Coffman RL (1989)
TH1 and TH2 cells: Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties.
Ann Rev Immunol 7: 145
61. Mühlthaler K, Wüthrich B, Peeters AG, Terki N, Girard JP, Frank E (1990)
Zur Hyposensibilisierung der Pollinose.
Schweiz Rundschau Med 79, 14: 430 – 436
62. Mygind N, Dahl R, Pedersen S, Thestrup-Pedersen K (1996)
Increasing prevalence of atopic diseases. The cause is unknown.
Essential Allergy, 2nd Edition, Blackwell Science Ltd., Oxford, GB:
73 – 77
63. Naclerio RM (1993)
Immunologic changes after nasal provocation with allergen.
Otolaryngol Head Neck Surg 109, 3: 579 – 583
64. Noon L (1911)
Prophylactic inoculation against hay fever.
Lancet i: 1572
65. Norman PS (1996)
Current status of immunotherapy for allergies and anaphylactic reactions.
Adv Intern Med 41: 681 – 713

66. Norman PS (1988)
Immunotherapy for nasal allergy.
J Allergy Clin Immunol 81: 992 – 996

67. Ohashi Y, Nakai Y, Sakamoto H, Ohno Y, Sugiura Y, Okamoto H, Tanaka A, Kakinoki Y, Kishimoto K, Hayashi M (1996)
Serum level of interleukin-4 in patients with perennial allergic rhinitis during allergenspecific immunotherapy.
Scand J Immunol 43: 680 – 686

68. 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: 203 – 208

69. Ohashi Y, Nakai Y, Kakinoki Y, Ohno Y, Tanaka A, Masamoto T, Sakamoto H, Washio Y, Kato A (1997)
Immunotherapy effects the seasonal increase in specific IgE and interleukin-4 in serum of patients with seasonal allergic rhinitis.
Scand J Immunol 46: 67 – 77

70. Pastorello EA, Pravettoni V, Incorvaia C, Mambretti M, Frank E, Wahl R, Zanussi C (1992)
Clinical and immunological effects of immunotherapy with alum-absorbed grass pollen allergoid in grass-pollen-induced hay fever.
Allergy 47: 281 – 290

71. Paul W (1991)
IL-6: a multifunctional regulator of immunity and inflammation.
Jpn J Cancer Res 82, 6: 1458 – 1459

72. Rak S, Hakanson L, Venge P (1990)
Immunotherapy abrogates the generation of eosinophil and neutrophil chemotactic activity during pollen season.
J Allergy Clin Immunology 86: 706 – 713

73. Rasp G (1993)
Therapie der allergischen Rhinitis.
Laryngo Rhino Otol 72: 373 – 378

74. Rocklin RE (1989)
Immune mechanisms in allergen specific immunotherapy.
Clin Immunol Immunopathol 53: 119 – 131

75. Rocklin RE, Sheffer AL, Greineder DR, Melmon KL (1980)
Generation of antigen- specific suppressor cells during allergen desensitisation.
N Engl J Med 302: 1213 – 1219

76. Röseler S, Holtappels G, Wagenmann M, Bachert C (1995)
Elevated levels of interleukins IL-1 β , IL-6 and IL-8 in naturally required viral rhinitis.
Eur Arch Otorhinolaryngol 252 (suppl 1): 61 – 63

77. Rosenwasser LJ (1998)
Biologic activities of IL-1 and its role in human disease.
J Allergy Clin Immunol 102 (3): 344 – 350

78. Sehmi R, Cromwell O, Wardlaw AJ, Moqbel R, Kay AB (1993)
Interleukin-8 is a chemo-attractant for eosinophils purified from subjects with a blood eosinophilia but not from normal healthy subjects.
Clin Exp Allergy 23: 1027 – 1036

79. Shute J (1994)
Interleukin-8 is a potent eosinophil chemo-attractant.
Clin Exp Allergy 24: 203 – 206
80. Sim TC, Grant JA, Hilsmeier KA, Fukuda Y, Alam R (1994)
Proinflammatory cytokines in nasal secretions of allergic subjects
after antigen challenge.
Am J Respir Crit Care Med 149: 339 – 344
81. Tari MG, Mancino M, Ghezzi E, Frank E, Cromwell O (1997)
Immunotherapy with an alum-absorbed parietaria-pollen allergoid: a
2-year, double blind, placebocontrolled study.
Allergy 52: 65 – 74
82. Trevino RJ, Gordon PR (1993)
Allergic rhinosinusitis: The total rhinologic disease.
ENT J 72, 2: 120 – 129
83. Varney VA, Durham SR, Gaga M, Frew AJ, Kay AB (1990)
Efficacy and safety of immunotherapy in seasonal allergic rhinitis
using a potent depot grass pollen extract.
National heart and lung institute, London, UK
Clin Exp Allergy 20 (Suppl 1): 11
84. Varney VA, Gaga M, Frew AJ, Aber VR, Kay AB, Durham SR
(1991)
Usefulness of immunotherapy in patients with severe summer
hayfever uncontrolled by antiallergic drugs.
BMJ 302: 265 – 269

85. Varney VA, Hamid QA, Gaga M, Ying S, Jacobson MR, Frew AJ, Kay AB, Durham SR (1993)
Influence of grass pollen immunotherapy on cellular infiltration and cytokine mRNA expression during allergen induced late-phase cutaneous responses.
J Clin Invest 92: 644 – 51

86. Walker SM, Varney VA, Gaga M, Jacobson MR, Durham SR (1995)
Grass pollen immunotherapy: efficacy and safety during a 4-year follow-up study.
Allergy 50: 405 –13

87. Williams ME, Chang TL, Burke SK, Litchman AH, Abbas AK (1991)
Activation of functionally distinct subsets of CD4⁺ lymphocytes.
Immunol. Res. 142: 23 – 28

88. Wong GG, Clark SC (1988)
Multiple actions of interleukin-6 within a cytokine network.
Immunol Today 9: 137 – 139

89. World Health Organization Position Paper (1998)
Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases.
Allergy 55 (suppl.): 1 - 42

90. Wüthrich B (1991)
In Switzerland pollinosis has really increased in the last decades.
ACI News 3: 41 – 44

7 Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

ACE-Hemmer	Angiotensin converting enzyme Hemmer
AMG	Arzneimittelgesetz
AR	Allgemeinreaktion
BE	Biologische Einheiten
cm	Zentimeter (10^{-2} m)
CRF	Casereport form
DNCG	Dinatriumcromoglicinsäure
h	Stunde(n)
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
ICAM	intercellular adhesion molecule
IFN γ	Interferon γ
IgA	Immunglobulin A
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IgSF	Immunglobulinsupergenfamilie
IL	Interleukin
INT	Iodonitrotetrazoliumviolett
LFA	lymphocyte function associated antigen
mg	Milligramm (10^{-3} g)
min	Minute(n)
mRNA	messenger Ribonucleic acid
μ l	Mikroliter (10^{-6} l)
ml	Milliliter (10^{-3} l)
n	Anzahl der Stichproben
NaCl	Natriumchlorid
NADPH	reduziertes Nikotinsäureamid-Adenin- Dinucleotidphosphat
ns	nicht signifikant

p	Signifikanzniveau
PECAM	platelet / endothelial cell adhesion molecule
pg	Picogramm (10^{-12} g)
PRIST	Papierscheiben-Radio-Immuno-Sorbent-Test
RAST	Radio-Allergo-Sorbent-Test
δ	rho, Korrelationskoeffizient
sec	Sekunde(n)
SEM	Standard error of the mean
SIT	spezifische Immuntherapie
TE	Therapeutische Einheiten
TH	T-Helferzelle
TNF α	Tumornekrosefaktor α
VCAM	vascular cell adhesion molecule
VLA	very late antigen / Adhäsionsmolekül

7.2 Tabellarischer Anhang der Einzelwerte

Interleukin-1β Verumgruppe	Median	SEM
	[pg/ml]	[pg/ml]
vor Immuntherapie		
vor Provokation	4,93	5,26
8h nach Provo.	4,42	4,93
vor 1. Pollensaison		
vor Provokation	3,45	1,83
8h nach Provo.	2,93	2,25
Anfang 1. Pollensaison	1,98	1,98
Mitte 1. Pollensaison	2,64	0,99
Ende 1. Pollensaison	1,31	1,73
nach 1. Jahr		
vor Provokation	1,47	1,2
8h nach Provo.	2,53	0,57
vor 2. Pollensaison		
vor Provokation	4,71	1,05
8h nach Provo.	6,10	1,33

Anfang 2. Pollensaison	4,98	2,05
Mitte 2. Pollensaison	4,82	1,51
Ende 2. Pollensaison	2,09	3,62
nach 2. Jahr		
vor Provokation	4,70	2,67
8h nach Provo.	4,51	0,90

Interleukin-1β Kontrollgruppe	Median	SEM
	[pg/ml]	[pg/ml]
vor Immuntherapie		
vor Provokation	4,49	3,39
8h nach Provo.	5,27	0,98
vor 1. Pollensaison		
vor Provokation	1,36	0,58
8h nach Provo.	2,46	0,55
Anfang 1. Pollensaison	6,02	1,53
Mitte 1. Pollensaison	4,07	1,04
Ende 1. Pollensaison	4,30	2,13
nach 1. Jahr		
vor Provokation	3,93	0,82
8h nach Provo.	2,96	1,55
vor 2. Pollensaison		
vor Provokation	3,39	2,56
8h nach Provo.	2,49	1,22
Anfang 2. Pollensaison	3,53	1,91
Mitte 2. Pollensaison	4,99	0,86

80

Ende 2. Pollensaison

3,62

0,91

nach 2. Jahr

vor Provokation

2,76

2,80

8h nach Provo.

4,68

0,95

Interleukin-6 Verumgruppe	Median	SEM
	[pg/ml]	[pg/ml]
vor Immuntherapie		
vor Provokation	2,11	4,57
1h nach Provo.	3,14	0,77
4h nach Provo.	6,66	2,00
8h nach Provo.	11,75	3,81
24h nach Provo.	3,84	1,31
vor 1. Pollensaison		
vor Provokation	1,85	0,98
1h nach Provo.	1,84	0,99
4h nach Provo.	4,85	1,22
8h nach Provo.	8,74	3,58
24h nach Provo.	5,82	3,36
Anfang 1. Pollensaison	1,17	1,36
Mitte 1. Pollensaison	1,19	0,53
Ende 1. Pollensaison	1,41	0,27
nach 1. Jahr		
vor Provokation	1,96	2,27

82

1h nach Provo.	3,97	0,88
4h nach Provo.	6,12	2,47
8h nach Provo.	8,09	4,40
24h nach Provo.	3,04	1,00

vor 2. Pollensaison

vor Provokation	2,50	0,50
1h nach Provo.	3,12	0,71
4h nach Provo.	5,91	3,65
8h nach Provo.	6,65	4,76
24h nach Provo.	5,62	5,50

Anfang 2. Pollensaison	2,05	0,94
-------------------------------	------	------

Mitte 2. Pollensaison	2,51	1,46
------------------------------	------	------

Ende 2. Pollensaison	0,98	0,76
-----------------------------	------	------

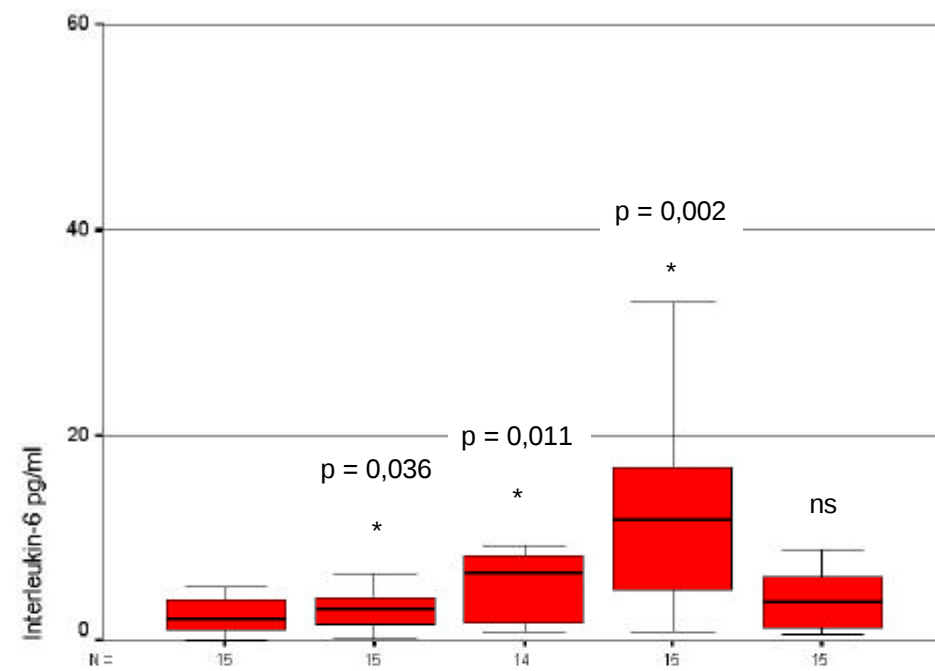
nach 2. Jahr

vor Provokation	0,38	0,69
1h nach Provo.	1,12	0,73
4h nach Provo.	2,29	0,94
8h nach Provo.	1,85	0,67
24h nach Provo.	0,71	0,32

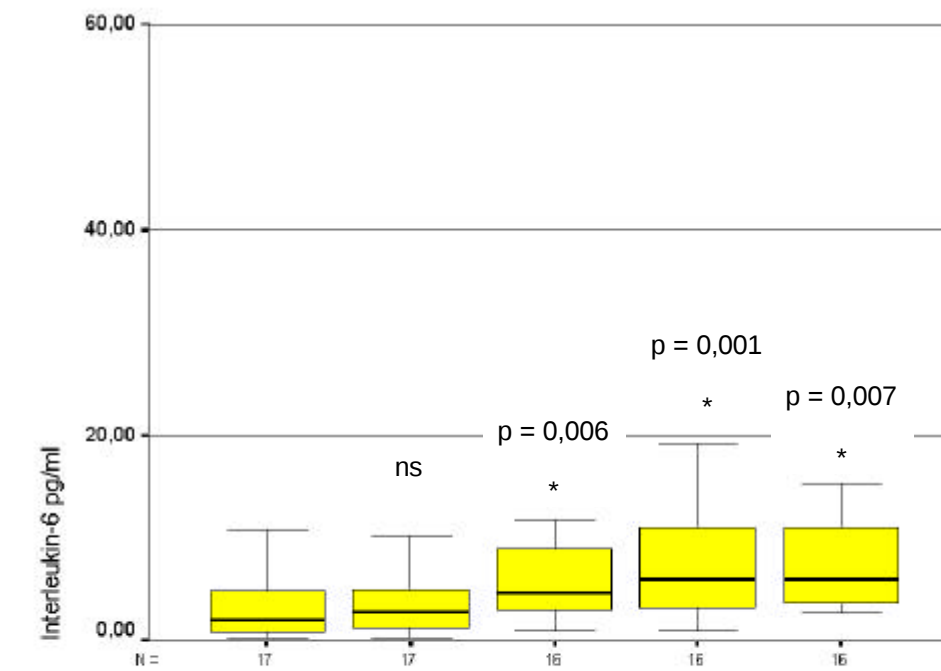
Interleukin-6 Kontrollgruppe	Median	SEM
	[pg/ml]	[pg/ml]
vor Immuntherapie		
vor Provokation	2,06	1,62
1h nach Provo.	2,82	1,88
4h nach Provo.	4,74	3,31
8h nach Provo.	6,03	5,14
24h nach Provo.	6,06	2,61
vor 1. Pollensaison		
vor Provokation	1,50	1,18
1h nach Provo.	1,48	0,53
4h nach Provo.	5,08	1,36
8h nach Provo.	7,67	2,41
24h nach Provo.	7,21	0,91
Anfang 1. Pollensaison	1,48	3,94
Mitte 1. Pollensaison	1,82	3,72
Ende 1. Pollensaison	1,71	0,52
nach 1. Jahr		
vor Provokation	1,81	1,32

1h nach Provo.	1,66	0,62
4h nach Provo.	5,87	1,74
8h nach Provo.	8,75	2,97
24h nach Provo.	5,16	2,11
vor 2. Pollensaison		
vor Provokation	2,66	0,79
1h nach Provo.	1,33	1,23
4h nach Provo.	6,08	1,38
8h nach Provo.	4,84	1,18
24h nach Provo.	7,66	5,35
Anfang 2. Pollensaison	0,77	1,13
Mitte 2. Pollensaison	2,84	9,29
Ende 2. Pollensaison	0,75	1,26
nach 2. Jahr		
vor Provokation	1,55	1,01
1h nach Provo.	2,38	2,30
4h nach Provo.	4,35	2,95
8h nach Provo.	10,60	2,06
24h nach Provo.	12,10	8,48

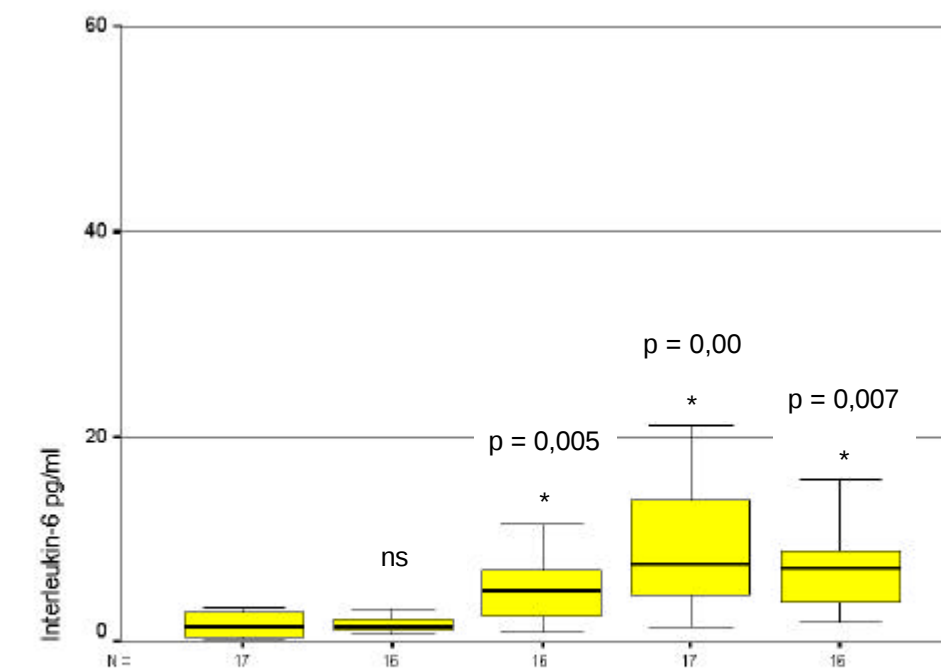
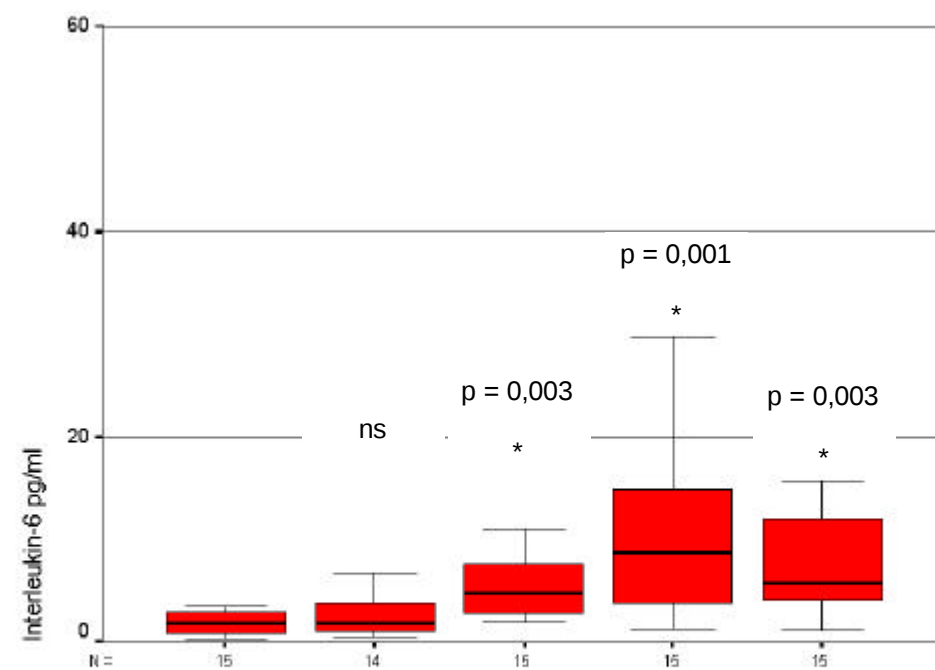
7.3 Diagramme



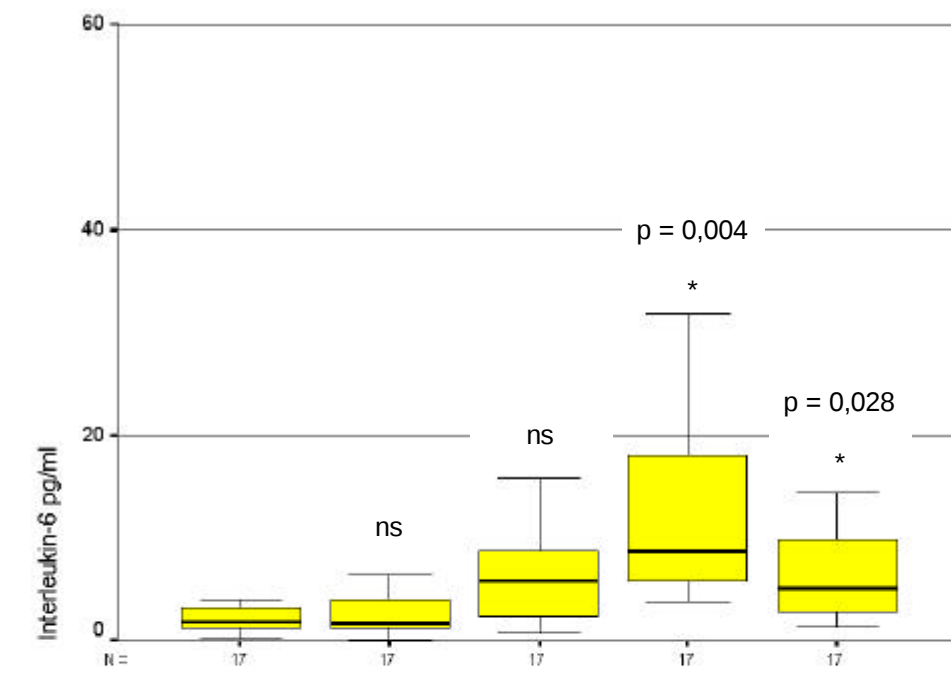
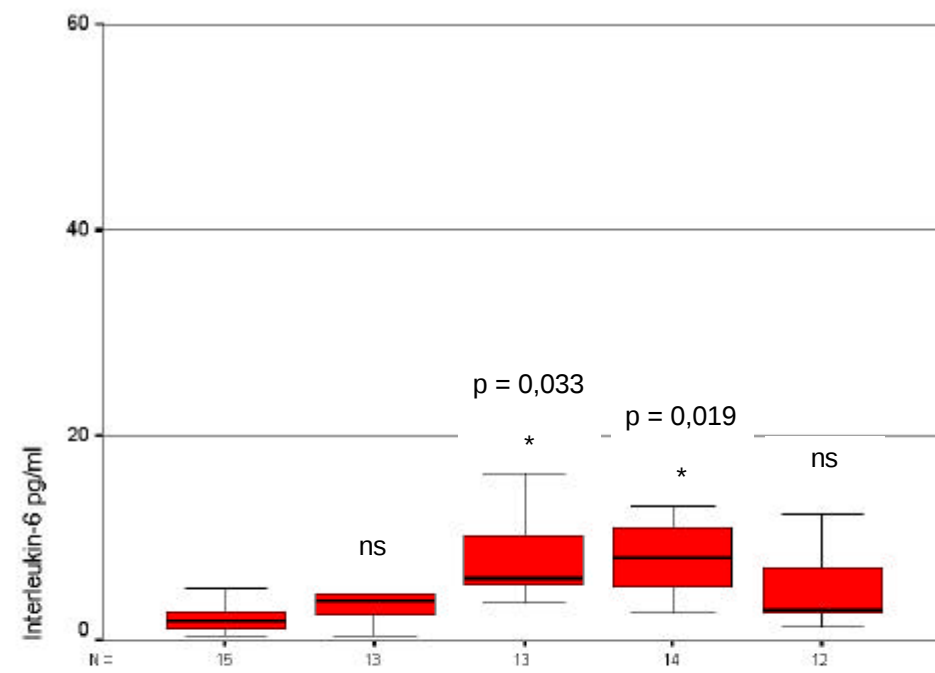
Vor Immuntherapie



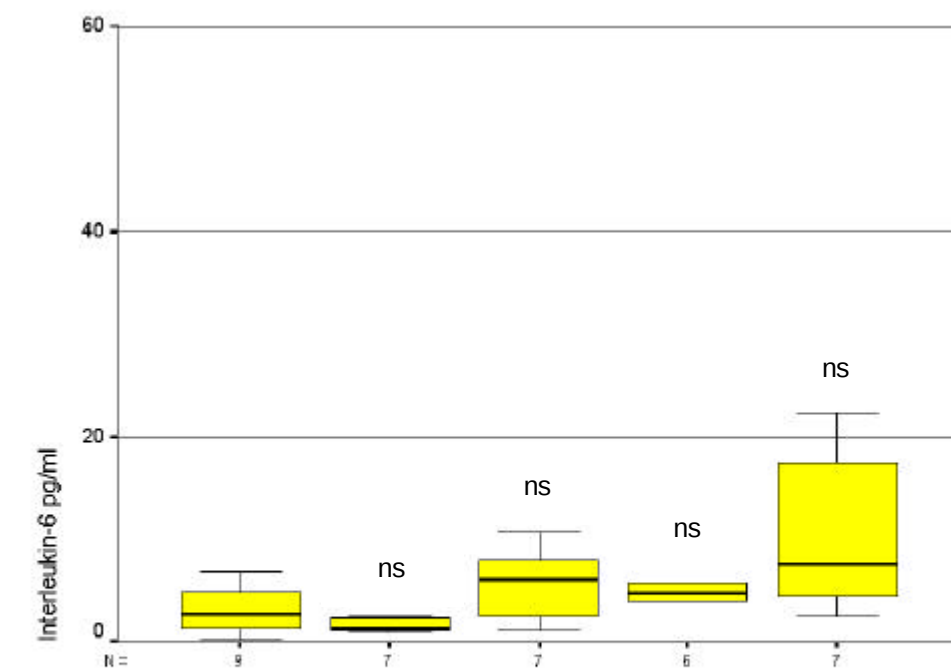
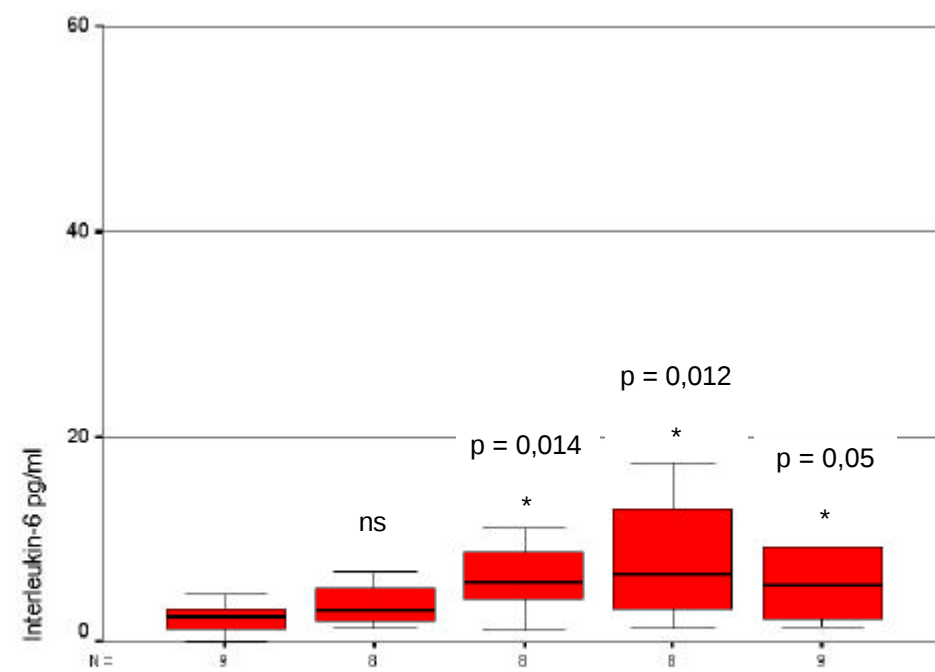
Vor der 1. Pollensaison



Nach dem 1. Jahr



Vor der 2. Pollensaison



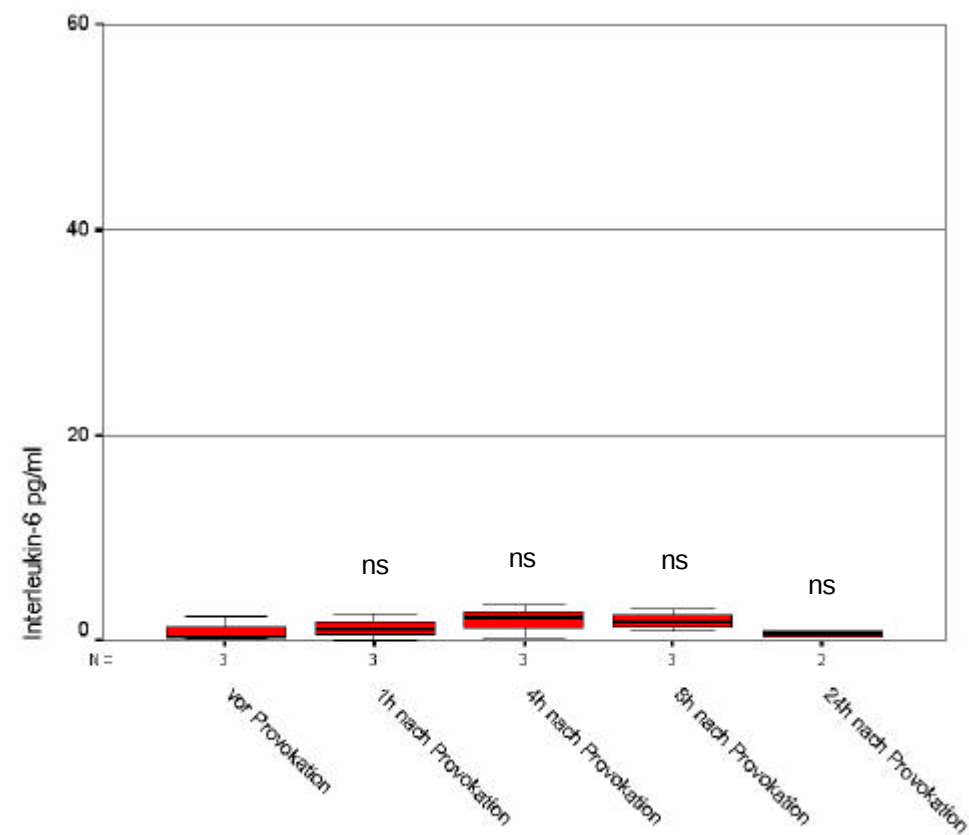


Abb.11: IL-6 Verumgruppe

Verlauf der Proteinkonzentrationen im Nasensekret an den Untersuchungsterminen außerhalb der Saison jeweils vor, 1h, 4h, 8h und 24h nach nasaler Allergenprovokation

Erläuterungen siehe Abb.8

Nach dem 2. Jahr

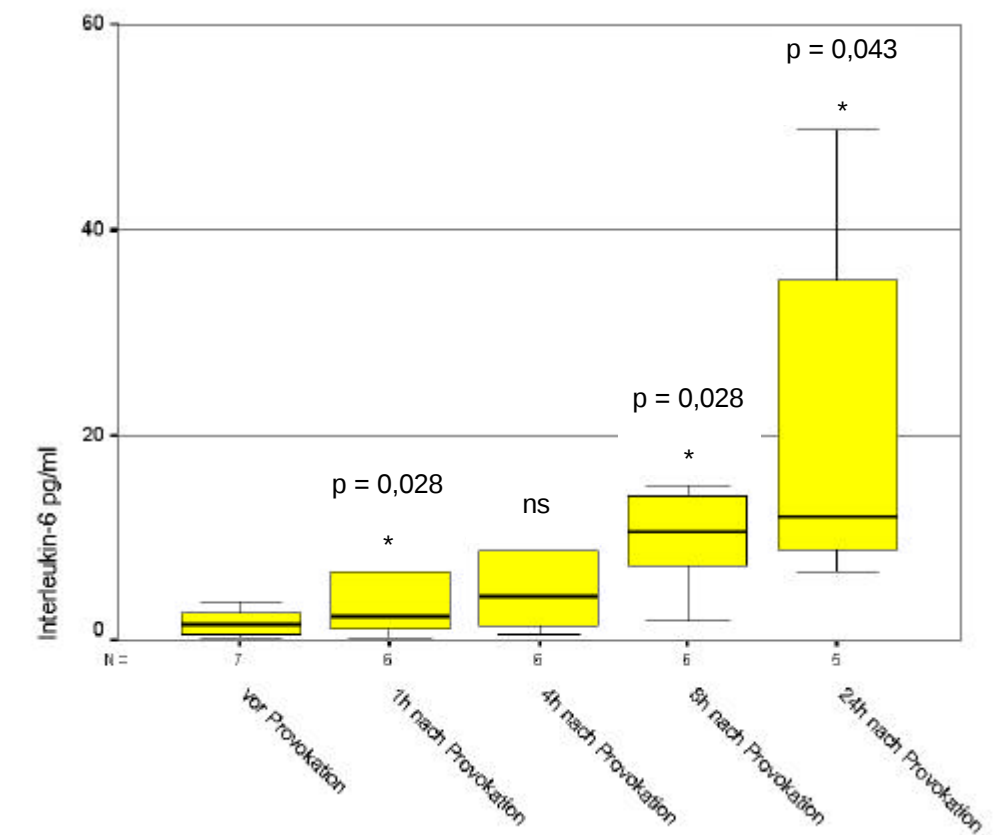


Abb.12: IL-6 Kontrollgruppe

Verlauf der Proteinkonzentrationen im Nasensekret an den Untersuchungsterminen außerhalb der Saison jeweils vor, 1h, 4h, 8h und 24h nach nasaler Allergenprovokation

Erläuterungen siehe Abb.8

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Claus Bachert für das Überlassen des Themas sowie Herrn Dr. Ulrich Hauser für die Betreuung und die unermüdliche Hilfe bei der Durchführung der Dissertation.

Lebenslauf

Name: Brigitte Faß
geboren: 24. April 1970 in Trier
Eltern: Alfons und Hildegard Faß
Geschwister: Klaus Faß
Familienstand: verheiratet seit dem 29. August 1996 mit
Dipl.-Ing. (FH) Oliver Höfler

Schulbildung:

1976 – 1980 Grundschule Trittenheim
1980 – 1986 Realschule Neumagen-Dhron
1986 – 1989 Angela-Merici-Gymnasium in Trier
Abitur am 23. Mai 1989
1989 – 1990 Pharmazeutisch-Technische-Assistenten-Schule in Trier

Medizinstudium:

1990 – 1995 Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
1995 – 1996 Ludwig-Maximilians-Universität München

Ärztliche Tätigkeit:

05/1996 – 10/1997 Ärztin im Praktikum im Kreiskrankenhaus Traunstein,
Medizinische Abteilung (Dr. Alber / Dr. Kreuzmayr);
1.11.1997 Approbation
01/ 1998 – 03/2000 Assistenzärztin im Krankenhaus Wittlich,
Abteilung Gynäkologie und Geburtshilfe (Dr. Harms);
seit 04/2000 Assistenzärztin im Mutterhaus Trier,
Abteilung Gynäkologie und Geburtshilfe (Prof. Dr. Hanker)

Trittenheim, den 25. Juni 2001

Einfluß einer allergenspezifischen Immuntherapie auf proinflammatorische Zytokine am Beispiel von IL-1 β und IL-6: Suppression der IL-1 β -Sekretion in das Nasensekret durch eine spezifische Immuntherapie

Brigitte Faß

Abstract

Die spezifische Immuntherapie gilt als etabliertes Verfahren zur Behandlung von allergischen Erkrankungen. Sie wirkt auf der Ebene der T-Zellen im Sinne eines TH2-TH1-Switchs und hemmt die Eosinophileneinwanderung und resultiert so in einer verminderten Entzündungsreaktion. Die vorgelegte Arbeit soll die Frage beantworten, ob die spezifische Immuntherapie einen Einfluß auf unspezifische proinflammatorische Zytokine, hier stellvertretend IL-1 β und IL-6, hat.

Die vorliegende Studie wurde als doppelblinde, placebokontrollierte, randomisierte Phase IV Immuntherapie-Studie mit einem Allergoidpräparat an 34 Gräserallergikern über zwei Jahre durchgeführt.

Die Therapie wurde von allen Patienten gut vertragen, ernste Nebenwirkungen traten nicht auf. Verschiedene Parameter, die klinische Wirksamkeit betreffend, zeigten aus verschiedenen, in der Arbeit im einzelnen aufgeführten Gründen keine statistisch signifikanten Besserungen unter Therapie.

IL-1 β und IL-6 waren in allen Proben im Nasensekret mittels ELISA nachweisbar. Für IL-6 konnte unter nasaler Provokationstestung regelmäßig ein signifikanter Anstieg zum Ausgangswert innerhalb von 8–24h festgestellt werden. Es zeigte sich hier allerdings keine Veränderung unter Immuntherapie. Während der Pollensaison zeigte sich für IL-6 ebenfalls kein Therapieeffekt der Immuntherapie.

Für IL-1 β hingegen konnte unter natürlicher Allergenbelastung während der Saison ein deutlicher Effekt unter Therapie nachgewiesen werden: Sowohl während der ersten als auch während der zweiten Pollensaison fielen die IL-1 β Werte in der Verumgruppe gegenüber dem Ausgangswert vor Immuntherapie signifikant ab, während in der Placebogruppe ein solcher Abfall nicht zu messen war.

IL-1 β spielt eine wichtige Rolle bei der transendothelialen Zellmigration durch die Induktion von Adhäsionsmolekülen. Des weiteren aktiviert dieses Zytokin TH-Zellen. Die nachgewiesene Reduktion des proinflammatorischen Zytokins IL-1 β weist möglicherweise auf einen antiinflammatorischen Effekt der spezifischen Immuntherapie hin.

Zusammen mit anderen Befunden unserer Arbeitsgruppe, nach denen eine ebenfalls reduzierte Freisetzung von IL-8 und TNF α während der Saison nach Immuntherapie nachgewiesen werden konnte, zeigt sich, daß die spezifische Immuntherapie einen Einfluß auf proinflammatorische Zytokine ausübt. Möglicherweise können diese Ergebnisse eine Erklärung für eine anderenorts nachgewiesene reduzierte Zellmigration im Rahmen einer Immuntherapie liefern.

gegengezeichnet: Prof. Dr. C. Bachert