

Aus der Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. Jörg Schipper

Zytokinmuster in der saisonalen allergischen Rhinitis

Der Verlauf von IL-5, IL-10, IL-16, IL-17, MCP-4 und IL-31 nach Allergenprovokation

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Matthäus Matthias Rabaszowski

(2018)

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Martin Wagenmann

Zweitgutachter: Priv.-Doz. Dr. med. Stephan Meller

Widmung

Meiner Familie.

Auflistung der Publikationen

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Geteilte Erstautorenschaft:

Baumann, R., Rabaszowski, M., Stenin, I., Tilgner, L., Scheckenbach, K., Wiltfang, J., Schipper, J., Chaker, A., Wagenmann, M. (2013). Comparison of the nasal release of IL-4, IL-10, IL-17, CCL13/MCP-4, and CCL26/eotaxin-3 in allergic rhinitis during season and after allergen challenge. *American Journal of Rhinology and Allergy*, 27(4), 266–272. <http://doi.org/10.2500/ajra.2013.27.3913>

Co-Autorenschaft:

Baumann, R., Rabaszowski, M., Stenin, I., Tilgner, L., Gaertner-Akerboom, M., Scheckenbach, K., Wiltfang, J., Chaker, A., Schipper, J., Wagenmann, M. (2013). Nasal levels of soluble IL-33R ST2 and IL-16 in allergic rhinitis: inverse correlation trends with disease severity. *Clinical & Experimental Allergy*. <http://doi.org/10.1111/cea.12148>

Baumann, R., Rabaszowski, M., Stenin, I., Gaertner-Akerboom, M., Scheckenbach, K., Wiltfang, J., Schipper, J., Wagenmann, M. (2012). The release of IL-31 and IL-13 after nasal allergen challenge and their relation to nasal symptoms. *Clinical and Translational Allergy*, 2(1), 1–1. <http://doi.org/10.1186/2045-7022-2-13>

Zusammenfassung

Die allergische Rhinitis betrifft 14,8% der gesamten deutschen Bevölkerung (Bergmann u. a., 2016). Eine erfolgreiche Therapie kann sowohl die individuellen Beschwerden lindern und zugleich große positive ökonomische Effekte für die Allgemeinheit bedeuten. Um neue therapeutische Ansätze zu schaffen, muss zunächst untersucht werden, welche Botenstoffe an der allergischen Rhinitis beteiligt sind.

Diese Arbeit beschäftigt sich mit dem zeitlichen Verlauf der Freisetzung verschiedener Zytokine sowohl systemisch als auch lokal in Patienten nach extrasaisonalen Allergenprovokation. Die durch *in vitro*-Studien hypothetisierte Beteiligung von IL-17, IL-31 und MCP-4 an der allergischen Rhinitis wurde nun zusammen mit den bereits mit dieser Erkrankung assoziierten Zytokinen IL-5, IL-10 und IL-16 *in vivo* untersucht.

Der Aufbau basiert auf der bereits in verschiedenen Studien zur allergischen Rhinitis erprobten Disk-Methode. Wir provozierten 6 Probanden mit saisonaler persistierender allergischer Rhinitis außerhalb der Allergiesaison. Während der Untersuchung wurden Serum- und Nasensekretproben gesammelt sowie die klinische Symptomatik überprüft. Jeder Proband durchlief ebenfalls eine Kontrollprovokation. Die anschließende Analyse erfolgte mit Elektrochemilumineszenz- und ELISA-Verfahren.

Unsere Studie konnte die Existenz und Veränderung von IL-5, IL-10, IL-16, IL-17, MCP-4 und IL-31 nach Allergenprovokation *in vivo* nachweisen und unspezifische Reaktionen durch Kontrollprovokation ausschließen. Sowohl systemische als auch lokale Veränderungen werden von uns beschrieben. Obwohl bereits in der Frühphase lokale Anstiege an IL-17 und MCP-4 auffielen, zeigten insbesondere IL-5, IL-10, IL-16, IL-17 und IL-31 signifikante Veränderungen in der Spätphase. Nach unserer Kenntnis handelte es sich hierbei zum Zeitpunkt der Veröffentlichung um den ersten Nachweis von IL-17, MCP-4 und IL-31 nach einmaliger Allergenprovokation bei Patienten mit allergischer Rhinitis.

Daraus geht hervor, dass die von uns mit dieser *in vivo* Technik untersuchten Mediatoren wie IL-16, IL-17 und IL-31 an der allergischen Rhinitis während der Spätphase beteiligt sind. Hieraus ergeben sich neue Forschungsschwerpunkte hinsichtlich etwa der genauen Auswirkung auf die beteiligten Zellen und somit auch das mögliche therapeutische Potential.

Summary

Allergic rhinitis affects 14.8% of the German population (Bergmann et al., 2016). A successful therapy not only benefits the individual person by decreasing their symptoms but can also have a positive economic effect on the public. To assess promising new therapies, the relevant mediators in allergic rhinitis should first be characterized.

This study examined the local and systemic release of several cytokines in patients with allergic rhinitis after an out-of-season nasal allergen challenge. We describe in our *in-vivo* experiment the suspected involvement of IL-17, IL-31, and MCP-4 in allergic rhinitis, previously reported by *in-vitro* studies, together with the commonly known allergic rhinitis-associated cytokines IL-5, IL-10, and IL-16.

We based our protocol on the previously described disc method. Six volunteers with seasonal allergic rhinitis were challenged out of season. During the investigation, blood and nasal fluid samples were collected, and clinical symptoms were recorded. Each volunteer underwent an additional allergen-free control provocation. Sample analysis was conducted by ELISA and electrochemiluminescence.

Our findings demonstrated the release and dynamics of IL-5, IL-10, IL-16, IL-17, MCP-4, and IL-31 following a reaction to an *in-vivo* allergen challenge in allergic rhinitis. Possible unspecific changes were ruled out by control challenges. Although our samples already indicated an early-phase increase of IL-17 and MCP-4 in nasal fluids after the allergen challenge, specific changes in IL-5, IL-10, IL-16, IL-17, and IL-31 were observed during the late-phase reaction. To the best of our knowledge, this study was, at the time of its publication, the first to identify IL-17, IL-31, and MCP-4 in volunteers with allergic rhinitis after a nasal allergen challenge.

According to these *in-vivo* results, we can conclude that IL-16, IL-17, and IL-31 belong to the group of mediators present in allergic rhinitis during the late phase of the allergic reaction. Our findings offer new targets for future studies to investigate the specific effects and cells affected by these cytokines in allergic rhinitis. Furthermore, they may lead to a better understanding of their therapeutic potential and offer novel means of helping patients with allergic rhinitis.

Abkürzungsverzeichnis

AK	Ausschlusskriterium	USA	<i>United States of America</i>
AR	Allergische Rhinitis	VAS	<i>Visual Analogue Scale</i>
ARIA	<i>Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma</i>	WHO	<i>World Health Organization</i>
BA	Blutabnahme		
CV	<i>Coefficient of Variation</i>		
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>		
CSF	<i>Colony stimulating Factor</i>		
DGAKI	Deutsche Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie		
EAST	<i>Enzyme allergosorbent-Test</i>		
FcεRI	<i>Fragment crystallisable Epsilon Rezeptor I</i>		
FcεRII	<i>Fragment crystallisable Epsilon Rezeptor II</i>		
HNO	Hals, Nasen und Ohren		
HRP	<i>Horse Redish Peroxidase</i>		
IFN-γ	Interferon Gamma		
Ig	Immunglobulin		
IL	Interleukin		
LLOD	<i>Lower Limit of Detection</i>		
MCP	<i>Methyl-accepting chemotaxis protein</i>		
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i>		
NaCl	Natriumchlorid		
PBS-T	<i>Phosphate Buffered Saline with Tween</i>		
RAST	<i>Radio allergosorbent-Test</i>		
RM	Rhinomanometrie		
SIT	<i>Specific Immunotherapy/ spezifische Immunotherapie</i>		
TCR	<i>T-cell receptor</i>		
Th	T-Helferzelle		
Th1	Typ 1 T-Helferzelle		
Th2	Typ 2 T-Helferzelle		
Th17	Typ 17 T-Helferzelle		
Treg	Regulatorische T-Zelle		
TNF-α	Tumornekrosefaktor alpha		

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Definition	1
1.2 Epidemiologie	1
1.3 Diagnostik	2
1.3.1 Anamnese.....	2
1.3.2 Körperliche Untersuchung.....	2
1.3.3 Allergologische Untersuchung.....	3
1.4 Therapie	5
1.4.1 Allergenkarrenz.....	5
1.4.2 Medikamentöse Therapie.....	5
1.4.3 Spezifische Immuntherapie (SIT).....	6
1.5 Pathophysiologisch beteiligte Zelltypen	7
1.5.1 Antigenpräsentierende Zellen.....	7
1.5.2 Mastzellen.....	8
1.5.3 Granulozyten.....	8
1.5.4 B-Lymphozyten.....	8
1.5.5 T-Lymphozyten.....	9
1.6 Die allergische Reaktion	11
1.6.1 Erstkontakt (Sensibilisierung).....	11
1.6.2 Zweitkontakt.....	12
2 Fragestellung	14
3 Material und Methoden	15
3.1 Genehmigung und Einverständnis	15
3.2 Probandenauswahl	15
3.3 Untersuchungsablauf	16
3.4 Untersuchungsvorbereitung	17
3.4.1 Allergenlösung.....	17
3.4.2 Nasenlavage.....	17
3.5 Untersuchungsmethoden	18
3.5.1 Diskherstellung und Aufbewahrung.....	18
3.5.2 Beladung der Allergen- und Kontrolldisk.....	19
3.5.3 Probengewinnung mittels Disk.....	19
3.5.4 Blutabnahme.....	20
3.5.5 Rhinomanometrie.....	20
3.5.6 Klinische Symptomatik.....	20
3.5.7 Sekretgewicht.....	21
3.5.8 Ausschlusskriterien.....	21
3.6 Probenverarbeitung	21
3.6.1 Diskproben.....	21
3.6.2 Serumproben.....	22
3.7 Nachweisverfahren Elektrochemilumineszenz	23
3.7.1 Einführung.....	23
3.7.2 Durchführung der Messung.....	24
3.7.3 Elektrochemilumineszenz Nachweisgrenze.....	25
3.8 Nachweisverfahren ELISA	26
3.8.1 Einführung.....	26
3.8.2 Durchführung der Messung.....	27

Inhaltsverzeichnis

3.9 Auswertung	28
Mengenberechnung.....	28
Grenzwerte und Variationskoeffizient.....	28
Statistik.....	29
4 Ergebnisse	30
4.1 Lokaler Mediatorenverlauf	30
4.1.1 IL-5.....	30
4.1.2 IL-10.....	31
4.1.3 IL-16.....	32
4.1.4 IL-17.....	33
4.1.5 MCP-4.....	34
4.1.6 IL-31.....	35
4.2 Systemischer Mediatorenverlauf	36
4.2.1 Serum IL-5.....	36
4.2.2 Serum IL-10.....	37
4.2.3 Serum IL-16.....	38
4.2.4 Serum IL-17.....	39
4.2.5 Serum MCP-4.....	39
4.2.6 Serum IL-31.....	39
4.3 Weitere Parameter	40
4.3.1 Juckreiz.....	40
4.3.2 Sekretfluss.....	41
4.3.3 Obstruktion.....	42
4.3.4 Niesen.....	43
4.3.5 Sekretgewicht.....	44
4.3.6 Rhinomanometrie.....	45
4.4 Korrelationen	46
5 Diskussion	48
5.1 Klinische Parameter	48
5.2 Methoden	49
5.3 Zytokine	52
5.3.1 IL-5.....	52
5.3.2 IL-10.....	54
5.3.3 IL-16.....	56
5.3.4 IL-17.....	58
5.3.5 MCP-4.....	60
5.3.6 IL-31.....	62
6 Schlussfolgerungen	64
7 Literatur- und Quellenverzeichnis	66
8 Anhang	76
8.1 Probandenfragebogen	76
8.2 Prick-Test	80
8.3 Probandenaufklärung	81
8.4 Probandeneinwilligung	84
8.5 Symptomscore	89
9 Danksagung	90

1. Einleitung

1.1 Definition der Allergischen Rhinitis

Die Allergische Rhinitis ist eine Erkrankung des atopischen Formenkreises, zu dem auch das Asthma bronchiale, die atopische Dermatitis und die allergische Konjunktivitis gehören. Ursächlich für diese Erkrankung ist die inadäquate Sensibilisierung gegenüber einem Antigen/Allergen apathogenen Ursprungs und darauffolgende pathologische Immunreaktion bei erneuter Exposition. Zu den klassischen Symptomen der allergischen Rhinitis werden Juckreiz (Pruritus), Niesen, erhöhter Sekretfluss (Rhinorrhoe) und erhöhter nasaler Atemwegswiderstand (Obstruktion) gezählt. Differentialdiagnostisch kommen hauptsächlich eine Rhinosinusitis, nicht-allergische Formen der chronischen Rhinitis, sowie eine mechanische Verengung der oberen Atemwege (Septumdeviation, adenotonsilläre Hyperplasie, Fremdkörper), Neoplasien, granulomatöse Erkrankungen und medikamentöse Nebenwirkungen in Betracht.

Die internationale „*Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma*“ (ARIA)-Gruppe stellt unter der Beteiligung der World Health Organization eine regelmäßig aktualisierte Leitlinie für die allergische Rhinitis vor (derzeit die Revision 2015) (Bousquet u. a., 2015). Es wird sowohl nach der Häufigkeit und Dauer der Beschwerden (intermittierend/persistierend), als auch nach der Ausprägung (moderat/schwer) unterschieden. Hiernach ist die persistierende allergische Rhinitis definiert als Erkrankung, die länger als vier Wochen mit mehr als vier Beschwerdetagen pro Woche besteht. Von einer schweren allergischen Rhinitis spricht man bei verminderter Lebensqualität des Patienten aufgrund von Schlafstörungen sowie von beruflicher/schulischer oder allgemein verringerter Leistungsfähigkeit.

Die früher gebräuchliche Einteilung nach saisonaler, perennialer (ganzjähriger) und berufsbedingter allergischer Rhinitis ist aus therapeutischer Sicht zur genaueren Bestimmung der Ursache und der geeigneten Behandlung weiterhin von klinischer Relevanz.

1.2 Epidemiologie

Die allergische Rhinitis ist eine der häufigsten Erkrankungen in industrialisierten Nationen mit in den letzten Jahrzehnten zunehmender Prävalenz. Weltweit sind

Einleitung

schätzungsweise 500 Millionen Menschen betroffen (Bousquet u. a., 2008). In Deutschland wurde 2016 eine Prävalenz von 14,8 % festgestellt (Bergmann u. a., 2016). Schoenwetter et al. schätzten die direkten und indirekten Kosten der allergischen Rhinitis in den USA 2002 auf 4,8 Milliarden Dollar (Schoenwetter u. a., 2004).

Betroffen sind alle Altersgruppen, allerdings treten erste Symptome häufig bereits in der Kindheit und Jugend auf. Prädisponierende Faktoren sind unter anderem weitere Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis, ethnische Gruppenzugehörigkeit, hoher sozioökonomischer Status, Umweltverschmutzung, später Kindergarten-/Schuleintritt sowie hoher maternaler Nikotinkonsum im ersten Lebensjahr. Protektiv hingegen wirken die frühe immunologische Auseinandersetzung mit Erregern (parasitär, bakteriell und viral) (Kaiser, 2004). In diesem Zusammenhang wird vermutet, dass eine erregerarme Umgebung in den ersten Lebensjahren zu einer gestörten Entwicklung des Immunsystems und Neigung zu atopischen Erkrankungen führen kann (Strachan, 1989). Diese 1989 geäußerte Theorie, wird durch zahlreiche Untersuchungen in den letzten Jahrzehnten gestützt und ist heute als Hygiene-Hypothese bekannt.

1.3 Diagnostik

Die Deutsche Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAKI) empfiehlt für die korrekte Diagnose der allergischen Rhinitis eine gründliche Anamnese unterstützt durch eine zielführende Diagnostik (Bachert u. a., 2006).

1.3.1 Anamnese

Die Anamnese ermöglicht die quantitative (intermittierend/persistent), qualitative (moderat/schwer) und kausale (Pollen, Hausstaubmilben, Allergene im Beruf) Einschätzung der allergischen Rhinitis. Auf auslösende Faktoren im Berufs- sowie Privatleben sollte geachtet werden. Darüber hinaus ist eine Familienanamnese und Befragung nach weiteren atopischen Erkrankungen durchzuführen.

1.3.2 Körperliche Untersuchung

Die körperliche Untersuchung dient der Überprüfung des allgemeinen Zustandes und der Suche nach Atopiekennzeichen. Die HNO-ärztliche körperliche Untersuchung besteht aus einer äußeren Inspektion, einer anterioren Rhinoskopie und einer

Einleitung

endoskopischen Untersuchung zum Nachweis typischer Veränderung in Form von geröteter und/oder hypersekretorischer Schleimhaut sowie hyperplastischen unteren Nasenmuscheln. Aufgrund von Komorbiditäten sollte auf das Vorliegen eines Asthma bronchiale, einer allergischen Konjunktivitis und einer atopischen Dermatitis geachtet werden. Zudem muss nach möglichen Differentialdiagnosen, gegebenenfalls mit dementsprechend weiteren Untersuchungsmethoden, gefahndet werden.

1.3.3 Allergologische Untersuchungen

Vor der Durchführung der Untersuchungen ist vorrangig zu beachten, dass es bei Prick-Test, Intrakutantest und nasaler Provokation selten auch zu schweren allergischen Reaktionen kommen kann. Patienten müssen hierüber aufgeklärt und während des Tests bzw. im Rahmen der Frühreaktion unter Beobachtung bleiben. Die Ausgabe von Notfallmedikamenten zur Mitnahme kann erwogen werden, da es auch Stunden nach der Provokation zur akuten Symptomatik kommen kann. Sollte der Patient bereits immunsuppressive Medikamente (Antihistaminika, systemische und topische Glukokortikoide) erhalten, kann das Ergebnis der Untersuchung verfälscht werden. Daher ist die Auswirkung dieser Mittel zu bedenken und es kann für eine korrekte Diagnostik notwendig sein, die Medikamente in diesem Zeitraum abzusetzen.

Bei Verdacht auf allergische Rhinitis sollte sich der Anamnese und körperlichen Untersuchung zunächst ein Prick-Test anschließen. Hierbei wird eine Sofortreaktion vom Typ 1 überprüft. Allergenlösungen werden auf die Haut des Patienten aufgetragen und die Haut an diesen Stellen anschließend mit einer Metallnadel durchstoßen. Es können eine Vielzahl von Allergenen (Milben/Pollen/Tierhaar) gemeinsam mit einer Positiv- (Histaminlösung) und Negativ-Kontrolle (NaCl-Lösung) getestet werden. Die Hautreaktion wird nach 15 - 20 Minuten ausgewertet. Eine Rötung und Quaddelbildung mit einem Durchmesser größer als 3 Millimeter entspricht einer positiven Reaktion.

Bei einem fraglichen Prick-Test kann ein Intrakutantest erwogen werden. Hierbei wird bei zuvor schwacher allergischer Reaktion im Prick-Test zur positiven Bestätigung eine sterile Allergenlösung intrakutan gespritzt. Analog zum Prick-Test wird eine allergische Reaktion um die Einstichstelle nach vorgegebener Zeit überprüft.

Die *in vitro*-Diagnostik ist eine weitere Untersuchungsmethode mit klinischer Bedeutung. EAST (Enzymallergosorbent-Test) oder RAST (Radioallergosorbent-Test)

Einleitung

bieten die Möglichkeit, Allergen-spezifisches IgE im Serum zu bestimmen. Dafür werden Proben des Patienten in speziellen Mikrotiterplatten inkubiert. Falls im Serum spezifisches IgE für das untersuchte Allergen vorhanden ist, wird dieses gebunden. Andere Antikörper und Serumbestandteile werden durch Waschen der Platte entfernt und die Platte wird anschließend mit enzybeladenen Anti-IgE-Antikörpern inkubiert. Zur Quantifizierung dient eine Substratreaktion, durch die sich die Absorptionseigenschaften abhängig von der IgE-Konzentration innerhalb einer festgelegten Zeit verändern, auf diese Weise kann man auf die Konzentration rückschließen. Mit diesen weiteren Untersuchungen kann ein zuvor im Verhältnis zu den Beschwerden schwaches oder widersprüchliches Ergebnis des Prick-Tests überprüft werden. Auch bei der EAST und RAST kann es, abgesehen von den höheren Kosten, zu falsch positiven und falsch negativen Ergebnissen kommen. Prinzipiell ist die Durchführung aber meistens erst im Anschluss an den Prick-Test zur weiteren Abklärung sinnvoll, wenn die vorherigen Untersuchungen kein klares Ergebnis geliefert haben. In einzelnen begründeten Fällen können diese Tests allerdings auch bereits vor oder statt den Hauttests erwogen werden. Mögliche Gründe hierfür können beispielsweise Kleinkinder oder Hautveränderungen, die einen Prick-Test erschweren, sein.

Bei einem Prick-Test, wie auch bei EAST und RAST, sind positive Ergebnisse kein Beweis für eine allergische Rhinitis, sondern nur der Nachweis einer allergischen Sensibilisierung. Auch die Ausprägung der Reaktion auf ein Allergen in den Tests korreliert nicht zwingend mit dessen klinischen Bedeutung. Die Durchführung einer nasalen Provokation und die Beobachtung der dadurch ausgelösten Reaktion hilft, die Rolle eines bestimmten Allergens für das Beschwerdebild des Patienten weiter zu klären. Dafür wird dem Patienten ein Allergenkonzentrat in zunächst niedriger und, falls gesundheitlich möglich, in stufenweise ansteigender Dosierung nasal über einen Zerstäuber verabreicht. Im Anschluss erfolgt die Messung der Symptome und des nasalen Atemflusses (*Flow*). Bei positivem Ergebnis ist eine Zunahme der Symptome und eine Abnahme des nasalen *Flows* zu erwarten. Als Negativkontrolle zum Ausschluss einer unspezifischen Reaktion muss auch eine Provokation mit NaCl erfolgen.

1.4 Therapie

Die Therapie der allergischen Rhinitis basiert auf mehreren Ansätzen, um die bestmögliche Beschwerdefreiheit des Patienten bei möglichst geringen Einschränkungen und Nebenwirkungen zu gewährleisten. Die Allergenkarenz, die lokale und systemische antiinflammatorische und/oder rein symptomatische Therapie sowie die allergenspezifische Immuntherapie (SIT) sind Grundbausteine dieses Behandlungskonzepts, die den Beschwerden entsprechend eingesetzt werden können.

1.4.1 Allergenkarenz

Eine reduzierte Exposition gegenüber den Allergenen führt bei den Betroffenen in der Regel zu einer deutlichen Verbesserung der Beschwerden. Die durchzuführenden Maßnahmen sind an die Ergebnisse der Anamnese und Untersuchung anzupassen. Bei Hausstaubmilbenallergie wird unter anderem eine niedrige Luftfeuchtigkeit in Wohn- und Arbeitsräumen, regelmäßige Reinigung von Oberflächen, Textilien und Teppichböden zur Staubreduktion sowie hypoallergene Bettwäsche empfohlen. Bei pollenflugabhängigen Beschwerden sollten sich die Patienten während der symptomatischen Jahreszeiten nach Möglichkeit drinnen aufhalten und Türen und Fenster geschlossen halten. Falls allergische Symptome durch die eigenen Haustiere verursacht werden, ist die Weggabe des Tieres zielführend. Die Reduktion allgemeiner Noxen (z.B. Zigarettenrauch) ist in den meisten Fällen ebenfalls hilfreich.

1.4.2 Medikamentöse Therapie

Die medikamentöse Therapie wird in topische und systemische Maßnahmen eingeteilt. Im Allgemeinen sind topische Medikamente aufgrund guter Zugänglichkeit der nasalen Atemwege mit Zerstäubungssystemen, sowie guter lokaler Wirkung bei niedrigem Nebenwirkungsprofil, als Anfangstherapie zu wählen.

Mittel der ersten Wahl zur schnellen Reduktion von Beschwerden und zur regelmäßigen Einnahme sind lokale und orale Antihistaminika. Innerhalb kürzester Zeit (Wirkeintritt bei topischer Applikation nach 15 Minuten und bei oraler Einnahme nach weniger als 60 min) kommt es zur Abnahme von Juckreiz, Schnupfen und Sekretfluss. Orale Antihistaminika besitzen durch ihre systemische Wirkung jedoch einen besseren Effekt auf Begleiterkrankungen der allergischen Rhinitis, wie die allergische Konjunktivitis.

Einleitung

Zu beachten ist, dass Antihistaminika der ersten Generation eine sedierende Wirkung haben und daher auf Zweitgenerations-Präparate zurückgegriffen werden sollte. Jedoch wurden auch bei diesen moderneren Medikamenten sedierende Effekte in geringerer Ausprägung beschrieben. Trotz dieser Nebenwirkung weisen Antihistaminika im Allgemeinen geringe systemische Nebenwirkungen auf.

Neben Antihistaminika gehören topische Glukokortikoide ebenfalls zu den Mitteln der ersten Wahl. Sie bieten eine sehr gute Wirkung und Verbesserung der Lebensqualität bei ausbleibenden systemischen Nebenwirkungen. Eine regelmäßige Anwendung über mehrere Tage ist für einen immunsuppressiven Effekt durch reduzierte Synthese proinflammatorischer Zytokine in der Nasenschleimhaut notwendig. Die systemische Anwendung der Glukokortikoide ist nur in Sonderfällen indiziert und ist, aufgrund des ausgeprägten Nebenwirkungsprofils bei regelmäßiger Einnahme, der topischen Applikation unterlegen.

Als weitere Therapieoptionen können Cromone und Dekongestiva zur Anwendung kommen. Cromone stellen eine ungefährliche lokale medikamentöse Behandlung dar, besitzen aber keine den oben genannten Wirkstoffgruppen vergleichbare Wirkung, und müssen darüber hinaus mehrmals täglich angewendet werden. Sie wirken vor allem prophylaktisch und haben bei bereits bestehender Symptomatik nur einen geringen Effekt. Daher wird die Einnahme bereits mehrere Wochen vor Beginn der Beschwerdezeit empfohlen. Bei Beachtung dieser Regel können Cromone zur Reduktion der Symptome beitragen.

Dekongestiva wirken durch Vasokonstriktion sehr gut abschwellend auf die Schleimhäute und eignen sich zur kurzfristigen Anwendung. Eine regelmäßige Nutzung birgt jedoch die Gefahr einer medikamenten-induzierten Rhinitis.

1.4.3 Spezifische Immuntherapie (SIT)

Die Hyposensibilisierung stellt eine zusätzliche Maßnahme bei lange bestehenden moderaten bis schweren Beschwerden dar und ist der derzeit einzige kurative Ansatz zur Therapie der allergischen Rhinitis. Durch eine in der Konzentration langsam ansteigende subkutane Applikation einer Allergenlösung wird bestenfalls eine Beschwerdefreiheit oder zumindest eine Beschwerdelinderung erreicht. Hierzu trägt insbesondere die Zunahme an peripheren Treg-Zellen bei. Diese Zellen reduzieren die

Einleitung

Aktivität von Th1- und Th2-Lymphozyten, sowie von Mastzellen und Granulozyten. Der zudem eingeleitete Isotypenswitch der B-Lymphozyten verhindert maßgeblich die Einleitung der Sofortreaktion. Die aktivierten B-Lymphozyten beginnen, IgG4 anstatt IgE zu produzieren. Dieses allergenspezifische IgG4 fängt nun die Allergene mit anschließender Phagozytose durch Makrophagen ab, wodurch diese Allergene von IgE nicht mehr gebunden werden können. Als Folge bleibt die Mastzelldegranulation und somit die allergische Reaktion trotz Allergenexposition aus (Ozdemir u. a., 2011). Da dieser Effekt aber erst nach einer mehrjährigen Therapie mit regelmäßigen Verabreichungen erreicht werden kann, ist die *Compliance* des Patienten ein sehr entscheidender Faktor für den Erfolg. Der Patient muss über den späten Eintritt eines Effektes explizit aufgeklärt werden. Um die Erfolgsquote weiter zu verbessern, stehen heute auch sublinguale Immuntherapien zur Verfügung, die bei konsequenter eigenständiger Therapieeinhaltung durch den Patienten eine Alternative zur subkutanen Injektion durch den Arzt darstellen.

1.5 Pathophysiologisch beteiligte Zelltypen

An dem Krankheitsbild der allergischen Rhinitis sind eine Vielzahl verschiedener Zelltypen der leukozytären Zellreihe beteiligt. Hierzu zählen antigenpräsentierende Zellen, Mastzellen, Granulozyten sowie T- und B-Lymphozyten.

1.5.1 Antigenpräsentierende Zellen

Antigenpräsentierenden Zellen, zu denen Makrophagen und dendritische Zellen gehören, dienen der Phagozytose von Stoffen in der Peripherie und der anschließenden Präsentation für das adaptive Immunsystem über MHC-Klasse-II-Rezeptoren. Durch Bindung von CD4⁺-Zellen, wie den Th-Lymphozyten, sowie weiterer Lymphozyten an die membranständigen MHC-Klasse-II-Rezeptoren aktivieren antigenpräsentierende Zellen die adaptiven Immunreaktion. Daher sind diese Zellen wichtig für die Sensibilisierung und Aktivierung des Immunsystems im Rahmen atopischer Erkrankungen.

Einleitung

1.5.2 Mastzellen

Mastzellen sind gewebsständige Zellen. Sie werden durch allergenspezifisches IgE, das mit der konstanten Domäne an die hochaffinen FcεRI-Rezeptoren gebunden ist, gegen ein spezifisches Allergen sensibilisiert. Bei Kontakt kommt es zur Kreuzvernetzung der Rezeptor-Immunglobulin-Komplexe und daraufhin zur Ausschüttung proinflammatorischer Mediatoren. Mastzellen leiten daher die Sofortreaktion bei Zweitkontakt ein.

1.5.3 Granulozyten

Eosinophile und basophile Granulozyten werden durch Chemotaxis in das entzündete Gewebe rekrutiert. Sie führen während der Spätphase die initiale Mediatorenausschüttung durch die Mastzellen im Gewebe fort und halten so die allergische Reaktion aufrecht. Besonders das durch Effektorzellen sezernierte IL-5 führt zur chemotaktischen Anziehung und Hemmung der Apoptose von eosinophilen Granulozyten im entzündeten Gewebe und verlängert hierdurch die Inflammation.

1.5.4 B-Lymphozyten

B-Lymphozyten sind ein entscheidender Bestandteil der adaptiven Immunantwort. Sie produzieren Antikörper (Immunglobuline), die aus konstanten und variablen Abschnitten zusammengesetzt sind. Die variable Region entwickelt sich durch die somatische Rekombination, so dass ein B-Lymphozyt als Folge seiner Zellreifung Antikörper mit spezifischer variabler Region gegen ein einziges Epitop sezerniert. Die konstante Region, dient der Konfiguration des Antikörpers (IgA, IgE, IgG, IgM) und entscheidet, welche Funktion das Immunglobulin besitzt. Durch Zytokine können B-Lymphozyten so stimuliert werden, dass es zu einem Klassenwechsel (*class switch*) des produzierten Immunglobulin-Typs kommt.

B-Lymphozyten werden durch antigenpräsentierende Zellen und T-Lymphozyten aktiviert. Zudem ist auch eine direkte Aktivierung mittels IgE durch den niedrig-affinen FcεRII-Rezeptor möglich. Während der allergischen Reaktion werden mit der variablen Region entsprechende B-Lymphozyten durch Th2-Zellen stimuliert. Hierdurch proliferieren die B-Zellen und die Konzentration an IgE steigt an. Einmal aktivierte B-

Einleitung

Lymphozyten können als Gedächtniszellen über Jahre hinweg inaktiv bis zu einem erneuten Allergenkontakt überleben.

1.5.5 T-Lymphozyten

T-Lymphozyten bilden zusammen mit B-Lymphozyten und natürlichen Killerzellen den Großteil des lymphozytären Systems. Sie entwickeln sich aus einer gemeinsamen Vorläuferzelle und werden später gemäß ihrem exprimierten Rezeptor in CD4⁺- und CD8⁺-Zellen eingeteilt. Zu den CD4⁺ Zellen gehören unter anderem die Th1, Th2 sowie Th17 Lymphozyten und Treg-Zellen. Der CD4-Rezeptorstatus ist essenziell für die Beteiligung an Reaktionen gegen körperfremde Antigene, wie zum Beispiel den Allergenen. Diese Antigene werden durch die antigenpräsentierenden Zellen über kongruente MHC-Klasse-II-Rezeptoren präsentiert und können so von den CD4⁺-Zellen über den T-Zell-Rezeptor zusammen mit dem CD4-Corezeptor erkannt werden. Aktivierte CD4⁺-Zellen (Effektorzellen), zu denen auch die Th-Zellen gehören, entscheiden über die Art und das Ausmaß der Immunreaktion, da sie alle daran beteiligten Zellen durch Botenstoffen stimulieren und supprimieren können.

Mosmann et al. wiesen erstmals 1986 T-Zellen mit unterschiedlichen Zytokinprofilen bei Mäusen nach (Mosmann u. a., 1986). Diese Zellen wurden als Th1- und Th2-Lymphozyten identifiziert. Th1-Zellen wurden später mit der zellulären Abwehr assoziiert und schütten als Hauptmediator IFN- γ aus. Sie wirken stimulierend auf Makrophagen, CD8⁺ T-Lymphozyten und fördern den Klassenwechsel von B-Lymphozyten von IgM- zu IgG-produzierenden Plasmazellen. Th2-Zellen tragen hingegen physiologisch zur Abwehr parasitärer Erreger bei und dienen vornehmlich der humoralen Abwehr. Sie fördern die Bildung von IgE durch aktivierte B-Lymphozyten und stimulieren eine Vielzahl von Zelltypen, die auch an der allergischen Rhinitis beteiligt sind. Die charakteristischen Zytokine, die bei Aktivierung dieser Effektorzellen ausgeschüttet werden, sind IL-4, IL-5 und IL-13.

Man vermutete zunächst, dass sich diese zwei Zellpopulationen durch einen gegenseitigen Antagonismus in Balance halten und dass eine unbegründete Dominanz eines dieser Systeme durch Überstimulation zur Entstehung von Immunerkrankungen führt. Dies wurde als „Dichotomie“ des T-Zellsystems bezeichnet (Bottomly, 1988). Bei einem Th1 dominierten Ungleichgewicht sollte es vermehrt zu pathologischen zellulären Immunreaktionen, beispielsweise Autoimmunerkrankungen, kommen. Th2

Einleitung

Dominanz führe wiederum zur Entstehung von atopischen Erkrankungen wie auch der allergischen Rhinitis. Dieses Modell stellte auch die Basis für die Entwicklung der bereits im Abschnitt Epidemiologie erwähnten „Hygiene Hypothese“ dar.

Die Forschung der letzten Jahrzehnte entdeckte durch die Identifikation weiterer Zytokine CD4⁺-T-Lymphozyten, die sich in Ihrem Mediatorenprofil von den oben genannten Effektorzellen unterschieden. Hierzu gehören zum Beispiel die Treg-Zellen und als weitere Effektorzellen die Th17-Zellen (Schmidt-Weber, 2008).

Früher auch als T-Suppressorzellen bezeichnet, weiß man heute, dass Treg-Zellen eine wichtige Rolle in der Limitierung der Immunreaktion spielen und somit neben Effektorzellen eine steuernde Funktion einnehmen. Man unterscheidet natürliche CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg-Zellen (nTreg) von induzierten Treg-Zellen (iTreg). Während nTreg-Lymphozyten über Zell-zu-Zell-Kontakte signalisieren, schütten iTreg-Zellen Zytokine wie IL-10 und TGF- β aus. Ein Vertreter der iTreg-Zellen sind die Typ 1 Treg-Lymphozyten (Tr1). Auf eine regulierende Funktion dieser Zellen bei allergischen Erkrankungen deutet hin, dass deren Konzentration in Patienten mit allergischer Rhinitis als Folge einer erfolgreichen spezifischen Immuntherapie im Gegensatz zu nTreg ansteigt (Lou u. a., 2011).

Entsprechend den Erkenntnissen zu den regulatorischen Zellen wurde das Modell der Dichotomie als alleinige Erklärung zur Entstehung der Allergie zunehmend verlassen. Zwar können daraus entstandene Konzepte, wie die „Hygiene Hypothese“ weiterhin verwendet werden, aber die Th1/Th2 Balance konnte den gesamten Pathomechanismus der allergischen Reaktion nicht hinlänglich erklären.

Unabhängig von Treg-Lymphozyten erweitert die Entdeckung weiterer Effektorzellen wie den Th17-Zellen das Gesamtbild jenseits dieses zweigeteilten Systems. Es existieren sowohl Hinweise auf eine Beteiligung der Th17-Zellen an den Erkrankungen aus dem rheumatoiden Formenkreis, als auch im Rahmen von Infektionserkrankungen. In den letzten Jahren weisen Studien zudem auf eine mögliche Rolle bei der Entstehung der allergischen Rhinitis und dem Asthma bronchiale hin. Bei hierunter erkrankten Personen konnten vermehrt Th17-Zellen und/oder deren Produkt IL-17 nachgewiesen werden (Ciprandi u. a., 2008; Molet u. a., 2001). Die genaue Funktion dieser T-Lymphozyten in der Atopie ist Gegenstand aktueller Forschung.

1.6 Die allergische Reaktion

Die allergische Reaktion bezeichnet die immunologische Auseinandersetzung des Körpers mit einem harmlosen Antigen/Allergen, die zu einer überschießenden inflammatorischen Reaktion führt. Diese Reaktion wird durch das Zusammenspiel einer Vielzahl verschiedener Zelltypen ermöglicht, die sich gegenseitig durch Mediatoren in Form von Zytokinen stimulieren und/oder hemmen. Eine wichtige Untergruppe dieser Zytokine stellen die Interleukine dar. Interleukin leitet sich vom Lateinischen „inter“ für „zwischen“ und dem Griechischem „leukos“ für „weiß“ ab. Daher werden Zytokine als Interleukine bezeichnet, wenn sie als wichtige Mediatoren zwischen Leukozyten fungieren. Zur genaueren Klassifizierung verschiedener pathologischer allergischer Reaktionen nutzt man die Einteilung nach Coombs und Gell. Die allergische Rhinitis wird ebenso wie das allergische Asthma bronchiale als Soforttyp-Allergie (Typ 1) bezeichnet. Weitere Unterformen sind die zytotoxische Allergie (Typ 2), die Immunkomplex-Allergie (Typ 3) und die Spättyp-Allergie (Typ 4).

Pathophysiologisch wird die Soforttyp-Allergie in zwei Phasen, einen Erstkontakt (Sensibilisierung) und einen Zweitkontakt (Folgekontakt), unterschieden. Der Erstkontakt ist ein einmaliges Ereignis, während der Zweitkontakt die klinische allergische Rhinitis darstellt.

1.6.1 Erstkontakt (Sensibilisierung)

Bei Erstkontakt, auch als Induktions- oder Sensibilisierungsphase bezeichnet, trifft das Immunsystem des noch asymptomatischen Patienten erstmals auf das Allergen. Nach Aufnahme des Allergens - bei aerogenen Allergenen beispielsweise über die Atemwege - wird es von Zellen aus der antigenpräsentierenden Reihe aufgenommen. Zu dieser Gruppe gehören dendritische Zellen, Monozyten, Makrophagen und B-Lymphozyten. Die antigenpräsentierenden Zellen wandern über die Lymphe in drainierende Lymphknoten und die intrazellulär prozessierten Allergene werden als einzelne Epitope über MHC-Klasse-II-Moleküle membrangebunden präsentiert. CD4⁺ Th2-Zellen binden über den TCR (T-Zell-Rezeptor mit allergenspezifischer variabler Region) an die präsentierten Allergenbestandteile (Antigene) und werden aktiviert. Sie proliferieren und schütten eine Reihe immunregulatorischer Zytokine, darunter IL-4, IL-5 und IL-13 aus. Es resultiert die Stimulation von proinflammatorischen Zellen, die zu einer

Einleitung

pathologischen Immunreaktion gegen das eigentlich harmlose Antigen führen. Besonders B-Lymphozyten werden zur Proliferation angeregt, vollziehen einen Klassenwechsel zu IgE und beginnen als Plasmazellen, allergenspezifisches IgE zu produzieren. Das freie IgE bindet mit seiner Fc-Domäne an die hochaffinen FcεRI-Rezeptoren auf gewebständigen Mastzellen. Die so beladenen, noch inaktiven Mastzellen bleiben extravasal in den mit der Außenwelt kommunizierenden Körpergeweben (Haut, Augen, Atemwege, Verdauungstrakt) bis ein erneuter Allergenkontakt (Zweitkontakt) eintritt.

Des Weiteren verbleiben die aktivierten B- und T-Lymphozyten als Gedächtniszellen im Gewebe und im Lymphsystem. Diese Zellen beschleunigen die Immunantwort auf das Allergen immens und können auch nach Jahren Allergenkenz zu einer sofortigen Entzündungsreaktion im Sinne eines Zweitkontakts führen.

1.6.2 Zweitkontakt

Der Zweitkontakt mit dem Allergen führt zur eigentlichen symptomatischen Reaktion, die der klinischen allergischen Rhinitis entspricht. Der Zweitkontakt wird zusätzlich in zwei Phasen unterteilt. Am Anfang steht die Sofortreaktion (Frühphase, *early phase*), die mit einer möglichen Latenzphase in die Spätreaktion (Spätphase, *late phase*) übergeht.

Als Folge des Erstkontakts (Sensibilisierung) befinden sich nun im Gegensatz zur Sensibilisierung bereits mit allergenspezifischem IgE beladene Mastzellen im Gewebe. Der sensibilisierte Patient kommt erneut mit dem Allergen in Kontakt. Das IgE an den FcεRI-Rezeptoren der Mastzellen kreuzvernetzt sich (*crosslinking*) und führt aufgrund eines Ca^{2+} -Einstroms zur sofortigen Degranulation gespeicherter Vesikel. In diesen Granula befindet sich unter anderem präformiertes Histamin und TNF- α . Die Wirkung dieser Mediatoren setzt sofort ein und führt unmittelbar zu einer Vasodilatation, Bildung von endothelialen Adhäsionsmolekülen und chemotaktischer Anziehung von Immunzellen in das Gewebe. Gleichzeitig wird die Bildung von Prostaglandinen, Leukotrienen und Zytokinen in den Mastzellen angeregt. Bereits ortständige T-Lymphozyten binden ebenfalls das Allergen und schütten zusätzliche Zytokine aus. Diese Typ 2 Zytokine tragen zusätzlich zu den Mastzell-Mediatoren zur Einleitung der

Einleitung

Spätphase bei. Klinisch kommt es während der Sofortreaktion zu Juckreiz, Niesen, Sekretfluss und Obstruktion. Diese Symptome können aber bereits nach einigen Minuten wieder abklingen.

Im direkten Anschluss oder nach einer klinischen Latenzphase von bis zu mehreren Stunden folgt die Spätphase der allergischen Reaktion. Sie kann länger als 24 Stunden nach Allergenkontakt anhalten. Im klinischen Bild ist insbesondere die Obstruktion neben den oben genannten Symptomen charakteristisch. Während der Spätphase werden weitere Th2-Lymphozyten rekrutiert und wandern in das entzündete Gewebe ein oder proliferieren vor Ort. Die T-Zellen verlängern nun die allergische Reaktion aufgrund der fortgesetzten Ausschüttung von Typ 2 Zytokinen (unter anderem IL-4, IL-5 und IL-13). Als Folge werden die Vasodilatation und verstärkte Expression von Adhäsionsmolekülen im Gefäßendothel aufrechterhalten. Hierdurch wird die Infiltration von basophilen und eosinophilen Granulozyten, sowie T- und B-Lymphozyten gefördert. Es resultiert eine Zunahme an Entzündungszellen in den Schleimhäuten, die je nach Ausprägung auch 24 Stunden nach Allergenexposition anhalten kann. Gegen Ende der Spätphase nimmt die Zahl an Lymphozyten im Gewebe allmählich ab. Sowohl die Entzündung selbst als auch die Beschwerden des Patienten verringern sich dementsprechend auf das Niveau vor dem Allergenkontakt. Eine erneute Allergenexposition verursacht eine Entzündungsreaktion entsprechend einem Zweitkontakt.

2. Fragestellung und Ziele der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist die simultane Messung der systemischen und lokalen Freisetzung von Botenstoffen in der allergischen Rhinitis. Wir untersuchten IL-5, IL-10, IL-16, IL-17, MCP-4 und IL-31 nach nasaler Allergenprovokation mit der Disk-Methode. IL-10 wird von Treg-Zellen während Entzündungsreaktionen freigesetzt. Die Bedeutung von Th17-Zellen und ihres Mediators IL-17 sowie von MCP-4 und IL-31 für die allergische Rhinitis ist noch nicht geklärt. IL-16 ist ein Zytokin mit vermuteter regulatorischer Wirkung durch Einflussnahme auf Treg-Zellen. Die bekannte Freisetzung von IL-5 in Th2-vermittelten Entzündungsreaktionen diente insbesondere als Positivkontrolle. Gleichzeitig erfolgte die Bestimmung der klinischen Symptomatik, der Sekretmenge und des Atemwegswiderstandes, sowie eine zeitlich getrennte Kontrolluntersuchung mit dem reinen Lösungsmittel statt der Allergenlösung zum Ausschluss unspezifischer Reaktionen.

Die Zahl an bekannten Mediatoren, die mit der adaptiven Immunantwort assoziiert sind, nahm über die vergangenen Jahre stetig zu. Sowohl die produzierenden Zellen, deren Zielzellen als auch deren Funktion sind Gegenstand intensiver Forschung. Es ist eine stetige Frage, inwiefern ein neu entdecktes Zytokin auch mit dem Pathomechanismus der allergischen Erkrankungen in Verbindung gebracht werden kann. Ist ein solches Zytokin identifiziert, ermöglichen weitere Untersuchungen eine Einschätzung des therapeutischen Potentials. Besonders die Überprüfungen von möglichen Wirkungen und Nebenwirkungen durch Einflussnahme auf dieses Zytokin ist entscheidend für den späteren klinischen Einsatz. Medikamente, die sich auf die bereits in zahlreichen Studien in der allergischen Rhinitis nachgewiesenen Zytokine IL-4, IL-5 oder IL-13 auswirken, befinden sich derzeit in der klinischen Erprobung.

Daher entstand zum einen die Fragestellung, ob die durch uns untersuchten Mediatoren IL-10, IL-16, IL-17 und MCP-4 ebenfalls während der allergischen Rhinitis sowohl lokal im Nasensekret als auch systemisch im Serum nachweisbar sind. Darüber hinaus, ob sich ihre Konzentration nach einer gezielten Allergenprovokation *in vivo* über die Zeit signifikant ändert.

3. Material und Methoden

3.1 Genehmigung und Einverständnis

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität genehmigt. Die Identifikationsnummer der Genehmigung lautet 3530. Alle Teilnehmer gaben ihr schriftliches Einverständnis ab.

3.2 Probandenauswahl

Zehn Probanden mit saisonaler persistierender allergischer Rhinitis wurden außerhalb der Pollensaison untersucht. Vier Personen mussten ausgeschlossen werden. Bei zwei Personen blutete die Nasenschleimhaut minimal während der Disk-Applikation mit konsekutiver Blutung. Eine weitere Person musste aufgrund Fehlverhaltens zwischen den Messzeitpunkten ausgeschlossen werden. Bei der vierten Person blieb eine klinische Reaktion nach Allergenprovokation vollständig aus. Die verbliebene Gruppe von sechs Probanden setzte sich aus zwei männlichen und vier weiblichen Personen zusammen (Alter: 19-53 Jahre; Mittelwert: 28,3 Jahre).

Für die Auswahl der geeigneten Probanden wurde eine Anamnese unter Zuhilfenahme des Allergie-Sprechstunden-Fragebogens und ein Prick-Tests durchgeführt (Hals-, Nasen- und Ohrenklinik, Universitätsklinikum Düsseldorf; Fragebogen und Prick-Testbogen im Anhang).

Als Ausschlusskriterien galten unter anderem Schwangerschaft, Sensibilisierung gegenüber perennialen Allergenen (z.B. Hausstaubmilbe), Medikamenteneinnahme (Ausnahmen: orale Kontrazeptiva sowie antiallergische Medikamente bis zu zehn Tagen vor der Studie), Infektionen, relevante Begleiterkrankungen, Nikotinkonsum, Hyposensibilisierung in den letzten drei Jahren und Alter unter 18 Jahren. Bei allen Probanden ergab der Prick-Test eine ausgeprägte Reaktion gegen Birken- oder Gräserpollen und ausbleibende Reaktion gegen perenniale Allergene.

3.3 Untersuchungsablauf

Es wurde ein Termin zur Provokation und ein Termin zur Kontrolle festgelegt. Die Kontrolle erfolgte entweder bis zu 4 Tagen vor der Provokation oder mit einem zeitlichen Abstand von mindestens 2 Wochen danach. Zu jedem Messzeitpunkt wurde der Proband erneut nach möglichen Ausschlusskriterien befragt und es erfolgte die Bestimmung des visuellen analogen Symptom Score (VAS) zur Erfassung der Symptome, eine anteriore Rhinomanometrie und die Sammlung von Nasensekret mit Disks. Vor der Messung wurde eine reinigende Nasenlavage durchgeführt. Nach einer fünfminütigen Pause bestimmten wir den Basiswert für die Mediatoren und die weiteren Messparameter. Daraufhin wurde eine Lösungsmittelprovokation mit anschließender Messung zum Ausschluss unspezifischer Reaktionen auf das Lösungsmittel durchgeführt. Es folgte die Allergen- oder Kontrollprovokation (jeweils abhängig vom Messtag Disk mit Allergen oder erneut mit Lösungsmittel beladen) und die Bestimmung der oben genannten Parameter 10 Minuten, 2 Stunden, 5 Stunden und 24 Stunden nach Provokation. Zusätzlich erfolgten Blutabnahmen sowohl vor der Provokation, als auch 5 Stunden und 24 Stunden danach (siehe Abb. 1). Eine Aufstellung der Messparameter zu jedem Messparameter wurde auf der Folgeseite erstellt (siehe Tab. 1).

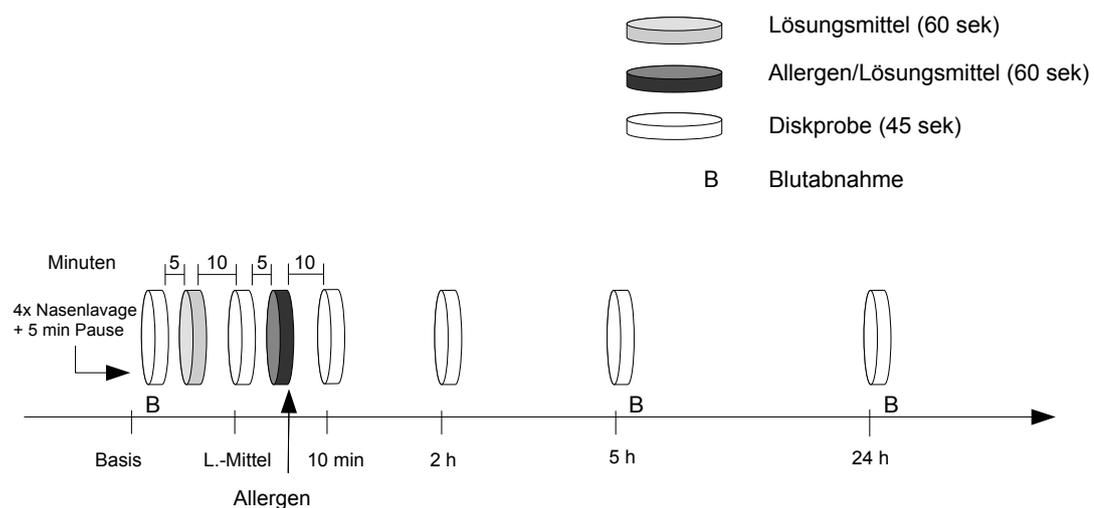


Abb. 1: **Zeitlicher Ablauf der Provokation.** Modifiziert nach: Baumann u. a., 2013

Material und Methoden

Zeitpunkt		Disk	VAS	BA	RM	AK-Abfrage
Basis	Im Anschluss an Nasenlavage	X	X	X	X	X
Lösungsmittel	Nach Lösungsmittelprovokation	X	X		X	X
10 Minuten	10 Minuten nach Provokationsdisk	X	X		X	X
2 Stunden	2 Stunden nach Provokationsdisk	X	X		X	X
5 Stunden	5 Stunden nach Provokationsdisk	X	X	X	X	X
24 Stunden	24 Stunden nach Provokationsdisk	X	X	X	X	X

Tabelle 1: **Bestandteile der einzelnen Messzeitpunkte.** Disk: Applikation der Filterpapierdisk; VAS: Visuelle Analogskala ermittelt durch Bestimmung der klinischen Symptomatik; BA: Blutabnahme; RM: Rhinomanometrie; AK-Abfrage: Ausschlusskriterienabfrage.

3.4 Untersuchungsvorbereitung

3.4.1 Allergenlösung/Kontrolllösung

Für die Allergenprovokation wurde das lyophilisierte Allergen mit Phenol-gepuffertter Kochsalzlösung vermischt (50.000 BU/ml; Allergopharma GmbH, Reinbek, Deutschland) und anschließend bei 4 °C aufbewahrt. Für die Kontrollmessung wurde die Phenol-gepufferte Kochsalzlösung ohne Zusätze verwendet. Die Lösungsmittelprovokation vor der eigentlichen Provokation der Kontroll- und Allergenmesstage (Zeitpunkt Lösungsmittel) erfolgte ebenfalls mit der Phenol-gepufferten Kochsalzlösung ohne Allergen.

3.4.2 Nasenlavage

Vor allen Allergen- und Kontrollmessungen führten wir bei den Probanden eine vierfache Nasenlavage durch, um Störfaktoren und bereits vorhandene Mediatoren zu reduzieren. Für jede einzelne Lavage wurden dem Patienten 5 ml 0,9% NaCl-Lösung (B. Braun Melsungen A.G., Melsungen, Deutschland) in die Nase eingeflößt. Nach 10 Sekunden atmete der Proband bei anteflektiertem Kopf möglichst vorsichtig durch die Nase aus, um die Kochsalzlösung zu entfernen. Nach der vierten Wiederholung folgte eine Pause von fünf Minuten, bis der Basiswert bestimmt wurde.

3.5 Untersuchungsmethoden

3.5.1 Diskherstellung und Aufbewahrung

Die Disk für die Provokationen und Messungen wurde mit einer Lochstanze aus 1 mm dickem Zytospin-Filterpapier (Shandon filter cards thick, Firma Shandon, Frankfurt) als kreisrunde Scheibe mit einem Durchmesser von 10 mm gestanzt. Alle Disks wurden unverzüglich luftdicht verschlossen. Am Versuchstag wurden sie einzeln in ein vorbeschriftetes 2 ml Röhrchen (Cryo S PP, Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland) platziert, dieses mit dem Messzeitpunkt markiert und mittels einer Feinwaage gewogen (siehe Abb. 2).

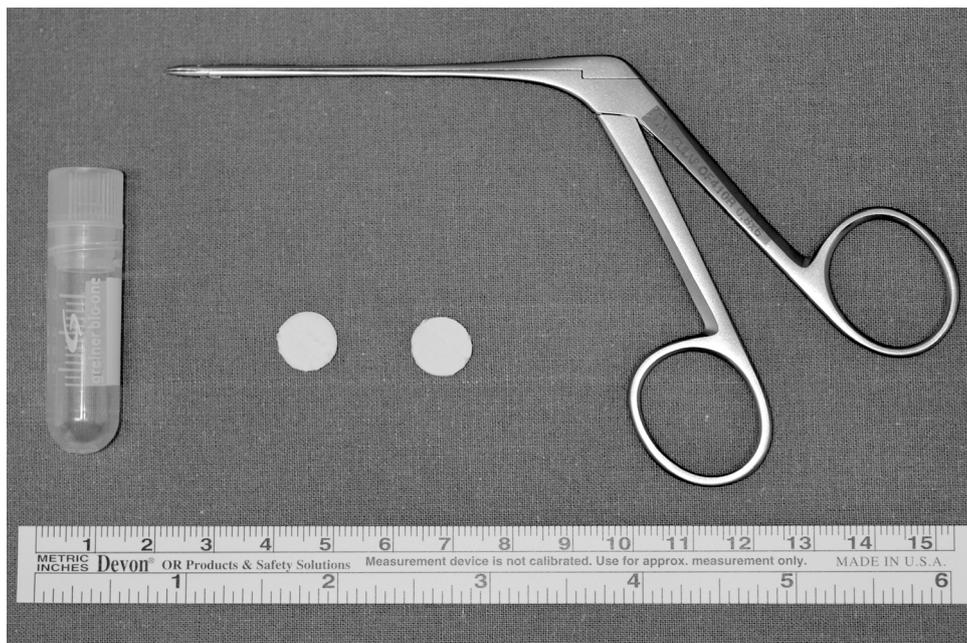


Abb. 2: **Utensilien zur Nasensekretgewinnung.** Von links nach rechts: Cryotube, zwei Filterdisks, Hechtmaulzange.

Material und Methoden

3.5.2 Beladung der Allergen- und Kontrolldisk

Die Provokationsdisks wurden mit 75 μ l der für den jeweiligen Probanden ausgewählten Allergenlösung (50.000 BU/ml, effektiv: 3.750 BU pro Disk; Allergopharma GmbH, Reinbek, Deutschland) unmittelbar vor der Provokation benetzt. Auf die Kontrolldisks wurden 75 μ l der Phenol-gepufferten Kochsalzlösung ohne Allergen pipettiert. Die Auswahl des Allergens zur Provokation basierte auf der stärksten Reaktion des jeweiligen Probanden im Prick-Test.

3.5.3 Probengewinnung mittels Disk

Alle Disks wurden unilateral unter anteriorer rhinoskopischer Kontrolle mittels einer Hechtmaulzange dorsal der mukokutanen Grenze auf das Nasenseptum aufgebracht (s. Abb. 3). Die Provokationsdisk und Lösungsmitteldisk wurden jeweils für 60 Sekunden auf der Schleimhaut belassen. Die Disks zur Probengewinnung verblieben 45 Sekunden auf dem Nasenseptum und wurden anschließend sofort in die korrespondierenden Röhren platziert und erneut mittels Feinwaage gewogen. Im Anschluss wurden die Disks in 500 μ l 0,9% NaCl Lösung (B. Braun Melsungen A.G.) eluiert und sofort gekühlt zum Transport ins Labor verpackt.

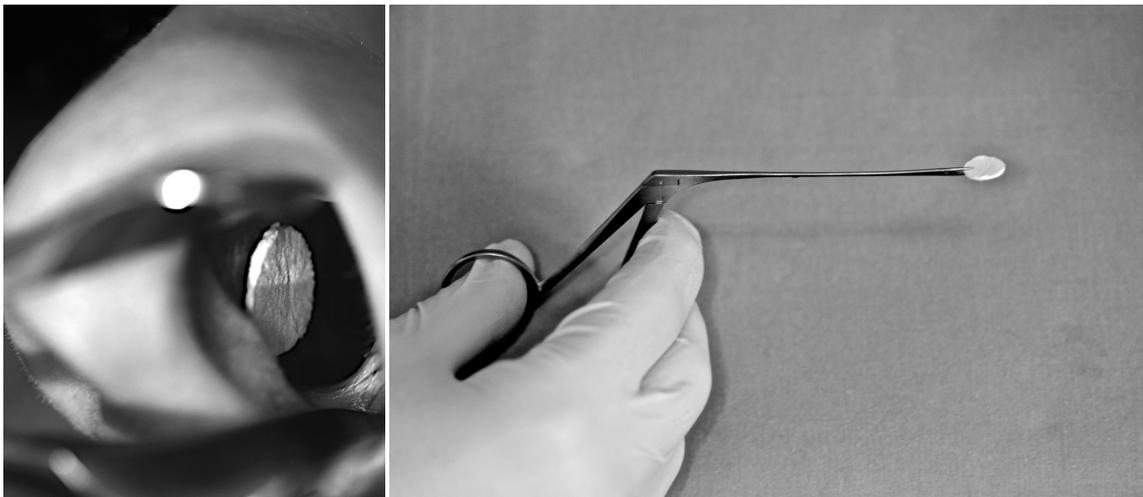


Abb. 3: **Diskapplikation und Handhabung.** Links: Die Filterpapierdisk wurde hinter der mukokutanen Grenze appliziert. Rechts: Filterpapierdisk in Hechtmaulzange.

Material und Methoden

3.5.4 Blutabnahme

Insgesamt wurden drei Blutabnahmen an jedem Versuchsdurchgang durchgeführt. Diese erfolgten zum Basiszeitpunkt, sowie 5 Stunden und 24 Stunden nach der Provokation. Zu jeder Blutabnahme wurden den Probanden zwei 5 ml SST Röhrchen (Becton, Dickinson and Company (BD), Heidelberg, Deutschland) zur systemischen Zytokinbestimmung abgenommen. Die Proben wurden bei Raumtemperatur transportiert.

3.5.5 Rhinomanometrie

Die Bestimmung des nasalen Atemflusses (*Flows*) und des Atemwegswiderstandes, als Parameter für die Obstruktion, erfolgte durch anteriore Rhinomanometrie. Wir untersuchten die provozierte Seite zu allen Zeitpunkten der Diskmessung. Die rhinomanometrische Messung erfolgte erst im Anschluss an die Diskprobensammlung. Auf diese Weise konnten wir eine eventuelle unspezifische Reizung der Nasenschleimhaut durch den abdichtenden Stopfen im Bereich der vorderen Nasenöffnung vermeiden. Für die Untersuchungen wurde ein Rhinomanometer 300 (Atmos MedizinTechnik GmbH, Lenzkirch, Deutschland) verwendet.

3.5.6 Klinische Symptomatik

Für die Erfassung der subjektiven klinischen Symptomatik wurde ein DIN-A4-Blatt mit drei 15 Zentimeter langen Linien ohne Skalierung für Sekretfluss, Juckreiz und Obstruktion erstellt. Die Intensität wurde auf der Linie von links nach rechts zunehmend definiert. Zur vereinfachten Berechnung der ausgemessenen Werte erfolgte die Umrechnung von 15 Zentimetern auf 10 Zentimeter Gesamtlänge nach Ausmessung. So entsprachen beispielsweise 15 Zentimeter auf der Skala nach Umrechnung 10 Zentimetern und 7,5 Zentimeter entsprachen 5 Zentimetern. Weiterhin enthielt es ein Feld zur Angabe für die Häufigkeit des Niesens innerhalb der Intervalle (siehe Anhang). Der Proband füllte diesen Bogen zu jedem Zeitpunkt, seiner subjektiven Einschätzung entsprechend, aus. Die fehlende Skalierung diente der Vermeidung einer Beeinflussung des Probanden durch definierte Zahlenwerte. Die gesetzte Markierung wurde im Anschluss mit der Distanz zum linken Linienanfang, entsprechend keiner Symptomatik, ausgemessen.

Material und Methoden

3.5.7 Sekretgewicht

Das Sekretgewicht wurde anhand der Differenz des Gewichts vom markierten Röhrchen und korrespondierender Disk vor und direkt nach der Sekreksammlung mit der Feinwaage gemessen.

3.5.8 Ausschlusskriterien

Zu allen Zeitpunkten wurde überprüft, ob die Fortführung der Untersuchung durch studienrelevante Ereignisse abgebrochen werden muss. Hierzu befragten wir den Probanden zu Auffälligkeiten in den Intervallen zwischen den Messungen. Selbstverständlich wurde auf Anzeichen einer akuten lebensbedrohlichen Symptomatik geachtet und der Proband über Warnzeichen aufgeklärt, um dementsprechend handeln zu können. Während der Studie traten solche Warnzeichen zu keinem Zeitpunkt auf. Ebenfalls achteten wir auf das Neuauftreten von Ausschlusskriterien (siehe Abschnitt Probandenauswahl) und Fehlverhalten während der Studie durch den Teilnehmer.

3.6 Probenverarbeitung

Die gesamte Probenverarbeitung wurde unter größter Sorgfalt und mit dem Ziel durchgeführt, eine möglichst ununterbrochene Kühlung der Diskproben zu gewährleisten. Gleichmaßen wurden die Serumproben bereits während des Aliquotierens gekühlt. Jede Probe wurde in mehreren Behältnissen zur Lagerung bei -80 °C aufgeteilt, um ein wiederholtes Auftauen der Probe für die einzelnen Messungen zu vermeiden und so das Material unverändert zu erhalten.

3.6.1 Diskproben

Nach Transport wurden die Diskproben über 3 Stunden bei leichtem Schütteln und 4°C weiter eluiert. Danach wurde die Disk aus dem Röhrchen entfernt und das Eluat in ein weiteres 0,5 ml Röhrchen (LoBind Eppendorf; Eppendorf AG; Hamburg, Germany) pipettiert. Das neue Röhrchen wurde für 5 Minuten bei 2800 u/min und 4°C (Biofuge 15R; Heraeus Instruments, Düsseldorf, Deutschland) zentrifugiert. Dadurch trennten wir Diskrückstände und Zellen vom Rest des Eluats. Den so entstandenen Überstand pipettierten wir vorsichtig unter konstanter Kühlung in ein neues Röhrchen um und die Rückstände wurden verworfen. Nach fünffacher langsamer Resuspension des

Material und Methoden

Überstandes folgte die Aufteilung auf mehrere LoBind Eppendorf Röhrchen, die bis zur Messung bei -80°C eingefroren wurden.

3.6.2 Serumproben

Zunächst wurden die Serumproben für 45-60 Minuten bei Raumtemperatur zur Gerinnung senkrecht aufgestellt. Die wässrige Phase des Serums setzt sich vom geronnenen Blutbestandteil ab. Anschließend wurden alle Röhrchen für 18 Minuten bei 1300 g und Raumtemperatur zentrifugiert. Das Serum wurde in Drittel unterteilt (von oben nach unten: A, B, C) und jedes Drittel in jeweils mehrere LoBind Eppendorf Röhrchen abpipettiert. Für die Zytokinbestimmung wurden die obersten Zweidrittel „A und B“ verwendet. Alle Proben wurden bis zur Messung bei -80°C gelagert.

3.7 Nachweisverfahren Elektrochemilumineszenz

3.7.1 Einführung

Die Elektrochemilumineszenz ist ein Verfahren zum Nachweis biologischer Stoffe. Das Verfahren bietet eine hochsensitive Detektion und Quantifizierung von Zytokinen in einer biologischen Probe. Optional lassen sich bei fehlender Kreuzreaktivität auch mehrere Zytokine in einem *Well* messen, was ermöglicht, den Verbrauch des Probenmaterials zu reduzieren, beziehungsweise ein zum Nachweis nachteiliges Verdünnen der Probe zu verhindern.

Auf jeder Messplatte befinden sich 96 *Wells* und an der Unterseite verlaufende elektrische Leitungen, die für das spätere Auslesen der Platte benötigt werden. Auf dem Boden jedes *Wells* sind *Spots* angebracht (siehe Abb. 4). Jeder *Spot* besitzt eine spezifische, durch den Hersteller vorbereitete Antikörperbeschichtung im Bereich hochaffiner Carbonelektroden für ein einziges Zytokin. Im Verlauf der Vorbereitung für die Messung werden die entsprechenden spezifischen Antikörper mit enzymatischer Beladung (*SULFO-TAG*) hinzugegeben. Beide Antikörper binden das untersuchte Zytokin am jeweiligen *Spot*. Eine elektrische Spannung wird zum Zeitpunkt der Messung an den Elektroden auf der Unterseite der Platte angelegt. Sie führt zu einer enzymatischen Umwandlung der vorher hinzugegebenen Substratlösung.

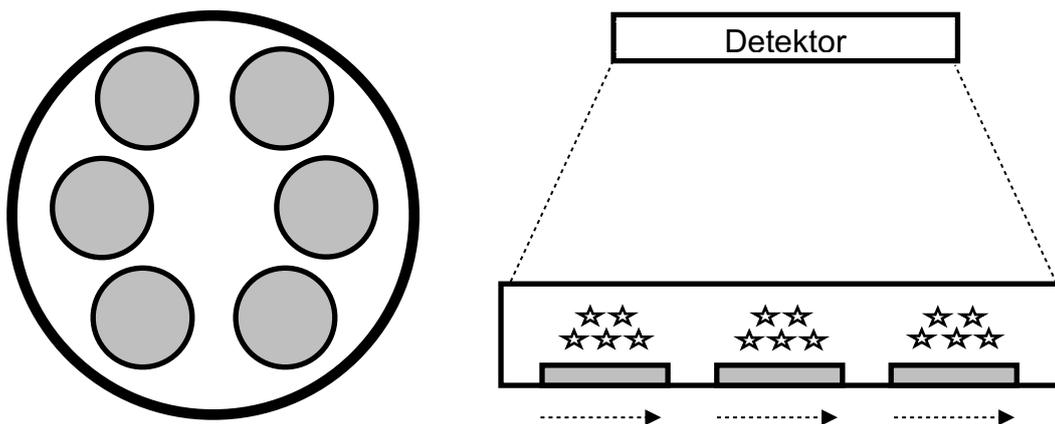


Abb. 4: **Elektrochemilumineszenzverfahren.** Links: Darstellung eines *Wells* auf der Platte von oben mit 6 vorbereiteten, bereits mit dem gewünschten Antikörper beschichteten *Spots*. Rechts: *Well* von der Seite dargestellt während der Messung der Platte bei angelegter Spannung im Detektor: Pfeil: angelegte Spannung am *Spot*; Sterne: Lumineszenz; graue Rechtecke: *Spot* mit gebundenem Antigen.

Material und Methoden

Daraus resultiert eine gesteuerte Lumineszenz-Reaktion, die sich nur im unmittelbaren Bereich des einzelnen *Spots* abspielt. Eine solche Reaktion kann bei niedriger Lumineszenz aufgrund geringer Stoffmenge in der untersuchten Probe wiederholt werden, um einen Nachweis dennoch zu ermöglichen. Mit der oben genannten hochaffin bindenden Oberfläche ergibt sich somit ein höchst sensitives Messverfahren für biologische Stoffe.

Zusammenfassend entsteht auf diese Weise eine Detektion von einem oder mehreren gebundener Zytokine je *Well* der Messplatte. Deren Lumineszenzgrad ermöglicht, verglichen mit der Standardreihe auf der Messplatte, die Quantifizierung mehrerer Stoffe anhand einer einzigen Messung. Wir nutzten das System von Meso Scale Discovery (Rockville, MD, Vereinigte Staaten von Amerika) mit einem Sector Imager 6000 in freundlicher Kooperation mit der Abteilung für Molekulare Neurobiologie der Universität Duisburg-Essen. Die Platten wurden mit einer Antikörperbeschichtung und den entsprechenden Lösungsmitteln, Standards, Detection Antibodies, Substraten und Read Buffern bei Meso Scale Discovery (Rockville, MD, Vereinigte Staaten von Amerika) bestellt.

3.7.2 Durchführung der Messung

Bis zur Messung wurden die Proben gekühlt transportiert und erst am Arbeitsplatz aufgetaut. Im ersten Arbeitsschritt wurde die Platte für 30 min mit 25 µl Lösungsmittel bei 700 u/min und Raumtemperatur äquilibriert (Eppendorf orbital shaker). Danach wurde sie mit Standards und Proben im Duplikat, sowie Nullproben im Triplikat beladen. Es folgte eine Inkubation für 2,5 Stunden unter Folienversiegelung bei Raumtemperatur und 700 u/min. Die inkubierten Platten wurden dreimal ausgewaschen. Hierzu wurde in jedem *Well* 200 µl *PBS-T* invers pipettiert und für eine Minute belassen. Anschließend wurde die Platte gründlich ausgeklopft. Eine *Detection Antibody*-Lösung wurde mit je 25 µl in die *Wells* pipettiert. Die *Detection Antibody* banden an die durch Mediatoren besetzten *Spots*. Danach wurde die Platte für 2 Stunden inkubiert. Erneut wurde die Platte viermal gründlich ausgewaschen. Die gewaschene Platte wurde nun mit 150 µl des *Read Buffers* beladen und unverzüglich im Sector Imager 6000 (Meso Scale Discovery) ausgelesen. Zur Analyse der Rohdaten verwendeten wir das Programm Discovery Workbench 3.0 (Meso Scale Discovery,

Material und Methoden

Rockville, MD, Vereinigte Staaten von Amerika). Sofern ein Wert mit einem Variationskoeffizienten größer 20% auftrat, wurde die Messung der Probe wiederholt.

3.7.3 Elektrochemilumineszenz Nachweisgrenze

Entsprechend der Herstellerempfehlung wurde das Detektionslimit (LLOD) für den Nachweis als 2,5-facher Wert der Standardabweichung der Nullproben, addiert zum Mittelwert der Leermessungen, definiert. Die höchsten Nachweisgrenzen lagen in den Diskuntersuchungen für IL-5 bei 0,113 pg/ml, für IL-10 bei 0,971 pg/ml, für IL-16 bei 8,21 pg/ml, für L-17 bei 6,4 pg/ml und für MCP-4 bei 2,54 pg/ml. Die höchsten Nachweisgrenzen der Serumproben betragen für IL-5 1,65 pg/ml, für IL-10 3,17 pg/ml, für IL-16 37,7 pg/ml, für IL-17 21,2 pg/ml und MCP-4 6,08 pg/ml.

3.8 Nachweisverfahren ELISA

3.8.1 Einführung

Für IL-31 wurde ein kommerziell vorgefertigter Elisa in einfacher Sandwich Technik verwendet, bei dem das Enzym direkt an den zweiten Antikörper gekoppelt ist (LegendMax, BioLegend Inc., San Diego CA, USA). Die Sensitivität des Tests betrug $<7,3$ pg/ml. Die Proben wurden im Duplikat mit einem CV < 20 % gemessen.

Das *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dient einer enzymvermittelten spezifischen Quantitätsbestimmung eines Stoffes in einer Lösung. Die Lösung wird in antikörperbeschichtete Platten pipettiert, die die gesuchten Allergene binden. Nach der Inkubation der Probe und Waschung der Platte folgt ein zweiter spezifischer Antikörper. Später wird das für die Reaktion notwendige freie Enzym hinzugegeben, welches eine ausgeprägte Affinität zum zweiten Antikörper besitzt. Dies unterscheidet den einfachen Sandwich ELISA vom Double Sandwich ELISA, bei dem ein enzymbeladener dritter Antikörper notwendig ist (siehe Abb. 5).

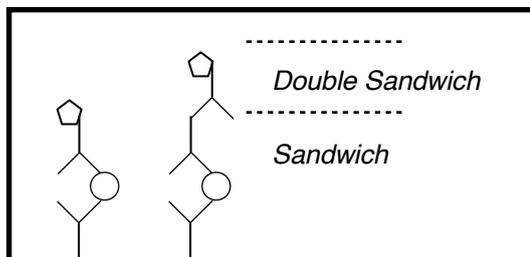


Abb. 5: **ELISA-Verfahren.** Darstellung der ELISA-Sandwich Technik. Links einfache *Sandwich*-Technik, rechts *Double Sandwich*-Technik. Rund: Antigen; Fünfeck: gekoppeltes Enzym für die Reaktion; Y: Antikörper.

Durch die enzymatische Umwandlung eines vor hinzugegebenen Substrates verändern sich die Absorptionseigenschaften der Lösung in jedem einzelnen *Well*. Diese Reaktion findet in Abhängigkeit von der Menge an gebundenen Zytokinen und enzymbeladenen Antikörpern statt.

Nachdem eine Stopplösung die Umwandlung beendet, ist im letzten Schritt der Nachweis und die Quantifizierung des gesuchten Zytokins möglich. Dafür wird ein Vergleich der einzelnen *Wells* zu den vordefinierten Standards durchgeführt.

Material und Methoden

Zur Messung der Absorptionseigenschaften verwendeten wir ein Photometer (DTX 880 Multimode Detector, Beckmann Coulter GmbH, Krefeld, Germany).

3.8.2 Durchführung der Messung

Für die Messung wurden die Proben im Verhältnis 3:8 (30 µl Probe, 80 µl *Assay* Puffer) verdünnt und in die zuvor vierfach mit je 300 µl Waschpuffer pro *Well* gewaschene Platte im Duplikat pipettiert. Gleichzeitig wurde auch eine Standardreihe im Duplikat aufgetragen. Die Nullprobe führten wir im Triplikat durch. Die beladene Platte wurde bei 4°C konstanter Bewegung auf niedrigster Stufe über Nacht (12 Stunden lang, Eppendorf orbital shaker) belassen. Anschließend wurde die Platte ein zweites Mal vierfach gewaschen und danach mit je 100 µl *Detection Antibody*-Lösung pro *Well* beladen. Erneut wurde die Platte für 2 Stunden bei Raumtemperatur und konstanter Bewegung inkubiert. Der dritte Waschvorgang folgte und es wurde als Nächstes in jedes *Well* je 100 µl Avidin-HRP-Lösung pipettiert, die für die enzymatische Veränderung des Substrats benötigt wird. Während der 30-minütigen Inkubation band das Enzym an die gebundenen *Zweitantikörper (Detection Antibodies)*. Ein letzter Waschvorgang wurde durchgeführt, um überschüssiges Enzym zu entfernen. Dieser Vorgang wurde zur Reduktion von Störfaktoren und gründlichen Entfernung des Enzyms zu diesem Zeitpunkt fünfmalig durchgeführt. Anschließend pipettierten wir 100 µl des Substrats in die *Wells* und inkubierten die Platte unter Lichtschutz und ohne Bewegung. Durch die Zugabe einer Stopplösung wurde die enzymatischen Reaktion beendet. Die Platte konnte dann sofort in einem Photometer (DTX 880 Multimode Detector, Beckmann Coulter GmbH, Krefeld, Germany) ausgelesen werden.

3.9 Auswertung

3.9.1 Mengenerrechnung

Im ELISA und Elektrochemilumineszenzverfahren werden die Ergebnisse als Konzentrationen im untersuchten Eluat angegeben. Dies ist geeignet für Bestimmungen beim Serum. Bei der Diskprobe muss die Konzentration in dem Eluat nicht zwingend dem physiologischen Wert im Nasensekret entsprechen. Ursächlich dafür ist die Veränderung des Verhältnisses zwischen Eluat und Probenmenge, die sich maßgeblich auf die gemessenen Werte auswirken kann. Eine geringe Menge an Nasensekret kann daher nach dem Eluieren trotz hoher Zytokinkonzentration *in vivo* sehr kleine Konzentration in den Nachweisverfahren ergeben. Weiterhin kann ein hoher Anteil an Nasensekret im Eluat trotz physiologisch niedriger Menge im Sekret eine sehr hohe Konzentration verursachen. Aus diesem Grund korrigierten wir diesen Störfaktor, indem wir die gemessene Konzentration mit dem Volumen des Nasensekrets zuzüglich 0,5 ml Eluat multiplizierten. Die resultierenden Werte sind Mengen des Zytokins in der Diskprobe und entsprechen den physiologischen Werten ohne Verfälschung durch die gesammelte Probenmenge, was einen bedeutenden Vorteil der Diskmethodik darstellt.

$$\text{Menge (pg)} = \text{Konz}_{(\text{Zytokin})} (\text{pg/ml}) * (\text{Vol}_{(\text{Nasensekret})} (\text{ml}) + \text{Vol}_{(\text{Eluat})} (\text{ml}))$$

3.9.2 Grenzwerte und Variationskoeffizient

Sowohl die Standards als auch die Proben wurden im Duplikat gemessen. Die Messung der Nullproben erfolgte im Triplikate. Ob die Ergebnisse aus der Messung verwendet werden konnten, hing von der Nachweisgrenze und dem Variationskoeffizienten ab. Grundlegend konnten alle Werte oberhalb der Nachweisgrenze mit einem Variationskoeffizienten $< 20\%$ verwendet werden. Sollten die Werte einen Variationskoeffizienten $> 20\%$ besitzen, wiederholten wir deren Messung. Duplikate, die einen Wert oberhalb der Nachweisgrenze und einen Wert unterhalb der Nachweisgrenze mit einem Variationskoeffizienten $< 20\%$ hatten, wurden auf die Höhe der Nachweisgrenze gesetzt, um niedrige Mengen an Zytokinen nicht als Nullwert zu

Material und Methoden

verfälschen. Sollten beide Werte aus dem Duplikat unterhalb der Nachweisgrenze liegen, wurden diese gleich Null gesetzt, da durch die Mengenerrechnung ansonsten unberechtigt hohe Werte entstanden wären.

3.9.3 Statistik

Für die Statistik wurde MedCalc (MedCalc Software, Ostend, Belgien) verwendet. Signifikanzen für die Verlaufswerte wurden unter Verwendung des Friedmann-Tests berechnet. Hieraus entstandene P-Werte kleiner 0.05 wurden als signifikant gewertet und in den Diagrammen eingetragen. Korrelationen wurden nicht-parametrisch nach Spearman und Kendall getestet. Die Graphen wurden mit Prism 5 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, Vereinigte Staaten von Amerika) erstellt. Die Punkte im Verlauf repräsentieren die Mittelwerte. Der *standard error of mean (SEM)* oder Standardfehler ist in den Diagrammen in dem Allergenverlauf nach oben weisend und in dem Kontrollverlauf nach unten weisend eingezeichnet.

4. Ergebnisse

4.1 Lokaler Mediatorenverlauf

4.1.1 IL-5

IL-5 konnte bei vier Probanden in sehr niedriger Menge (Allergenprovokationszeitpunkt Lösungsmittel: $0,4 \pm 0,3$ pg; Kontrollprovokationszeitpunkt Lösungsmittel: $1,3 \pm 0,8$ pg; siehe Abb. 6) bereits vor der Provokation an beiden Messterminen nachgewiesen werden. 2 Stunden nach Allergenapplikation stieg IL-5 bei allen sechs Probanden signifikant an und erreichte nach 5 Stunden die durch uns gemessene Höchstmenge (Allergenprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $70,5 \pm 32,8$ pg). Während der Kontrollprovokation stieg IL-5 zu keinem Messzeitpunkt signifikant an und die im Nasensekret festgestellte Menge blieb über die gesamte Messung hinweg konstant niedrig (Kontrollprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $1,8 \pm 1,2$ pg).

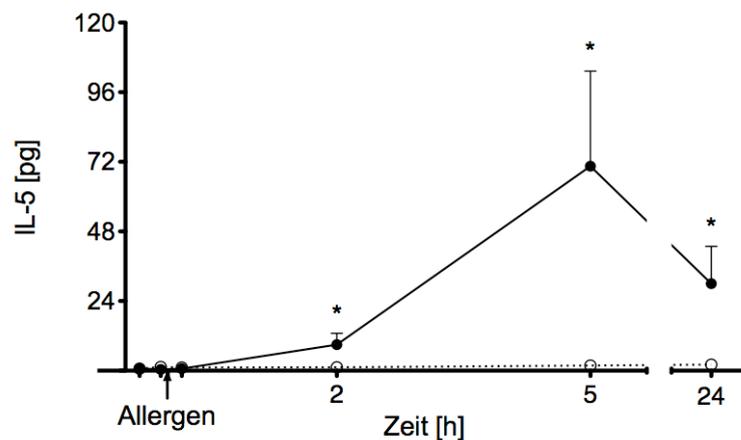


Abb. 6: **Zeitlicher Verlauf der IL-5 Menge im Nasensekret.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Die Y-Achse repräsentiert Werte als absolute Menge \pm SEM (pg). Die X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.1.2 IL-10

Vor der Provokation mit dem Allergen oder Lösungsmittel war IL-10 im Nasensekret nicht nachweisbar. In der Frühphase, bis zwei Stunden nach der Provokation, gelang der Nachweis vereinzelt und nach 5 Stunden konnte ein signifikanter Anstieg von IL-10 (Allergenprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $1,1 \pm 0,5$ pg; siehe Abb. 7) nach der Allergenexposition festgestellt werden. Auch 24 Stunden nach Provokation war IL-10 im Gegensatz zur Basismessung vereinzelt nachweisbar (Allergenprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $0,4 \pm 0,4$ pg). Während der Kontrollmessung konnte bis auf einen vergleichsweise niedrigen einzelnen Nachweis 5 Stunden nach der Provokation (Kontrollprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $0,05 \pm 0,05$ pg) kein IL-10 gefunden werden.

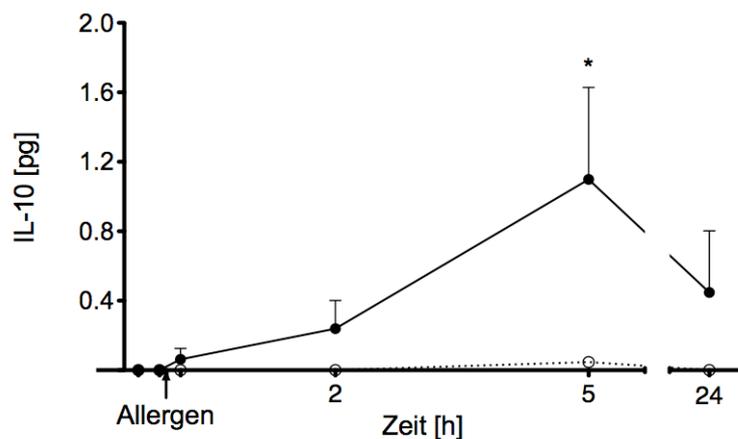


Abb. 7: **Zeitlicher Verlauf der IL-10 Menge im Nasensekret.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Die Y-Achse repräsentiert Werte als absolute Menge \pm SEM (pg). Die X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.1.3 IL-16

Bereits vor der Provokation konnte IL-16 sowohl in der Kontrollmessung (Kontrollprovokationszeitpunkt Lösungsmittel: $58,5 \pm 20,0$ pg; siehe Abb. 8), als auch vor der Allergenprovokation (Allergenprovokationszeitpunkt Lösungsmittel: $49,7 \pm 11,6$ pg) in vergleichbaren Mengen nachgewiesen werden. In der Sofortreaktion unauffällig, war ein signifikanter Anstieg 2, 5 und 24 Stunden (Allergenprovokationszeitpunkt 2 Stunden: $204,1 \pm 64,4$ pg; Allergenprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $465,9 \pm 146,3$ pg; Allergenprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $290,1 \pm 66,4$ pg) nach der Allergenprovokation feststellbar. Obwohl die Kontrolle auch einen Anstieg zeigte, der 5 Stunden nach der Provokation signifikant war (Kontrollprovokationszeitpunkt 2 Stunden: $133,5 \pm 46,2$ pg; Kontrollprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $177,8 \pm 40,1$ pg), so war dennoch zu diesem Zeitpunkt der unterschiedliche Verlauf zur Allergenprovokation deutlich ersichtlich.

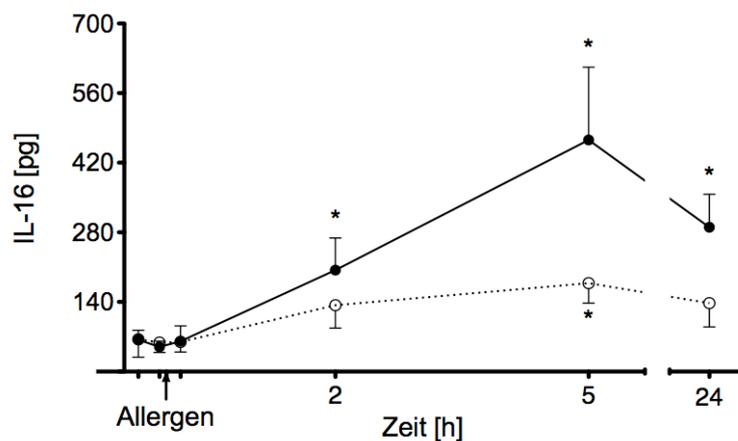


Abb. 8: **Zeitlicher Verlauf der IL-16 Menge im Nasensekret.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Die Y-Achse repräsentiert Werte als absolute Menge \pm SEM (pg). Die X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.1.4 IL-17

IL-17 konnte vor der Provokation und direkt nach der Allergenapplikation nur in wenigen Nasensekretproben gefunden werden. In der Frühphase einen Anstieg zeigend (Allergenprovokationszeitpunkt Lösungsmittel: $0,4 \pm 0,4$ pg; Allergenprovokationszeitpunkt 2 Stunden: $2,4 \pm 1,9$ pg; siehe Abb. 9), war IL-17 allerdings erst nach 5 Stunden bei fünf Probanden signifikant erhöht (Allergenprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $6,0 \pm 3,6$ pg). Am Folgetag konnte nur bei einem Probanden IL-17 in geringer Menge im Nasensekret nachgewiesen werden. In der Kontrollmessung blieb IL-17 ohne signifikante Veränderungen.

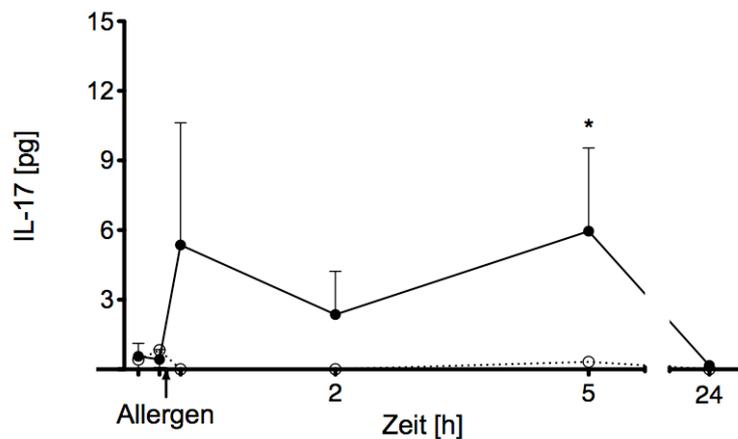


Abb. 9: **Zeitlicher Verlauf der IL-17 Menge im Nasensekret.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Die Y-Achse repräsentiert Werte als absolute Menge \pm SEM (pg). Die X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.1.5 MCP-4

MCP-4 konnte bei zwei Probanden direkt nach der Allergenprovokation (Allergenprovokationszeitpunkt 10 Minuten: $0,5 \pm 0,4$ pg; siehe Abb. 10) und 24 Stunden später (Allergenprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $0,4 \pm 0,3$ pg) gemessen werden. Bei einem dieser Probanden war MCP im gesamten Verlauf nach Allergenprovokation nachweisbar. Wir fanden kein MCP-4 vor der Allergenapplikation oder während der Kontrollmessung.

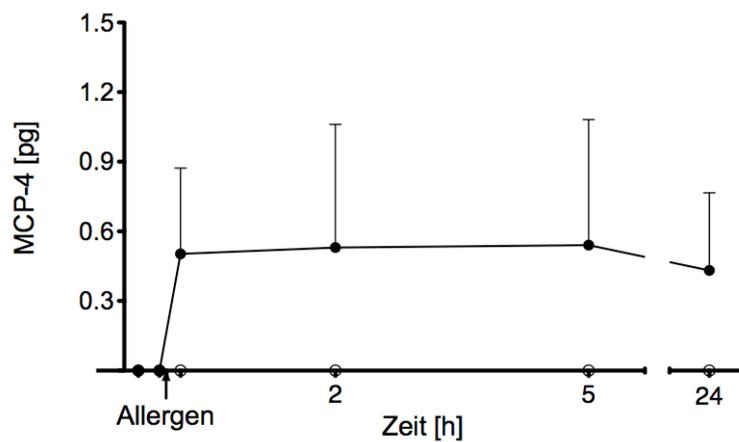


Abb. 10: **Zeitlicher Verlauf der MCP-4 Menge im Nasensekret.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Die Y-Achse repräsentiert Werte als absolute Menge \pm SEM (pg). Die X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.1.6 IL-31

IL-31 war 5 Stunden nach der Provokation in einer signifikanten Menge (Allergenprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $51,4 \pm 41,0$ pg; siehe Abb. 11) nachweisbar. Vor der Provokation, im direkten Anschluss oder am Folgetag war der Nachweis nicht möglich. Während der Kontrollmessung konnte zu keinem Zeitpunkt IL-31 im Nasensekret gemessen werden.

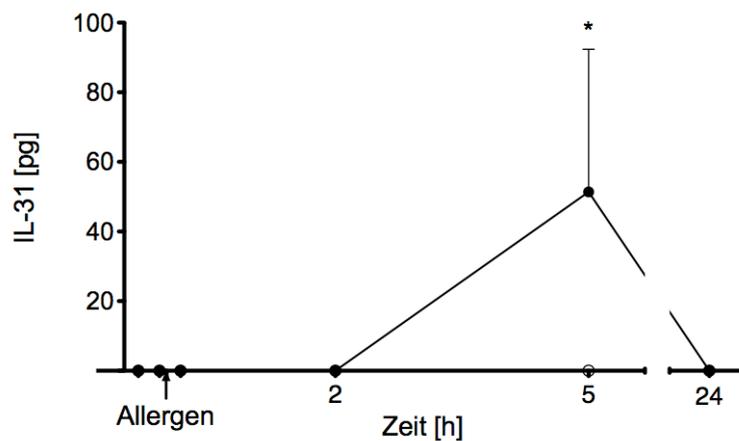


Abb. 11: **Zeitlicher Verlauf der IL-31 Menge im Nasensekret.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Die Y-Achse repräsentiert Werte als absolute Menge \pm SEM (pg). Die X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.2 Systemischer Mediatorenverlauf

4.2.1 Serum IL-5

Die IL-5 Konzentration im Serum war 5 Stunden und 24 Stunden nach der Allergenprovokation erhöht (Allergenprovokationszeitpunkt Basis: $8,1 \pm 1,5$ pg/ml; Allergenprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $9 \pm 2,1$ pg/ml; Allergenprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $12,8 \pm 5,3$ pg/ml; siehe Abb. 12). Der Verlauf in der Kontrolle blieb trotz einer signifikanten leichten Abnahme (Kontrollprovokationszeitpunkt Basis: $6,7 \pm 1,1$ pg/ml; Kontrollprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $5,9 \pm 1,0$ pg/ml) vergleichsweise unverändert.

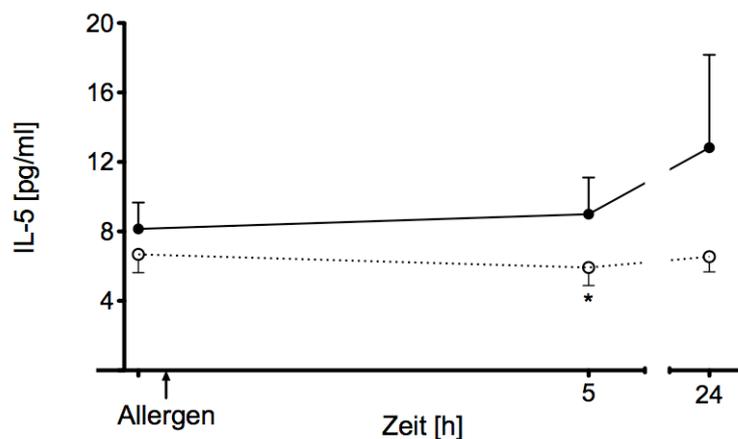


Abb. 12: **Zeitlicher Verlauf der IL-5 Konzentration im Serum.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Alle Werte als Konzentration \pm SEM (pg/ml). X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.2.2 Serum IL-10

Für IL-10 konnte ein leichtgradiger, nicht signifikanter Abfall der Basiskonzentration (Allergenprovokationszeitpunkt Basis: $8,2 \pm 2,4$ pg/ml; siehe Abb. 13) auf den Wert 24 Stunden nach der Allergenprovokation (Allergenprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $6,6 \pm 2,7$ pg/ml) beobachtet werden. Während der Kontrollmessung blieb die IL-10 Konzentration zwischen Basis (Kontrollprovokationszeitpunkt Basis: $5,6 \pm 2,4$ pg/ml) und 5 Stunden (Kontrollprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $5,5 \pm 2,6$ pg/ml) nahezu unverändert. 24 Stunden nach der Kontrollprovokation kam es zu einem nicht signifikanten Anstieg der IL-10 Serumkonzentration (Kontrollprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $7,1 \pm 3,0$ pg/ml).

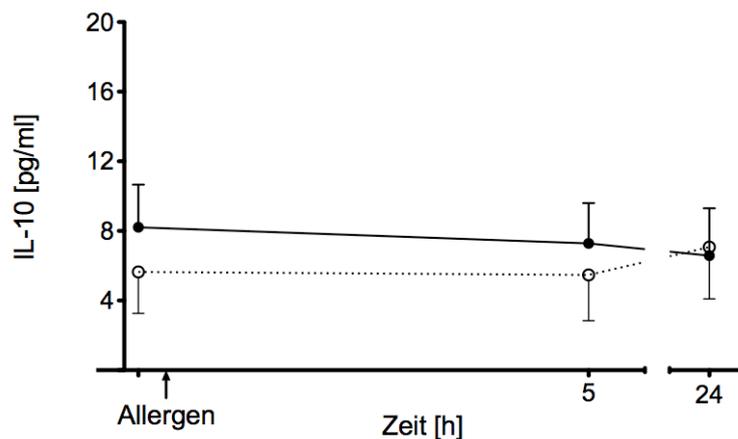


Abb. 13: **Zeitlicher Verlauf der IL-10 Konzentration im Serum.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Alle Werte als Konzentration \pm SEM (pg/ml). X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.2.3 Serum IL-16

IL-16 stieg im Serum sowohl 5 Stunden nach der Provokation mit dem Lösungsmittel (Kontrollprovokationszeitpunkt Basis: $541,7 \pm 67,4$ pg/ml; Kontrollprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $620,6 \pm 67,6$ pg/ml; siehe Abb. 14) als auch mit dem Allergen (Allergenprovokationszeitpunkt Basis: $571,3 \pm 80,3$ pg/ml; Allergenprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $599,3 \pm 72,3$ pg/ml) an. Die Konzentration blieb 24 Stunden nach der Allergenprovokation erhöht (Allergenprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $604,7 \pm 74,7$ pg/ml), während der Wert der Kontrollmessung wieder auf ein Niveau unterhalb des Basiswertes sank (Kontrollprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $530,4 \pm 59,6$ pg/ml).

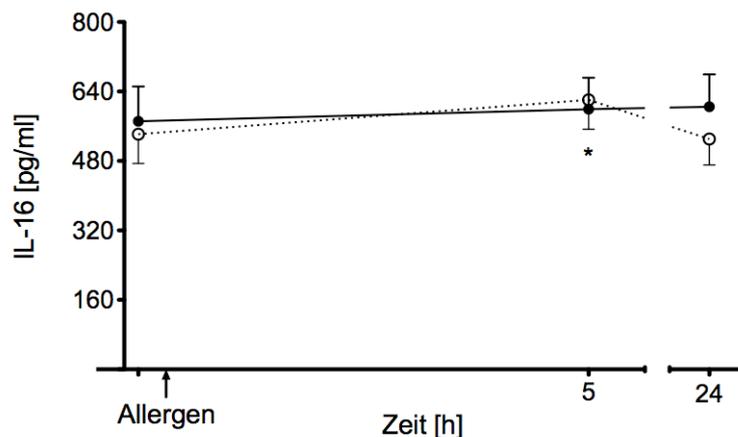


Abb. 14: **Zeitlicher Verlauf der IL-16 Konzentration im Serum.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Alle Werte als Konzentration \pm SEM (pg/ml). X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.2.4 Serum IL-17

IL-17 konnte im Serum weder vor noch nach Allergen- und Kontrollprovokation nachgewiesen werden.

4.2.5 Serum MCP-4

MCP-4 zeigte nach der Provokation keine ausgeprägte Veränderung im Serum. Verglichen zum Basiswert (Allergenprovokationszeitpunkt Basis: $371,0 \pm 36,7$ pg/ml; siehe Abb. 15), veränderte sich die Konzentration auch 24 Stunden nach der Provokation nur gering (Allergenprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $349,8 \pm 28,5$ pg/ml). Die Kontrolle zeigt einen ähnlichen Verlauf (Kontrollprovokationszeitpunkt Basis: $334,7 \pm 34,1$ pg/ml; Kontrollprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $338,0 \pm 30,7$ pg/ml).

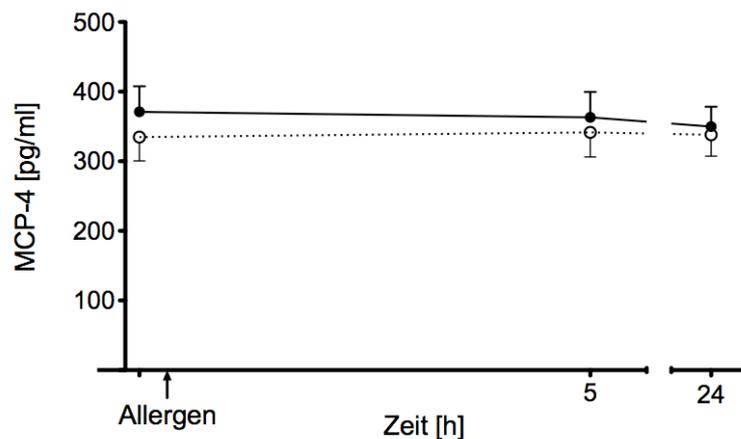


Abb. 15: **Zeitlicher Verlauf der MCP-4 Konzentration im Serum.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Alle Werte als Konzentration \pm SEM (pg/ml). X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

4.2.6 Serum IL-31

IL-31 konnte im Serum vor und nach Allergen- oder Kontrollprovokation nicht nachgewiesen werden.

4.3 Weitere Parameter

4.3.1 Juckreiz

Die Angaben der Probanden ergaben auf dem VAS einen direkten signifikanten Anstieg des Juckreizes vom Wert vor der Allergenprovokation (Allergenprovokationszeitpunkt Lösungsmittel: $5,8 \pm 1,8$ mm; siehe Abb. 16) auf den Höchstwert der Messung nach 10 Minuten (Allergenprovokationszeitpunkt 10 Minuten: $43,2 \pm 10,8$ mm). Der Wert verblieb über den Verlauf hinweg erhöht und näherte sich 24 Stunden nach der Provokation (Allergenprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $9 \pm 6,7$ mm) dem über die Kontrollprovokation relativ konstanten Wert an (Kontrollprovokationszeitpunkt Lösungsmittel: $5,2 \pm 2,8$ mm; Kontrollprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $3,1 \pm 0,9$ mm).

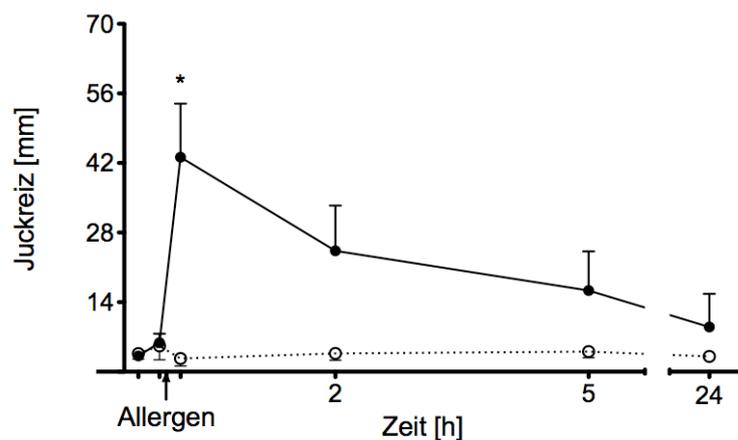


Abb. 16: **Zeitlicher Verlauf des Juckreizes.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Alle Werte als VAS \pm SEM (mm). X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.3.2 Sekretfluss

Der Sekretfluss nahm gemäß VAS direkt während der Sofortreaktion am stärksten zu (Allergenprovokationszeitpunkt Lösungsmittel: $3,2 \pm 1,1$ mm; Allergenprovokationszeitpunkt 10 Minuten: $49,2 \pm 9,5$ mm; siehe Abb. 17). Die Probanden schätzten den Sekretfluss auch 24 Stunden nach der Provokation (Allergenprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $19,5 \pm 11,1$ mm) höher ein als vor der Provokation oder zum Vergleichswert. Signifikant erhöht sind die Werte 10 Minuten, 2 Stunden und 5 Stunden nach der Provokation.

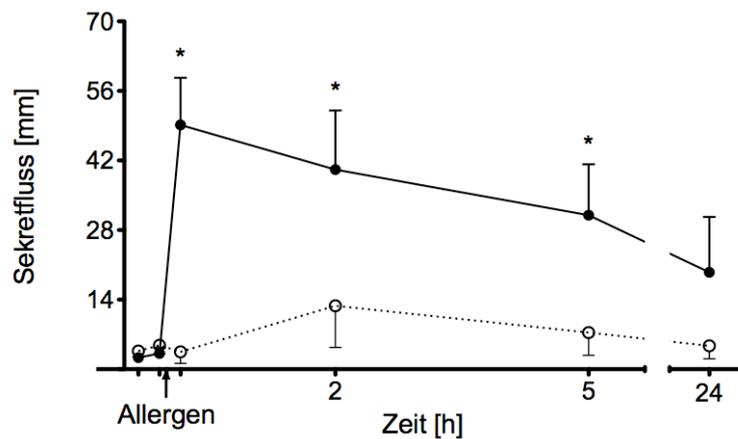


Abb. 17: **Zeitlicher Verlauf des Sekretflusses.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Alle Werte als VAS \pm SEM (mm). X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.3.3 Obstruktion

Die Obstruktion der Nase schätzten die Probanden bereits in der Frühphase (Allergenprovokationszeitpunkt 10 Minuten: $62,3 \pm 12,1$ mm; siehe Abb. 18) im Vergleich zum Basiswert (Allergenprovokationszeitpunkt Lösungsmittel: $4,25 \pm 1,4$ mm) sehr hoch ein. Auch 5 Stunden nach der Provokation (Allergenprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $32,5 \pm 9,5$ mm) blieb die Obstruktion signifikant erhöht. 24 Stunden nach Provokation sanken die Beschwerden erneut auf ein nicht signifikantes Niveau. Während der Kontrollprovokation empfanden wenige Probanden eine, verglichen zur Allergenprovokation, deutlich geringere Zunahme der Obstruktion nach 2 Stunden (Kontrollprovokationszeitpunkt 2 Stunden: $10,1 \pm 6,8$ mm) mit relativ konstanten Werten 5 Stunden nach der Provokation (Kontrollprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $11,7 \pm 6,2$ mm). Beide Werte stellten aber keine signifikanten Veränderungen dar und liegen weit unter den Allergenprovokationsergebnissen.

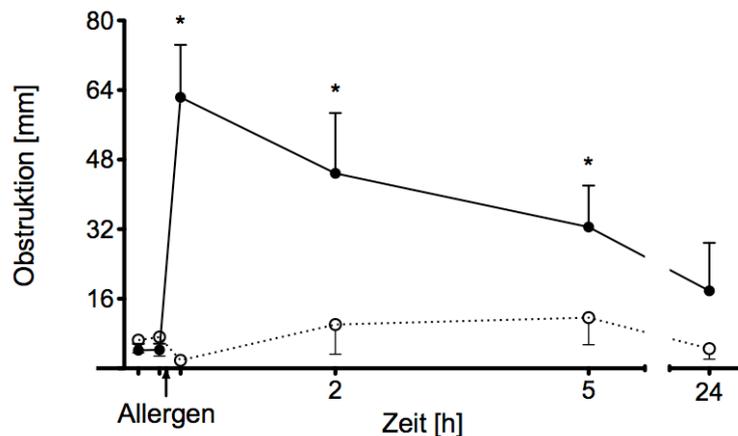


Abb. 18: **Zeitlicher Verlauf der Obstruktion.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Alle Werte als VAS \pm SEM (mm). X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.3.4 Niesen

Direkt nach der Allergenapplikation zeigten sich ausgeprägte signifikante Veränderungen (Allergenprovokationszeitpunkt Lösungsmittel: 0 ± 0 pro 10 Minuten; Allergenprovokationszeitpunkt 10 Minuten: $6 \pm 3,7$ pro 10 Minuten; siehe Abb. 19). Während der weiteren Messung gaben die Probanden vereinzelt ein Niesen an, allerdings war dies weitaus geringer ausgeprägt (Allergenprovokationszeitpunkt 2 Stunden: $0,1 \pm 0,1$ pro 10 Minuten; Allergenprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $0,1 \pm 0,0$ pro 10 Minuten). Während der Kontrollmessung kam es zu keinen nennenswerten Reaktionen. Die Probanden gaben lediglich vereinzelt Niesen an.

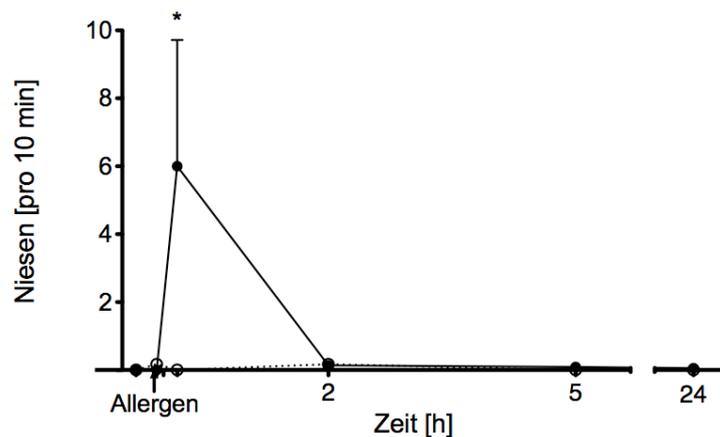


Abb. 19: **Zeitlicher Verlauf des Niesens.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Alle Werte als Anzahl pro 10 Minuten \pm SEM. X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.3.5 Sekretgewicht

Das pro Disk gemessene Sekretgewicht zeigte bei vergleichbar niedrigen Werten vor der Allergen- und Kontrollprovokation (Allergenprovokationszeitpunkt Lösungsmittel: $17,4 \pm 5,8$ mg; Kontrollprovokationszeitpunkt Lösungsmittel: $16,7 \pm 5,1$ mg; siehe Abb. 20) nur nach der Applikation der Allergenlösung einen signifikanten Anstieg 10 Minuten nach der Provokation (Allergenprovokationszeitpunkt 10 Minuten: $64,7 \pm 11,3$ mg). Von 2 Stunden (Allergenprovokationszeitpunkt 2 Stunden: $40,6 \pm 7,4$ mg) bis 24 Stunden (Allergenprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $37,8 \pm 9,4$ mg) verblieb der Wert konstant erhöht mit einer signifikant angestiegenen Menge bei 2 und 24 Stunden nach der Allergenprovokation. Nach der Kontrollprovokation kam es initial zu einem leichten Anstieg (Kontrollprovokationszeitpunkt 10 min: $25,7 \pm 9,8$ mg). Später nahm die Sekretmenge leicht ab und sank etwa auf Ausgangsniveau (Kontrollprovokationszeitpunkt 5 Stunden: $21,6 \pm 7,5$ mg).

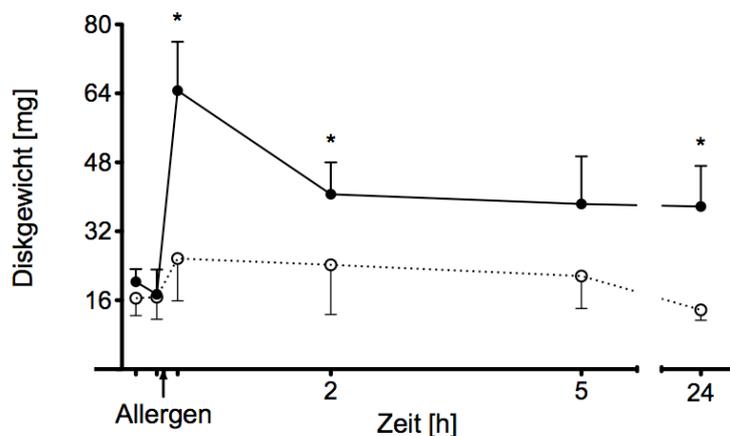


Abb. 20: **Zeitlicher Verlauf des Diskgewichtes.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Alle Werte als Sekretmenge \pm SEM (mg). X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.3.6 Rhinomanometrie

Der nasale Flow, ein inverser Parameter für die Obstruktion, zeigte einen kräftigen Abfall 10 Minuten nach der Provokation (Allergenprovokationszeitpunkt Lösungsmittel: $272,7 \pm 75,3$ ccm/s; Allergenprovokationszeitpunkt 10 Minuten: $76,7 \pm 38,3$ ccm/s; siehe Abb. 21). Erst 24 Stunden nach der Allergenprovokation näherte sich der Wert (Allergenprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $228,7 \pm 49,0$ ccm/s) den Messungen aus der Kontrollprovokation (Kontrollprovokationszeitpunkt 24 Stunden: $298,7 \pm 92,1$ ccm/s) an und erreicht das Niveau vor der Provokation. Nach der Kontrollprovokation kam es zu keiner nennenswerten Abnahme oder sonstigen Veränderungen des nasalen Flows.

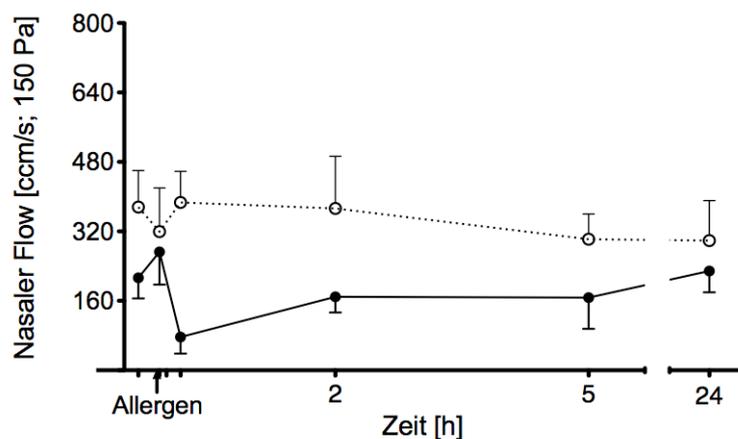


Abb. 21: **Zeitlicher Verlauf des Nasalen Flows.** Verlauf nach nasaler Allergenprovokation (durchgezogene Linie) und Kontrollprovokation (gepunktete Linie). Alle Werte als Atemflussgeschwindigkeit \pm SEM (ccm/s bei 150 Pa). X-Achse zeigt die Zeit in Stunden (h) und die Allergenprovokation (Pfeil) an. Signifikante Veränderungen zum Basiswert sind mit Stern (*) markiert.

Ergebnisse

4.4 Korrelationen

Korrelationen zwischen den Konzentrationen der Zytokine wurden gemäß nicht-parametrischen Verfahren, Kendall und Spearman, berechnet. Signifikante Korrelationen werden im Folgenden aufgelistet (siehe Tab. 2, 3, 4 und 5).

IL-5 (5h)				
	rho	p	tau	p
Obstruktion	1	<0,0001	1	0,0085
Sekretfluss	0,943	0,0048	0,867	0,0242
IL-10	0,812	0,0499	0,69	0,0801
IL-31	0,812	0,0499	0,69	0,0801

Tabelle 2: **Korrelationstabelle IL-5.** Die Korrelationen wurden für den selben Zeitpunkt berechnet. Die Zytokinwerte entstammen den Diskproben. Spearmans Rangkoeffizient (rho); Kendalls Tau (tau); Signifikanzwert (p).

IL-10 (5h)				
	rho	p	tau	p
IL-5 nach 2 Std.	0,928	0,0077	0,828	0,0324
Rhinomanometrie	-0,841	0,0361	-0,69	0,0324
Obstruktion	0,812	0,0499	0,69	0,0801
IL-5	0,812	0,0499	0,69	0,0801
IL-17	0,812	0,0499	0,69	0,0801
IL-16 nach 24 Std.	0,986	0,0003	0,966	0,0115

Tabelle 3: **Korrelationstabelle IL-10.** Die Korrelationen wurden immer für den selben Zeitpunkt berechnet. Ausnahmen sind gesondert bezeichnet. Die Zytokinwerte entstammen den Diskproben. Spearmans Rangkoeffizient (rho); Kendalls Tau (tau); Signifikanzwert (p).

IL-31 (5h)				
	rho	p	tau	p
Obstruktion	0,812	0,0499	0,69	0,0801
IL-5	0,812	0,0499	0,69	0,0801

Tabelle 4: **Korrelationstabelle IL-31.** Die Korrelationen wurden immer für den selben Zeitpunkt berechnet. Die Zytokinwerte entstammen den Diskproben. Spearmans Rangkoeffizient (rho); Kendalls Tau (tau); Signifikanzwert (p).

Ergebnisse

	Weitere Korrelationen			
	rho	p	tau	p
IL-10 nasal/ IL-16 nasal nach 5 Std.	0,812	0,0499	0,69	0,0801
IL-10 nasal nach 5 Std./ IL-16 nasal nach 24 Std.	0,986	0,0003	0,966	0,0115
IL-5 nasal/ IL-10 Serum nach 24 Std.	0,928	0,0077	0,828	0,0324
IL-5 nasal/ IL-16 Serum nach 24 Std.	0,943	0,0048	0,867	0,0242
IL-10 Serum/ IL-16 Serum nach 24 Std.	0,986	0,0003	0,966	0,0115

Tabelle 5: **Weitere Korrelationen.** Spearmans Rangkoeffizient (rho); Kendalls Tau (tau); Signifikanzwert (p).

5. Diskussion

In unserer Studie untersuchten wir Personen mit saisonaler allergischer Rhinitis außerhalb der Allergiesaison. Die rekrutierten Probanden wurden zunächst nach Beschwerden befragt und anschließend bestätigten wir die saisonalen Allergene durch einen Prick-Test. Alle eingeschlossenen Probanden zeigten ebenfalls eine klinische Reaktion auf die nasale Allergenprovokation. Eine ausbleibende Antwort führte zum Ausschluss. Ziel dieser Studie war die Identifikation und genauere Charakterisierung des zeitlichen Verlaufs der untersuchten Zytokine nach einer Allergenprovokation. Jede Probandin und jeder Proband durchliefen ebenfalls eine Kontrollprovokation. Aufgrund der grundlegenden Fragestellung nach der Beteiligung der untersuchten Zytokine und dem genauen zeitlichen Verlauf der Mediatoren bis zu 24 Stunden nach einer Allergenprovokation an der Allergischen Rhinitis wurde die Anzahl an Probanden zugunsten einer höheren Anzahl an Messzeitpunkten angepasst. Dies entspricht auch den Empfehlungen von Kranke et al. sowie Martínez-Mesa et al. (Kranke u. a., 2008; Martínez-Mesa u. a., 2014). Beide empfehlen selbstverständlich eine größtmögliche Probandenzahl für eine gute Reliabilität und Signifikanz der Ergebnisse, jedoch sollten diese Faktoren nicht die Chance verhindern, durch kleinere Studienpopulationen erste oder auch weiterführende Erkenntnisse über Erkrankungen zu erlangen. So war es uns möglich, auf signifikante Veränderungen im Zytokinmuster unter Hinzuziehung neuerer Zytokine wie IL-17 und IL-31 bei Patienten mit einer allergischen Rhinitis nach einer Allergenprovokation hinzuweisen. Dies vermag in der Zukunft als Ausgangspunkt für die Erstellung weiterführender Versuchsanordnungen mit gegebenenfalls größerer Studienpopulation dienen.

5.1 Klinische Parameter

Bei allen Teilnehmern kam es zu einer allergischen Reaktion nach Allergenprovokation, die wir durch Beobachtung der klinischen Symptomatik und die Einschätzung des Probanden selbst anhand eines VAS bestätigten. Auch die durchgeführte Rhinomanometrie zeigte eine Abnahme des *Flows*. In der Kontrollprovokation konnten keine vergleichbaren Entwicklungen in den Messparametern beobachtet werden.

Diskussion

Ebenfalls ergab die Auswertung des Lösungsmittelvortests vor jeder Hauptprovokation keine auffälligen Veränderungen.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Probanden die größte Zunahme an Juckreiz, Obstruktion, Sekretfluss und Niesen in den ersten 10 Minuten während der Sofortreaktion empfanden. Das Niesen trat jedoch nur direkt nach der Allergenprovokation auf. Im weiteren Verlauf nahmen die Beschwerden zwar ab, blieben aber teilweise weiterhin signifikant erhöht. Diese Empfindung der Teilnehmer hielt auch noch 24 Stunden nach der Provokation an, wobei Sekretfluss und Obstruktion den größten Unterschied zur Kontrollprovokation zeigten. Vorangehende Provokationstudien lieferten vergleichbare Ergebnisse mit signifikant erhöhten Beschwerden auch noch 6 Stunden nach Provokation und nur initial auftretendem Niesen (Wagenmann u. a., 2005).

Die Rhinomanometrie und das Diskgewicht stellen objektive Werte zum Nachweis einer erfolgreichen Provokation dar. Durch einen Abfall des nasalen *Flows* direkt nach der Provokation und einer Rückkehr auf den Ausgangswert erst 24 Stunden später, wurde die Reaktion bestätigt. Auch das Diskgewicht, das direkt nach Provokation stark anstieg und trotz darauffolgendem Abfall konstant erhöht blieb, beweist einen objektiv erhöhten Sekretflusses selbst 24 Stunden nach der Allergenapplikation.

5.2 Methoden

Die Allergenapplikation erfolgte als nasaler Allergenprovokationstest. Dieses Verfahren stellt seit mehr als 20 Jahren die Methode der Wahl für die weiterführende Abklärung der Verdachtsdiagnose Allergische Rhinitis im klinischen Alltag sowie im Rahmen wissenschaftlicher Studien nach Allergenprovokation dar (Druce, Schumacher, 1990). In einem 2011 veröffentlichten *Review* der Spanischen Gesellschaft für Allergie und klinische Immunologie wurde die nasale Allergenprovokation unter Gewährleistung eines standardisierten Ablaufs als sehr gut geeignete Methode zur Untersuchung pathophysiologischer Vorgänge in der allergischen Rhinitis bezeichnet, da sie die bestmögliche kontrollierte Reproduktion einer natürlichen Allergenexposition erreicht (Dordal u. a., 2011). Die Versuche wurden gemäß der Disk-Methode aus vorangehenden Studien von Wagenmann et al. und Baroody et al. durchgeführt

Diskussion

(Baroody u. a., 1993; Wagenmann u. a., 1996). Zur Provokation verwendeten wir allergengetränkte Filterpapierdisks. Vergleichende Untersuchungen durch Okuda zeigten, dass die Disk-Methode sowohl in der Reproduzierbarkeit, als auch im Nebenwirkungsprofil gegenüber alternativen Versuchsaufbauten mit Aerosolen, Puderauftragungen oder Lösungen überlegen ist (Okuda, 1989). Allerdings kann es zu einer unspezifischen mechanischen Reizung durch die Disk kommen. Diese äußert sich jedoch verglichen zur Allergenprovokation mit deutlich geringeren symptomatischen Beschwerden. Durch die Kontrollmessungen mit reiner Phosphat-gepufferten Kochsalzlösung aller Probanden wirkten wir diesem möglichen methodenbedingten Fehler entgegen und schlossen eventuelle unspezifische Reaktionen aus. Neben der Provokation eignet sich die Disk-Methode ebenfalls sehr gut für die Quantifizierung von Mediatoren im Nasensekret, da Verdünnungen, wie sie bei einer Nasenlavage verursacht werden, vermieden werden (Kim u. a., 2010).

Insbesondere im Falle von neueren Zytokinen untersucht eine Vielzahl allergologischer Studie zunächst die *in vitro* Veränderungen nach Provokation der zugehörigen mRNA, die als Zwischenschritt nach der Transkription vor der Translation in das endgültige Protein steht. Vergleichende Analysen weisen jedoch wiederholt daraufhin, dass eine Korrelation zwischen der Menge an mRNA und dem korrespondierenden Protein durchaus gering ausgeprägt sein kann (Liu u. a., 2016; Maier u. a., 2009). Die letztlich für die weitere biologische Reaktion entscheidende Proteinkonzentration kann daher nur unter Vorsicht aus der Menge an transkribierter mRNA erschlossen werden und der Grad an Korrelation sollte stets im Einzelfall untersucht werden. Die Einflussfaktoren auf die Translation des einzelnen Zytokins sind bis heute zahlreich und einer der Forschungsschwerpunkte der zellulären Systembiologie. Dementsprechend erfolgte in unserer Studie die Charakterisierung der letztlich aus der Translation entstehenden und für die weitere biologische Wirkung entscheidenden Proteine nach Allergenprovokation, um die Beteiligung dieser Zytokine an der allergischen Reaktion zu untersuchen.

Zur Messung der Zytokine nutzten wir ein System basierend auf der Elektrochemilumineszenz und einen ELISA.

Das ELISA-Verfahren ist ein System, das als Alternative zur 1959 erstmals vorgestellten *Radioimmunoassay* Technik, entwickelt wurde, um auf die Verwendung

Diskussion

radioaktiver Isotope verzichten zu können. Im Rahmen einer enzymatischen Reaktion, deren Geschwindigkeit von der Quantität des nachzuweisenden Stoffes abhängig ist, wird das Absorptionsverhalten verändert. Dieser Prozess beginnt bei Hinzugabe der Substratlösung durch den Untersucher und endet erst durch Einbringen einer Stopp-Lösung in den *Well*.

Das Verfahren ist eine etablierte Methode zum Nachweis biologischer Stoffe. Die Reproduzierbarkeit ist gut und die Entwicklung von neuen Antikörpern zügig. Aus diesem Grund entschieden wir uns für den ELISA, um IL-31 zu messen, da ein kommerzielles Set für dieses Zytokin bereits verfügbar und etabliert war.

Die Elektrochemilumineszenz ist das zweite Verfahren, das wir zur Messung verwendeten. Es ist heute in verschiedenen Forschungsgebieten als Nachweis- und Quantifizierungsmethode etabliert. Bereits 1960 vorgestellt, nahm das Interesse an dieser Methode erst in den letzten 20 Jahren zu (Rhyne u. a., 2009). Ihre Vorteile zum ELISA-Verfahren sind ein breiterer Messbereich innerhalb einer Messung bei hoher Sensitivität sowie der Verzicht auf eine Stopplösung durch die kontrollierte Lumineszenzreaktion direkt während der Messung. Hierdurch kann ein unterschiedlicher Endpunkt der Messung wirksam verhindert werden (Leng u. a., 2008). Dabitao et al. untersuchten Multiplex Systeme als Nachweisverfahren für proinflammatorische Zytokine im Serum und zeigten ein zufriedenstellendes Ergebnis für die Anwendbarkeit von Elektrochemilumineszenz (Dabitao u. a., 2011).

Der breitere Messbereich bei hoher Sensitivität des Elektrochemilumineszenzverfahren bietet in der durch uns durchgeführten Studie einen großen Vorteil. Sowohl die hochaffine Karbonoberfläche der *Wells*, als auch die wiederholbaren Zyklen der Elektrochemilumineszenzreaktion während einer einzigen Messung ermöglichen einen Nachweis geringster Konzentration an Mediatoren.

In der allergenfreien Jahreszeit ist eine niedrige Menge der untersuchten Stoffe im Nasensekret vor Provokation zu erwarten. Nach Provokation ist ein deutlicher Anstieg erkennbar. Wir waren durch das Elektrochemilumineszenzverfahren in der Lage, die gesamte Bandbreite dieser Entwicklung nach Provokation zu erfassen und zu beschreiben.

5.3 Zytokine

Im Nachfolgenden werden die Zytokine einzeln besprochen und ihr Verlauf nach der Allergenprovokation diskutiert. Unsere Studie diente der genaueren Charakterisierung der Rolle der Zytokine IL-5, IL-10, IL-16, IL-17, MCP-4 und IL-31 in der allergischen Rhinitis. Hierbei ist zu beachten, dass eine Komorbidität zwischen den verschiedenen atopischen Atemwegserkrankungen besteht (Schatz, 2007). So konnte bei der Hälfte der Patienten mit einem Asthma bronchiale ebenfalls eine allergische Rhinitis festgestellt werden (Cingi u. a., 2017). Die Entwicklung eines Asthmas bei bestehender allergischer Rhinitis und umgekehrt wird als sogenannter Etagenwechsel auf das Erklärungsmodell des pathophysiologisch vereinten Atemwegs (*unified Airway*) zurückgeführt (Georgopoulos u. a., 2014). Daher werden in der folgenden Diskussion ebenfalls Studienergebnisse der untersuchten Zytokine bei anderen allergischen Erkrankungen, insbesondere dem Asthma bronchiale, einbezogen.

5.3.1 IL-5

IL-5 ist ein Vertreter der Typ 2-Zytokine. Es wird hauptsächlich von Th2-Lymphozyten, aber auch von aktivierten eosinophilen Granulozyten und Mastzellen ausgeschüttet (Takatsu, Nakajima, 2008). IL-5 besitzt Strukturgemeinsamkeiten zu G-CSF und IL-3, daher werden diese auch in einer Zytokinfamilie (4 α -short-chain) zusammengefasst (Milburn u. a., 1993). Der Rezeptor ist vor allem auf der Oberfläche von eosinophilen Granulozyten aber auch auf basophilen Granulozyten und Mastzellen exprimiert (Guthridge u. a., 1998). Dessen Stimulation führt zur Aktivierung, Proliferation, Differenzierung, Chemotaxis und verlängerten Überlebenszeit von eosinophilen und basophilen Granulozyten (Martinez-Moczygemba, Huston, 2003). Diese Wirkung wiesen Clutterbuck et al. bereits 1989 durch eine Reifung und Vermehrung der Eosinophilenzahl im Knochenmark unter Stimulation mit IL-5 nach (Clutterbuck u. a., 1989). Nach Inhalation von rekombinantem IL-5 wiesen Probanden mit Asthma bronchiale noch 48 Stunden nach Provokation eine signifikant erhöhte Zahl eosinophiler Granulozyten im Serum auf (Shi u. a., 1999). Nach intravenöser Verabreichung von IL-5 kam es im Tierversuch zu einem signifikanten Anstieg der Eosinophilenzahl (Portanova u. a., 1995). Dies macht IL-5 zu einem der entscheidenden Mediatoren in der Entstehung und Aufrechterhaltung der allergischen Rhinitis, da seine Ausschüttung durch Mastzellen in der Frühphase zur Anziehung der

Diskussion

für die spätere Reaktion entscheidenden proinflammatorischen Zelltypen führt (Akdis u. a., 2011).

In dieser Studie konnte IL-5 im Nasensekret und im Serum der Probanden erfolgreich nachgewiesen werden. Der Verlauf nach Provokation zeigte einen signifikanten Anstieg von IL-5 im Nasensekret bereits 2 Stunden nach Provokation, der bis zu 24 Stunden nach Provokation weiterhin signifikant erhöht war. Unser Ergebnis stützt daher die oben vermutete wichtige Rolle von IL-5 als Vermittler zwischen der Früh- und Spätphase der allergischen Reaktion. Diese Ergebnisse werden von einer Vielzahl von Untersuchungen gestützt, die sich ebenfalls mit der Freisetzung von IL-5 nach Allergenprovokation bei der allergischen Rhinitis beschäftigt haben. Dabei konnten vergleichbare zeitliche Verläufe nach Allergenprovokation beschreiben werden (Jordan u. a., 2006; Scadding u. a., 2012; Serrano u. a., 2012).

Der initial im Nasensekret beginnende Anstieg an IL-5 setzt sich später auch systemisch mit sichtbaren Konzentrationsunterschieden im Serum von Probanden selbst 24 Stunden nach Provokation fort. Der systemische Anstieg an IL-5 konnte auch 24 Stunden nach Bronchoprovokation mit Allergenlösung durch Braunstahl et al. nachgewiesen werden (Braunstahl u. a., 2001).

Die signifikante Veränderung von IL-5 im Nasensekret korreliert zudem mit den Symptomen der Probanden nach Provokation. 5 Stunden nach Provokation besteht ein Zusammenhang zwischen IL-5 und den beiden Zytokinen IL-10 und IL-31 im Nasensekret. Die lokalen Mengen an IL-5 korrelieren auch mit den später erhöhten systemischen Konzentrationen an IL-10 und IL-16 bis zu 24 Stunden nach Provokation. Wir sind damit in der Lage die wichtige Rolle von IL-5 in der allergischen Reaktion durch seinen Anstieg und seine Korrelationen zu Symptomen der Probanden sowie den lokalen und systemischen Veränderungen weiterer an der allergischen Reaktion beteiligten Zytokinen zu bestätigen. Es erscheint daher nicht verwunderlich, dass dieser Botenstoff das vielversprechende Ziel moderner therapeutischer Ansätze ist und weiterhin als solcher erforscht wird.

Hierzu trugen auch Mausmodelle bei. Bei IL-5 defizienten Mäusen (Foster u. a., 1996) und auch nach Blockade der β -Untereinheit des Rezeptors (Allakhverdi u. a., 2002) beobachtete man ein Ausbleiben einer asthmatischen Reaktion auf Provokation und eine stark reduzierte Anzahl an eosinophilen Granulozyten im Serum.

Diskussion

Beim Menschen führte eine erfolgreiche Steroidtherapie zur Reduktion von IL-5 im Nasensekret von Patienten mit allergischer Rhinitis (Erin u. a., 2005). Darauf basierend wurde die gezielte Reduktion von IL-5 durch Antikörper und deren Auswirkungen untersucht. Im Jahre 2008 stellten Takatsu et al. eine Übersicht mehrerer klinischer Studien zur Anti-IL-5-Therapie vor, wobei allerdings trotz Reduktion der eosinophilen Granulozyten kaum eine Verbesserung der klinischen Beschwerden von Asthmatikern beschrieben wurde (Takatsu, Nakajima, 2008). Eine jüngere Studie von Ortega et al mit 576 Patientin mit wiederholt exazerbierten Asthma bronchiale zeigte jedoch einen Abfall der Exazerbationen und Reduktion der zuvor notwendigen Medikation unter Therapie mit dem IL-5 Antikörper Mepolizumab (Ortega u. a., 2014). Hier zeigte sich entgegen Takatsu et al. das Potential einer gezielten Einflussnahme auf die Mediatoren der allergischen Reaktion. Mepolizumab wurde 2015 in Europa zur Therapie des schweren therapierefraktären eosinophilen Asthmas zugelassen. An dieser Zulassung lässt sich aber auch das bisher eingeschränkte Einsatzspektrum von IL-5 Antikörpern verdeutlichen und lässt auf andere entscheidende Mediatoren schließen. Weitere IL-5 spezifische Therapien sind auch heute noch in der Erprobung. Hierzu gehören auch beispielsweise der gegen den IL-5-Rezeptor gerichtete Antikörper Benralizumab. Sein Potential für allergische Atemwegserkrankungen ist Gegenstand aktueller Studien (Varricchi, Canonica, 2016).

5.3.2 IL-10

IL-10 war in unserer Untersuchung lokal vor Provokation in zunächst sehr niedriger Menge nachweisbar. Nach Allergenexposition stieg die lokale IL-10 Menge in der Spätphase signifikant an. Eine signifikante systemische Veränderung von IL-10 konnten wir nach einmaliger Allergenprovokation nicht nachweisen.

Als von Treg-Zellen ausgeschüttetes Zytokin besitzt IL-10, das erstmals 1989 von der Forschungsgruppe um D. Fiorentino identifiziert wurde (Fiorentino u. a., 1989), eine wichtige Stellung als immunregulatorisches Zytokin in der allergischen Rhinitis. Sein Rezeptor besteht aus zwei Untereinheiten, wobei IL-10R2 ubiquitär und IL-10R1 vorrangig auf Monozyten/Makrophagen, T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, natürlichen Killerzellen, Mastzellen, dendritischen Zellen und Granulozyten nachweisbar ist (Nagalakshmi u. a., 2004; Saraiva, O'Garra, 2010). Ein Polymorphismus dieses Rezeptors wird als mögliche Ursache für die Entstehung von Erkrankungen aus dem

Diskussion

atopischen Formenkreis und von entzündlichen Darmerkrankungen vermutet (Hussein u. a., 2010; Moran u. a., 2013).

Die Wirkung des regulatorischen IL-10 entsteht einerseits durch Beeinflussung von Monozyten/Makrophagen. Es kommt zu einer verminderten Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen, einer verringerten Antigenpräsentation sowie einer verstärkten Phagozytose und daraus folgender geringerer Stimulation von CD4⁺-T-Lymphozyten. Andererseits können T-Lymphozyten, insbesondere Th2-Zellen, aufgrund der exprimierten IL-10-Rezeptoren auch direkt von IL-10 beeinflusst werden. Bei B-Lymphozyten bewirkt IL-10 einen verminderten *IgE-class switch* trotz Anwesenheit von IL-4 (Enk u. a., 1993).

Die Höhe der Serumkonzentration von IL-10 ist bei Patienten mit allergischer Rhinitis und/oder Asthma bronchiale abhängig von einer wiederholten Allergenexposition und einer spezifischen Immuntherapie mit Allergenen (SIT) (Lou u. a., 2011). Eine erfolgreiche spezifische Immuntherapie führte zu einer erhöhten Serumkonzentration an IL-10 (Akdis u. a., 1998). Nach Provokation kommt es *in vitro* bei Patienten mit allergischer Rhinitis und Zustand nach erfolgreicher SIT zu einer erhöhten allergenspezifischen Ausschüttung von IL-10 durch Treg-Zellen (Jutel u. a., 2003).

Dieser systemische Anstieg von IL-10 in der allergischen Rhinitis setzt sich auch in der Mukosa mit einer erhöhten IL-10 Konzentration bei Patienten nach SIT fort (Boghdadi u. a., 2012). Auch eine anhaltende Allergenexposition führt bei Patienten mit saisonaler allergischer Rhinitis zu einer erhöhten IL-10 Konzentration im Nasensekret (Benson u. a., 1997).

In der Spätphase stieg das IL-10 in Korrelation zum proinflammatorischen IL-5 im Nasensekret an. In Zusammenschau mit der suppressiven Wirkung von IL-10 auf Th2-Zellen weist dies auf eine lokal gegenregulatorische Wirkung während der Spätphase der allergischen Reaktion hin. Sogar 24 Stunden nach Provokation waren Korrelationen zwischen der systemischen Höhe an IL-10 und dem zuvor lokal erhöhten IL-5 nachweisbar. Insofern kann eine systemische Ausschüttung von IL-10 als Reaktion auf die einmalige, unter anderem durch IL-5 vermittelte, allergische Inflammation angenommen werden. Hierbei beschränkt sich IL-10 in seiner regulatorischen Wirkung nicht nur auf der verminderten Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine. Die Korrelation zwischen den lokalen und systemischen Konzentrationen an IL-10 und IL-

Diskussion

16 zeigt einen Zusammenhang zwischen diesen beiden regulatorischen Zytokinen in der Spätphase der allergischen Reaktion, die eine gegenseitige Stimulation vermuten lässt.

Das therapeutische Potential von IL-10 zeigt sich vor allem indirekt in der erhöhten Ausschüttung bei erfolgreicher spezifischer Immuntherapie. Ein direkter Effekt wurde bisher nur *in vitro* untersucht. Die Gabe von rekombinanten IL-10 zeigte bei hohen Konzentrationen *in vitro* einen Effekt auf Monozyten und Lymphozyten. Es kam zu einer verminderten Proliferation und geringeren IL-5 Produktion (Francis u. a., 2003). Obwohl die ersten Untersuchungen zur IL-10 Therapie bereits 20 Jahre zurückliegen, beschränkte man sich bisher vor allem auf chronisch entzündliche Darmerkrankungen und Dermatosen. Die Ergebnisse zeigten einen Effekt einer IL-10 Therapie in Abhängigkeit einer erfolgreichen topischen Applikation. Hier bietet die leichte Zugänglichkeit der Nasenschleimhaut potentiell eine Anwendungsmöglichkeit, wie sie verglichen zum Morbus Crohn nicht gegeben ist und daher bisher nur zu moderaten Therapieerfolgen bei entzündlichen Darmerkrankungen geführt hat (Mosser, Zhang, 2008). Inwiefern sich eine lokale Therapie mit hohen Dosen an rekombinatem IL-10 auf die allergische Rhinitis auswirken kann, ist allerdings noch nicht erforscht.

5.3.3 IL-16

IL-16, auch als *lympocyte chemoattractant factor* bekannt, ist ein immunmodulatorisches Zytokin, das keine strukturelle Ähnlichkeit zu anderen bekannten Zytokinen aufweist. Aufgrund dieser Einzigartigkeit wird IL-16 zu keiner Zytokinfamilie gezählt. Interesse gewann IL-16 auch aufgrund der verminderten HIV-Replikation sowie der positiven Korrelation zwischen der Serumkonzentration von IL-16 und dem sistierten Progress von AIDS bei erkrankten Personen (Amiel u. a., 1999).

In unserer Studie konnten wir einen signifikanten Anstieg von IL-16 nach Allergenprovokation im Nasensekret nachweisen. Somit könnte IL-16 eine Rolle in der allergischen Rhinitis zu spielen. Dieses Ergebnis wird durch Kramer et al. gestützt, die ebenfalls lokal einen Höhepunkt 5 Stunden nach Provokation festgestellt haben (Kramer u. a., 2001). Einen deutlichen Effekt auf die Serumkonzentration konnten wir nicht feststellen.

Entsprechend unserem Nachweis im Nasensekret nach einer allergischen Provokation, wird IL-16 von mehreren an dieser Reaktion beteiligten Zelltypen ausgeschüttet. Hierzu

Diskussion

gehören T-Lymphozyten, eosinophile Granulozyten, Mastzellen, Monozyten und dendritische Zellen (Cruikshank u. a., 2000). Interessant ist die Abhängigkeit des Ausschüttungszeitpunkts von IL-16 vom CD-Rezeptor-Status der produzierenden Zellen. Während der Synthese wird die Vorstufe pro-IL-16 durch Caspase-3 intrazellulär gespalten. Das erste Spaltprodukt bildet als Homotetramer den aktiven Liganden IL-16. Das andere Spaltprodukt besitzt im Zellkern selbst eine autokrine Wirkung. CD8⁺-Zellen können aufgrund konstanter Expression von Caspase-3 bereits frühzeitig nach Stimulation IL-16 freisetzen (Wu u. a., 1999).

Th2-Zellen und alle weiteren IL-16 produzierenden CD4⁺-Zellen, die an der allergischen Reaktion beteiligt sind, beginnen erst einige Stunden bis zu einem Tag nach der Aktivierung durch Mediatoren (wie IL-4) mit der Ausschüttung von IL-16. Dies deckt sich mit dem durch uns beobachteten maximalen Anstieg nach 5 Stunden. Hierbei ist besonders, dass die durch Caspase-3 ermöglichte Bildung von IL-16 nicht zwingend an eine Apoptose der Zelle gebunden ist. Cruikshank et al. vermuten jedoch eine mögliche Korrelation (Cruikshank u. a., 2000).

IL-16 agiert hauptsächlich über den CD4-Rezeptor (Cruikshank u. a., 1994). Daher betrifft die Wirkung von IL-16 vornehmlich Th-Zellen, Monozyten/Makrophagen, dendritische Zellen, eosinophile Granulozyten und Mastzellen. Aufgrund von *in vitro* Experimenten und nach Stimulationsversuchen an CD4⁺-defizienten Mastzellen konnten CCR5 und CD9 als weitere Rezeptoren identifiziert werden (Qi u. a., 2006; Staudinger u. a., 2003).

IL-16 wirkt chemotaktisch auf seine Zielzellen, insbesondere auf die CD4⁺-Treg-Zellen, aber auch auf alle weiteren CD4⁺-, CD8⁺-Zellen, Monozyten, Mastzellen und eosinophile Granulozyten (Center, Cruikshank, 1982). Zudem modifiziert es die Funktion von Th-Zellen, wobei es fördernd auf Th1-Zellen und hemmend auf Th2-Zellen wirkt. Dabei reduziert IL-16 die Ausschüttung von IL-5 und IL-13 und unterstützt die Infiltration durch Treg-Zellen (McFadden u. a., 2007). Auf diese Förderung von Treg-Zellen können wir durch die Korrelation von IL-16 und IL-10 sowohl lokal als auch systemisch *in vivo* hinweisen. In B-Lymphozyten wird die IgE Produktion inhibiert (Trudelle u. a., 2007). Bei Probanden mit Asthma bronchiale (Taha u. a., 2001) und in einer Studie zur Allergischen Rhinitis (Karaki u. a., 2005) konnte IL-16 in den Atemwegen nachgewiesen werden. Bei beiden Erkrankungen wurde zudem

Diskussion

ein Anstieg an IL-16 in den Atemwegssekreten nach Provokation beobachtet (Kramer u. a., 2001; Laberge u. a., 2000). Laberge et al. vermuteten auf der Basis einer immunhistochemischen Färbung von Biopsien aus den Atemwegen asthmatischer Patienten, dass Epithelzellen der pulmonalen Schleimhäute die Hauptquelle für IL-16 sind (Laberge u. a., 1997). Auch bei der atopischen Dermatitis konnten erhöhte Mengen an IL-16 im Serum und Veränderungen abhängig von der Behandlung mit Glukokortikoiden beobachtet werden (Masuda u. a., 2003). Im Mausmodell der allergischen Rhinitis wurden ebenfalls höhere IL-16-Level nach Provokation gezeigt (Akiyama u. a., 2009). Durch exogene Zufuhr von IL-16 im Mausprovokationsversuch konnten Atemwegsbeschwerden, die Eosinophilenzahl und die Konzentration an Th2-Zytokinen verglichen zur Kontrollgruppe deutlich reduziert werden (De Bie u. a., 2002).

IL-16 präsentiert sich somit als Mediator, dessen Beeinflussung eine vielversprechende therapeutische Option für allergische Erkrankungen bietet. Im Mausmodell hatte die systemische Anwendung von IL-16 eine deutliche Verbesserung von Atemwegsbeschwerden zur Folge. Ob man durch die Gabe von IL-16 den gewünschten Effekt einer Chemotaxis von Treg-Zellen, wie sie auch durch die SIT erzielt wird, und die damit verbundene Immunsuppression durch die Ausschüttung von IL-10 im erkrankten Atemwegsgewebe erreichen kann, muss für die allergische Rhinitis noch untersucht werden. Erfolge in Th2-Zellen vermittelten Entzündungen konnten bereits erreicht werden (De Bie u. a., 2002; McFadden u. a., 2007).

5.3.4 IL-17

IL-17 ist das erste bekannte Zytokin der IL-17 Familie und wird alternativ als CTLA 8 und IL-17A bezeichnet (Gu u. a., 2013). Es wird von Th17-Zellen, aber auch von anderen CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten, neutrophilen Granulozyten und natürlichen Killerzellen, somit von einer Vielzahl der an der allergischen Reaktion beteiligten Zellen, sezerniert (Aujla u. a., 2007; Harrington u. a., 2005). Es ist als Homodimer aus IL-17A Untereinheiten und als Heterodimer aus IL-17A/IL-17F biologisch aktiv (Zhang u. a., 2011). Aufgrund des Effekts einer erhöhten Bildung von Chemokinen und G-CSF besitzt IL-17 eine ausgeprägte Wirkung auf neutrophile Granulozyten. Zusätzlich führt es zu einer erhöhten Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine aus den Effektorzellen (Ye u. a., 2001) und zu einem Anstieg an IgE-ausschüttenden Zellen (Doreau u. a., 2009; Milovanovic u. a., 2010). Wiederum besitzt IL-10 als

Diskussion

regulatorischer Mediator einen suppressiven Effekt auf Th17-Zellen und verringert somit die IL-17 Ausschüttung, was die vermutete Bedeutung von IL-17 als proinflammatorisches Zytokin stärkt (Kulcsar, Griffin, 2016).

IL-17 ließ sich bei einigen Probanden in der Sofortphase der allergischen Rhinitis nachweisen. Einen signifikanten Anstieg an IL-17 im Nasensekret konnten wir 5 Stunden nach der Allergenprovokation zeigen. Hierbei handelt es sich um die Erstbeschreibung von IL-17 in der allergischen Rhinitis nach Allergenprovokation im *in vivo* Versuch. König et al. zeigten erst 2015 eine intrasaisonal erhöhte Konzentration an IL-17 im Nasensekret von Patienten mit saisonaler allergischer Rhinitis im Vergleich zu gesunden Probanden (König u. a., 2015). Durch Bajoriunie et al. konnte 2013 eine erhöhte IL-17 Konzentration in der Bronchiallavage von mit *Dermatophagoides pteronyssinus* provozierten Asthmatikern 7 Stunden nach Provokation gezeigt werden (Bajoriuniene u. a., 2013). Verglichen zu Kontrollgruppen weisen Asthmatiker eine signifikant höhere IL-17 Konzentration im Sputum und in der bronchoalveolären Flüssigkeit auf (Molet u. a., 2001).

Im Serum konnten wir IL-17 nach Allergenprovokation nicht nachweisen. Eine rein lokale Bedeutung von IL-17 sollte hieraus jedoch nicht geschlussfolgert werden, da Patienten mit allergischer Rhinitis während der Allergiesaison erhöhte Serumkonzentrationen an Th17-Zellen aufweisen (Ciprandi u. a., 2010). Während der Allergiesaison konnte IL-17 auch im Serum von Patienten mit schwerer allergischer Rhinitis und anhaltender Allergenexposition in erhöhter Konzentration nachgewiesen werden (Ciprandi u. a., 2009). Außerhalb der Saison konnte die gleiche Forschungsgruppe einen Anstieg der IL-17 Serumkonzentration nur bei Patienten mit schwerster allergischer Rhinitis mit Monosensitivität gegenüber Birkenpollen zeigen (Ciprandi u. a., 2008). Es wurde daher die Vermutung aufgestellt, dass die systemische Konzentration von IL-17 eine mögliche Aussagekraft für den Schweregrad der allergischen Rhinitis besitzen könnte. Dies wäre jedoch aufgrund einer kleinen Patientenpopulation nur eine Tendenz, die es in Zukunft abzuklären gilt.

Im Mausmodell konnte eine verminderte allergische Reaktion bei IL-17-defizienten Mäusen beobachtet werden (Nakae u. a., 2002). Dies konnte ebenfalls durch Quan et al. bestätigt werden, die bei IL-17-defizienten Mäusen verglichen zur Kontrollgruppe neben den leichter ausgeprägten Symptomen zusätzlich eine verminderte Anzahl an

Diskussion

eosinophilen Granulozyten im peripheren Gewebe sowie verringertes Serum-IgE feststellten (Quan u. a., 2012). Durch die Stimulation von naiven T-Zellen mit IL-17 im Mausversuch bei der atopischen Dermatitis konnte eine Induktion der Produktion von Th2-Zytokinen erzeugt werden (Nakajima u. a., 2014).

IL-17 und die ausschüttenden Th17-Zellen ergänzen das dichotome Th1/Th2-System und spielen aufgrund der beschriebenen Zusammenhänge eine Rolle bei allergischen Atemwegserkrankungen. Mausmodelle zeigen bereits erste Erfolge durch gezielte Beeinflussung dieses Zelltyps. Weitere Untersuchungen zu Th17-Zellen und IL-17 sind notwendig, um deren Auftreten und Wechselwirkung zu den anderen Mediatoren und Zelltypen der allergischen Rhinitis zu verstehen.

5.3.5 MCP-4

MCP-4 ist ein Chemokin, welches durch mehrere Gewebe wie Herz-, Lungen-, Gastrointestinal-, Thymus-, Leber-, Muskelgewebe gebildet wird. Die bisherigen Studien zum Nachweis von MCP-4 basierten auf der mRNA oder dem immunhistochemischen Nachweis von MCP-4 in Biopsien.

So wiesen Christodoulopoulos et al. bereits 1999 nach, dass die immunhistochemische Nachweisbarkeit von MCP-4 in Gewebebiopsien von Patienten mit allergischer Rhinitis nach 6-wöchiger topischer Steroidtherapie verglichen zur Placebogruppe signifikant geringer war (Christodoulopoulos u. a., 1999).

Wir konnten MCP-4 im gesamten Verlauf nach Allergenprovokation im Nasensekret zeigen. Im Unterschied hierzu war MCP-4 während der gesamten Kontrollprovokation, wie auch vor der Allergenprovokation nicht nachweisbar. Obwohl es sich hier nicht um signifikante Ergebnisse handelt, so ist dies der erste direkte Nachweis von MCP-4 im Nasensekret bei der allergischen Rhinitis nach kontrollierter Provokation außerhalb der Saison. Die Provokation führte zu keiner systemischen Veränderung in den Serumproben, so dass wir zumindest bei einmaliger Allergenprovokation bei MCP-4 von einer möglichen lokalen Bedeutung in der Entzündungsreaktion ausgehen.

Bei Asthmatikern wurde eine Überexpression von MCP-4 mRNA in Sputum und in Atemwegsbiopsien im Vergleich zu gesunden Probanden gemessen (Taha u. a., 2001;

Diskussion

1999). Auch die Serumkonzentration von MCP-4 war bei Asthmatikern verglichen zu gesunden Individuen erhöht (Kalayci u. a., 2004).

Als Chemokin aus der CysteinCystein-Chemokin-Familie (CC-Familie) besitzt MCP-4 eine größere Gruppe an Zielzellen als beispielsweise CXC-Chemokine, die vor allem neutrophile Granulozyten aktivieren (Van Coillie u. a., 1999). So wirkt MCP-4 auf eosinophile Granulozyten, basophile Granulozyten, T-Lymphozyten, Monozyten und dendritische Zellen und somit auf einen Großteil der an der allergischen Reaktion beteiligten Zelltypen und unterstützt deren Infiltration in das entzündete Gewebe. Im *in vitro* Versuch konnte die Chemotaxis von eosinophilen Granulozyten nach Stimulation mit MCP-4 beobachtet werden (Yamamoto u. a., 2005). Auch basophile Granulozyten werden von MCP-4 über die Expression vom MCP-4-Rezeptor CCR3 angezogen (Ugucioni u. a., 1997). Zudem induziert MCP-4 bei basophilen und eosinophilen Granulozyten, sowie bei Epithel- und Muskelzellen, die Ausschüttung proinflammatorischer Mediatoren (Mendez-Enriquez, García-Zepeda, 2013). Da es kein Ortholog zu MCP-4 bei der Maus gibt, ist eine Untersuchung von MCP-4 im Mausmodell nicht möglich (Luster, Rothenberg, 1997). Somit zeigt MCP-4 als Chemokin eine Wirkung auf mehrere mit der allergischen Rhinitis assoziierte Zelltypen. Die erhöhte Menge an MCP-4 in den Biopsien von Patienten mit allergischer Rhinitis zeigen die chronische Erhöhung von MCP-4 im lokalen Gewebe bei anhaltender Entzündung. Dies kann bis zu den von Kalayci et al. beschriebenen systemischen Konzentrationsveränderung im Serum von Atopikern führen (Christodoulopoulos u. a., 1999; Kalayci u. a., 2004).

Obwohl der Nachweis von MCP-4 schwierig ist, ist die Untersuchung von solchen Chemokinen insbesondere in Hinblick auf ihre Zielzellen wichtig. Dies liegt darin begründet, dass hier durch gezielte Einflussnahme, dies möglicherweise durch eine topische Therapie, eine Gewebeeinfiltration und konsekutive Freisetzung proinflammatorischer Mediatoren gestoppt oder zumindest verringert werden könnte.

Es wäre wünschenswert, über *knock out*-Untersuchungen die Abwesenheit von MCP-4 zu untersuchen, doch ist dies aufgrund des fehlenden Orthologs nicht möglich. Hier stellt also eine *in vivo* Untersuchung mit Probanden die einzige Möglichkeit dar, die Bedeutung von MCP-4 unter physiologischen Verhältnissen zu überprüfen und eine Bedeutung für die Therapie der allergischen Rhinitis zu klären.

5.3.6 IL-31

In dieser Arbeit gelang der Nachweis von IL-31 5 Stunden nach Provokation im Nasensekret. Weder vor der Provokation noch während der Kontrollprovokation konnte IL-31 nachgewiesen werden. Es handelt sich hierbei um den ersten *in vivo*-Nachweis von IL-31 nach Allergenprovokation bei Patienten mit allergischer Rhinitis. Der erste *in vitro* Nachweis bei der allergischen Rhinitis gelang 2011 bei antigenstimulierten peripheren mononuklearen Blutzellen durch Okano et al. (Okano u. a., 2011).

Erst 2015 veröffentlichte Liu et al. eine Untersuchung an 60 Kindern mit allergischer Rhinitis und 20 gesunden Kindern. Sie verglichen Gewebeproben, Nasenlavage und Serumproben (Liu u. a., 2015). In Gewebeproben und Nasenlavagen von der allergischen Gruppe ergab sich ein Zusammenhang zwischen der Konzentration an IL-31 und den Typ 2-Zytokinen IL-4, IL-5 und IL-13. Ein ähnliches Ergebnis konnte für die Serumproben nicht bestätigt werden. Dies unterstützt auch unseren fehlenden Nachweis von IL-31 in den Serumproben. Liu et al. vermuteten eine lokal begrenzte proinflammatorische Funktion für IL-31. Jedoch ist zu beachten, dass bei chronischer Exposition im Falle von Asthmatikern mit perennialer Allergie das Serum IL-31 erhöht ist (Lei u. a., 2008). Ebenfalls konnte bei Patienten, die unter atopischer Dermatitis leiden, eine Korrelation zwischen den Serum IL-31 Werten und den *Atopie Scores* festgestellt werden (Raap u. a., 2008).

Wir beobachteten einen Anstieg an IL-31 in der Spätphase der allergischen Reaktion. Da IL-31 vornehmlich von Th2-Lymphozyten freigesetzt wird, könnte dies auf die erfolgte Einwanderung dieser Zellen zurückzuführen sein (Cornelissen u. a., 2012). Von Interesse ist im Zusammenhang mit der Einwanderung von Th2-Lymphozyten die Korrelation zwischen IL-5 und IL-31 in der Spätphase. Ein Effekt von IL-5 auf die Freisetzung von IL-31 aus den Th2-Lymphozyten ist noch nicht bewiesen. Dies gelang bisher für das Zytokin IL-4. So konnte durch einen *in vitro* erfolgten Block von IL-4 die freigesetzte Menge an IL-31 deutlich vermindert wurde (Stott u. a., 2013). Lokal freigesetzt führt IL-31 dann zur Ausschüttung von Zytokinen und Chemokinen aus Epithelialzellen von Asthmatikern (Ip u. a., 2007), Keratinozyten (Dillon u. a., 2004) und eosinophilen Granulozyten (Cheung u. a., 2010). Dabei ist IL-31-RA neben der weit häufigeren zweiten Untereinheit OSMR β als Teil des IL-31 heterodimeren Rezeptors auf Monozyten, Makrophagen, eosinophilen sowie basophilen Granulozyten,

Diskussion

Epithelzellen und Keratinozyten vertreten, so dass all diese Zellen von IL-31 lokal beeinflusst werden (Dillon u. a., 2004).

Bis heute wird IL-31 aufgrund eines assoziierten Juckreizes insbesondere im Zusammenhang mit der atopischen Dermatitis untersucht. So konnte von Neis et al. eine erhöhte Gewebekonzentration von IL-31 mRNA bei Patienten mit atopischer Dermatitis und eine Korrelation zwischen der IL-31 Konzentration und der Konzentration an Th2-Zytokinen beschrieben werden (Neis u. a., 2006). In einer Studie von 2014 wurde die Vermutung aufgestellt, dass IL-31 sowohl zur Beschwerdedauer als auch Exazerbation der allergischen Dermatitis beizutragen vermag (Kato u. a., 2014).

Einen Hinweis auf das zukünftige Potential von IL-31 im therapeutischen Bereich geben Mausmodelle. Es wurde vermehrtes Kratzverhalten nach Gabe einer Einzeldosis IL-31 (Arai u. a., 2013) sowie bei einer generellen IL-31 Überexpression beobachtet (Dillon u. a., 2004). Dementsprechend führte sowohl die Gabe von IL-31 Antikörpern (Grimstad u. a., 2009) als auch die Verabreichung von IL-31-RA-Antikörpern zu einem verminderten Kratzverhalten (Kasutani u. a., 2014).

Aufgrund des in dieser Arbeit erstmaligen Nachweises der Beteiligung von IL-31 an der allergischen Rhinitis *in vivo*, konnte der Untersuchung der Eignung von IL-31 für die Therapie der allergischen Atemwegserkrankungen ein weiterer Schritt hinzugefügt werden.

6. Schlussfolgerungen

Erfolgreiche neue Ansätze zur Therapie der allergischen Rhinitis erfordern das tiefgreifende Verständnis der Grundlagen und pathophysiologischen Zusammenhänge. Da die allergische Rhinitis eine der häufigsten Erkrankungen weltweit ist und ein Fünftel der deutschen Bevölkerung betroffen ist, ist es wesentlich, weiter neue Fakten und Details über die beteiligten Zelltypen und Botenstoffe zu erforschen. Mit jeder neuen Subtypisierung der Zellen und jeder Entdeckung eines neuen Zytokins im menschlichen Körper ergeben sich potentiell auch für die allergische Rhinitis neue Ansatzpunkte für eine bessere Therapie, die es zu erschließen gilt. Durch die Untersuchung von IL-5, IL-10, IL-17, MCP-4 und IL-31 bis zu 24 Stunden nach einer gezielten Allergenprovokation unter bestmöglichem Ausschluss von Störfaktoren bei Probanden mit saisonaler allergischer Rhinitis war es uns möglich, die Freisetzung und den zeitlichen Verlauf diese Zytokine während einer allergischen Reaktion beim Menschen zu beschreiben. Die lokalen und systemischen Veränderungen dieser teils kürzlich entdeckten und für die allergische Rhinitis teilweise auch noch nicht *in vivo* nachgewiesenen Zytokine konnten dank der Disk-Methode und moderner Messverfahren ins Verhältnis zueinander und zu den Symptomen gesetzt werden. So handelte es sich nach unserer Kenntnis zum Zeitpunkt der Veröffentlichung um den ersten Nachweis von IL-17, MCP-4 und IL-31 im Nasensekret von Patienten mit allergischer Rhinitis nach nasaler Allergenprovokation.

IL-5, dessen zentrale Rolle in der Th2-Zellvermittelten Immunantwort durch vorherige Studien bekannt ist, bildete das Gerüst für die Untersuchung der weiteren Mediatoren und stellt eine zuverlässige Bestätigung einer erfolgreichen Provokation dar, auch wenn die therapeutische Einflussnahme auf IL-5 bei allergischer Rhinitis noch nicht nachgewiesen wurde.

Die Hemmung der allergischen Entzündung im Sinne einer selektiven Immunsuppression ist bereits heute ein wesentlicher Bestandteil der Therapie von Patienten mit allergischen Erkrankungen. Die gezielte Einflussnahme auf physiologisch relevante Immunmodulatoren ist auch das ein Ziel potentieller neuer Verfahren. Mit IL-10 und IL-16 konnten wir die Beteiligung zweier immunregulatorischer Zytokine an der allergischen Reaktion nach Allergenprovokation *in vivo* erfolgreich beschreiben.

Schlussfolgerungen

Die Th17-Zellen sind seit Ihrer Entdeckung als Erweiterung des bisher dichotomen Th1/Th2-Systems zur Erklärung der pathophysiologischen Entstehung allergischer Atemwegserkrankungen einer der Schwerpunkte aktueller Forschung. Durch unseren Nachweis der signifikanten Veränderung von IL-17, eines wesentlichen Botenstoffes von Th17-Zellen, nach nasaler Allergenprovokation konnten wir einen weiteren Baustein zur Erschließung dieses Zelltyps für die allergische Rhinitis hinzufügen.

IL-31 wurde bisher zumeist im Zusammenhang mit dem allergischen Asthma und der atopischen Dermatitis untersucht. Unsere Ergebnisse bestätigen eine Rolle für IL-31 nun auch bei der allergischen Rhinitis. Da es bereits in anderen Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis Korrelationen zu dem Schweregrad der Beschwerden aufweist, ist seine Rolle für die allergische Rhinitis nicht zu unterschätzen.

MCP-4 ist bisher nur selten *in vivo* untersucht worden. Aufgrund unseres Nachweises nach einmaliger Allergenprovokation stellt sich die Frage, ob dieses Chemokin möglicherweise für Entzündungszellen (z.B. eosinophile Granulozyten) eine relevante Rolle bei allergischen Atemwegserkrankungen innehat.

Die Entwicklung neuer Therapien für eine bessere Lebensqualität der Patienten mit allergischer Rhinitis muss weiterverfolgt werden. Die einzelnen Patienten sind sowohl in ihrem Privat- als auch Berufsleben durch diese Erkrankung eingeschränkt, so dass die allergische Rhinitis sich auch auf die gesamte Bevölkerung durch die verminderte Produktivität des Einzelnen wirtschaftlich auswirkt. Im Sinne des *unified airways* bietet eine effektive Therapie zudem die Chance, die Entwicklung von Komorbiditäten wie des allergischen Asthmas zu verhindern. Eine gezielte Einflussnahme auf die entscheidenden Mediatoren vermag möglicherweise zudem die Nebenwirkungen der heute noch unspezifischen Therapien zu mindern. Mit dieser Arbeit konnte das Verständnis für die Beteiligung der oben genannten Zytokine an der allergischen Rhinitis weiter ausgebaut werden.

Inwiefern sich hiervon eine Schlüsselrolle dieser Mediatoren ableiten lässt, muss durch weitere Studien untersucht werden. Größere Probandenzahlen, sensitivere Messmethoden und weitere Messzeitpunkte bieten dabei Ansätze für erweiterte deskriptive Versuchsmodelle. Ob eine gezielte Einflussnahme auf diese Zytokine eine Veränderung des Ablaufs und der Aufrechterhaltung der allergischen Reaktion zu erreichen vermag, sollte ebenfalls Gegenstand zukünftiger Forschung sein.

7. Literatur- und Quellenverzeichnis

- Akdis, C A; Blesken, T; Akdis, M; u. a. (1998): „Role of interleukin 10 in specific immunotherapy.“. In: *The Journal of clinical investigation*. American Society for Clinical Investigation 102 (1), S. 98–106, DOI: 10.1172/JCI2250.
- Akdis, Mübeccel; Burgler, Simone; Cramer, Reto; u. a. (2011): „Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : receptors, functions, and roles in diseases.“. In: *The Journal of allergy and clinical immunology*. 127 (3), S. 701–710, DOI: 10.1016/j.jaci.2010.11.050.
- Akiyama, Kosuke; Karaki, Masayuki; Kobayashi, Ryuichi; u. a. (2009): „IL-16 variability and modulation by antiallergic drugs in a murine experimental allergic rhinitis model.“. In: *International archives of allergy and immunology*. 149 (4), S. 315–322, DOI: 10.1159/000205577.
- Allakhverdi, Zoulfia; Allam, Mustapha; Renzi, Paolo M (2002): „Inhibition of Antigen-induced Eosinophilia and Airway Hyperresponsiveness by Antisense Oligonucleotides Directed against the Common β Chain of IL-3, IL-5, GM-CSF Receptors in a Rat Model of Allergic Asthma.“. In: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 165 (7), S. 1015–1021, DOI: 10.1164/ajrccm.165.7.2109095.
- Amiel, C; Darcissac, E; Truong, M J; u. a. (1999): „Interleukin-16 (IL-16) inhibits human immunodeficiency virus replication in cells from infected subjects, and serum IL-16 levels drop with disease progression.“. In: *The Journal of infectious diseases*. 179 (1), S. 83–91, DOI: 10.1086/314550.
- Arai, Iwao; Tsuji, Minoru; Takeda, Hiroshi; u. a. (2013): „A single dose of interleukin-31 (IL-31) causes continuous itch-associated scratching behaviour in mice.“. In: *Experimental dermatology*. 22 (10), S. 669–671, DOI: 10.1111/exd.12222.
- Aujla, Shean J; Dubin, Patricia J; Kolls, Jay K (2007): „Th17 cells and mucosal host defense.“. In: *Seminars in Immunology*. 19 (6), S. 377–382, DOI: 10.1016/j.smim.2007.10.009.
- Bachert, Claus; Borchard, Ulrich; Wedi, Bettina; u. a. (2006): „Allergische Rhinokonjunktivitis Leitlinie der DGAI in Abstimmung mit der DDG.“. In: *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. Blackwell Publishing Ltd 4 (3), S. 264–275, DOI: 10.1111/j.1610-0387.2006.04349.x.
- Bajoriuniene, Ieva; Malakauskas, Kestutis; Lavinskiene, Simona; u. a. (2013): „Th17 response to Dermatophagoides pteronyssinus is related to late-phase airway and systemic inflammation in allergic asthma.“. In: *International immunopharmacology*. 17 (4), S. 1020–1027, DOI: 10.1016/j.intimp.2013.10.004.
- Barody, FUAD M; Wagenmann, Martin; Naclerio, ROBERT M (1993): „Comparison of the secretory response of the nasal mucosa to methacholine and histamine.“. In: *Journal of Applied Physiology*. Am Physiological Soc 74 (6), S. 2661–2671.
- Baumann, R; Rabaszowski, M; Stenin, I; u. a. (2013): „Nasal levels of soluble IL-33R

Literatur und Quellen

- ST2 and IL-16 in allergic rhinitis: inverse correlation trends with disease severity“. In: *Clinical & Experimental Allergy*. S. n/a–n/a, DOI: 10.1111/cea.12148.
- Benson, M; Strannegård, I-L; Wennergren, G; u. a. (1997): „Cytokines in nasal fluids from school children with seasonal allergic rhinitis“. In: *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*. 8 (3), S. 143–149, DOI: 10.1111/j.1399-3038.1997.tb00168.x.
- Bergmann, Karl-Christian; Heinrich, Joachim; Niemann, Hildegard (2016): „Current status of allergy prevalence in Germany: Position paper of the Environmental Medicine Commission of the Robert Koch Institute.“. In: *Allergo journal international*. Springer Medizin 25 (1), S. 6–10, DOI: 10.1007/s40629-016-0092-6.
- Boghdadi, Ghada; Marei, Ayman; Ali, Atef; u. a. (2012): „Immunological markers in allergic rhinitis patients treated with date palm immunotherapy.“. In: *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society*. 61 (7), S. 719–724, DOI: 10.1007/s00011-012-0464-4.
- Bottomly, Kim (1988): „A functional dichotomy in CD4+ T lymphocytes“. In: *Immunology Today*. Elsevier Current Trends 9 (9), S. 268–274, DOI: 10.1016/0167-5699(88)91308-4.
- Bousquet, J; Khaltaev, N; Cruz, A A; u. a. (2008): „Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008*“. In: *Allergy*. 63, S. 8–160, DOI: 10.1111/j.1398-9995.2007.01620.x.
- Bousquet, J; Schunemann, H J; Fonseca, J; u. a. (2015): „MACVIA-ARIA Sentinel Network for allergic rhinitis (MASK-rhinitis): the new generation guideline implementation.“. In: *Allergy*. 70 (11), S. 1372–1392, DOI: 10.1111/all.12686.
- Braunstahl, G J; Overbeek, S E; Fokkens, W J; u. a. (2001): „Segmental bronchoprovocation in allergic rhinitis patients affects mast cell and basophil numbers in nasal and bronchial mucosa.“. In: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 164 (5), S. 858–865, DOI: 10.1164/ajrccm.164.5.2006082.
- Center, D M; Cruikshank, W (1982): „Modulation of lymphocyte migration by human lymphokines. I. Identification and characterization of chemoattractant activity for lymphocytes from mitogen-stimulated mononuclear cells.“. In: *The Journal of Immunology*. 128 (6), S. 2563–2568.
- Cheung, Phyllis Fung-Yi; Wong, Chun-Kwok; Ho, Amy Wing-Yin; u. a. (2010): „Activation of human eosinophils and epidermal keratinocytes by Th2 cytokine IL-31: implication for the immunopathogenesis of atopic dermatitis.“. In: *International immunology*. 22 (6), S. 453–467, DOI: 10.1093/intimm/dxq027.
- Christodoulopoulos, P; Wright, E; Frenkiel, S; u. a. (1999): „Monocyte chemotactic proteins in allergen-induced inflammation in the nasal mucosa: effect of topical corticosteroids.“. In: *The Journal of allergy and clinical immunology*. 103 (6), S. 1036–1044.
- Cingi, C; Gevaert, P; Mösges, R; u. a. (2017): „Multi-morbidities of allergic rhinitis in adults: European Academy of Allergy and Clinical Immunology Task Force

Literatur und Quellen

- Report.“. In: *Clinical and translational allergy*. BioMed Central 7 (1), S. 17, DOI: 10.1186/s13601-017-0153-z.
- Ciprandi, G; De Amici, M; Murdaca, G; u. a. (2009): „Serum interleukin-17 levels are related to clinical severity in allergic rhinitis.“. In: *Allergy*. 64 (9), S. 1375–1378, DOI: 10.1111/j.1398-9995.2009.02010.x.
- Ciprandi, Giorgio; Fenoglio, Daniela; De Amici, Mara; u. a. (2008): „Serum IL-17 levels in patients with allergic rhinitis.“. In: *The Journal of allergy and clinical immunology*. 122 (3), S. 650–1.e2, DOI: 10.1016/j.jaci.2008.06.005.
- Ciprandi, Giorgio; Filaci, Gilberto; Battaglia, Florinda; u. a. (2010): „Peripheral Th-17 cells in allergic rhinitis: New evidence.“. In: *International immunopharmacology*. 10 (2), S. 226–229, DOI: 10.1016/j.intimp.2009.11.004.
- Clutterbuck, E J; Hirst, E M; Sanderson, C J (1989): „Human interleukin-5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: comparison and interaction with IL-1, IL-3, IL-6, and GM-CSF.“. In: *Blood*. 73 (6), S. 1504–1512.
- Cornelissen, Christian; Lüscher-Firzlaff, Juliane; Baron, Jens Malte; u. a. (2012): „Signaling by IL-31 and functional consequences.“. In: *European journal of cell biology*. 91 (6-7), S. 552–566, DOI: 10.1016/j.ejcb.2011.07.006.
- Cruikshank, W W; Center, D M; Nisar, N; u. a. (1994): „Molecular and functional analysis of a lymphocyte chemoattractant factor: association of biologic function with CD4 expression.“. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 91 (11), S. 5109–5113.
- Cruikshank, W W; Kornfeld, H; D M Center (2000): „Interleukin-16.“. In: *Journal of leukocyte biology*. 67 (6), S. 757–766.
- Dabita, Djeneba; Margolick, Joseph B; Lopez, Joseph; u. a. (2011): „Multiplex measurement of proinflammatory cytokines in human serum: comparison of the Meso Scale Discovery electrochemiluminescence assay and the Cytometric Bead Array.“. In: *Journal of immunological methods*. 372 (1-2), S. 71–77, DOI: 10.1016/j.jim.2011.06.033.
- De Bie, J J; Jonker, E H; Henricks, P A J; u. a. (2002): „Exogenous interleukin-16 inhibits antigen-induced airway hyper-reactivity, eosinophilia and Th2-type cytokine production in mice.“. In: *Clinical & Experimental Allergy*. 32 (11), S. 1651–1658.
- Dillon, Stacey R; Sprecher, Cindy; Hammond, Angela; u. a. (2004): „Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice.“. In: *Nature Immunology*. 5 (7), S. 752–760, DOI: 10.1038/ni1084.
- Dordal, M T; Lluch-Bernal, M; Sánchez, M C; u. a. (2011): „Allergen-specific nasal provocation testing: review by the rhinoconjunctivitis committee of the Spanish Society of Allergy and Clinical Immunology.“. In: *Journal of investigational allergy & clinical immunology*. 21 (1), S. 1–12.

Literatur und Quellen

- Doreau, Agnès; Belot, Alexandre; Bastid, Jérémy; u. a. (2009): „Interleukin 17 acts in synergy with B cell-activating factor to influence B cell biology and the pathophysiology of systemic lupus erythematosus“. In: *Nature Immunology*. 10 (7), S. 778–785, DOI: 10.1038/ni.1741.
- Druce, H M; Schumacher, M J (1990): „Nasal provocation challenge. The Committee on Upper Airway Allergy.“. In: *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 86 (2), S. 261–264.
- Enk, A H; Angeloni, V L; Udey, M C; u. a. (1993): „Inhibition of Langerhans cell antigen-presenting function by IL-10. A role for IL-10 in induction of tolerance.“. In: *The Journal of Immunology*. 151 (5), S. 2390–2398.
- Erin, E M; Zacharasiewicz, A S; Nicholson, G C; u. a. (2005): „Topical corticosteroid inhibits interleukin-4, -5 and -13 in nasal secretions following allergen challenge“. In: *Clinical & Experimental Allergy*. 35 (12), S. 1608–1614, DOI: 10.1111/j.1365-2222.2005.02381.x.
- Fiorentino, David F; Bond, Martha W; Mosmann, T R (1989): „Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones.“. In: *The Journal of experimental medicine*. Rockefeller Univ Press 170 (6), S. 2081–2095.
- Foster, P S; Hogan, S P; Ramsay, A J; u. a. (1996): „Interleukin 5 deficiency abolishes eosinophilia, airways hyperreactivity, and lung damage in a mouse asthma model.“. In: *The Journal of experimental medicine*. 183 (1), S. 195–201.
- Francis, James N; Till, Stephen J; Durham, Stephen R (2003): „Induction of IL-10+CD4+CD25+ T cells by grass pollen immunotherapy“. In: *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 111 (6), S. 1255–1261, DOI: 10.1067/mai.2003.1570.
- Georgopoulos, Rachel; Krouse, John H; Toskala, Elina (2014): „Why Otolaryngologists and Asthma Are a Good Match“. In: *Otolaryngologic Clinics of North America*. 47 (1), S. 1–12, DOI: 10.1016/j.otc.2013.08.016.
- Grimstad, Oystein; Sawanobori, Yasushi; Vestergaard, Christian; u. a. (2009): „Anti-interleukin-31-antibodies ameliorate scratching behaviour in NC/Nga mice: a model of atopic dermatitis.“. In: *Experimental dermatology*. 18 (1), S. 35–43, DOI: 10.1111/j.1600-0625.2008.00766.x.
- Gu, Chunfang; Wu, Ling; Li, Xiaoxia (2013): „IL-17 family: Cytokines, receptors and signaling.“. In: *Cytokine*. 64 (2), S. 477–485, DOI: 10.1016/j.cyto.2013.07.022.
- Guthridge, M A; Stomski, F C; Thomas, D; u. a. (1998): „Mechanism of activation of the GM-CSF, IL-3, and IL-5 family of receptors.“. In: *Stem cells (Dayton, Ohio)*. 16 (5), S. 301–313, DOI: 10.1002/stem.160301.
- Harrington, Laurie E; Hatton, Robin D; Mangan, Paul R; u. a. (2005): „Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages“. In: *Nature Immunology*. 6 (11), S. 1123–1132, DOI: 10.1038/ni1254.

Literatur und Quellen

- Hussein, P Y; Zahran, F; Wahba, A Ashour (2010): „Interleukin 10 receptor alpha subunit (IL-10RA) gene polymorphism and IL-10 serum levels in Egyptian atopic patients“. In: *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. 20 (1), S. 20–26.
- Ip, Wai K; Wong, Chun K; Li, Mandy L Y; u. a. (2007): „Interleukin-31 induces cytokine and chemokine production from human bronchial epithelial cells through activation of mitogen-activated protein kinase signalling pathways: implications for the allergic response“. In: *Immunology*. Blackwell Publishing Ltd 122 (4), S. 532–541, DOI: 10.1111/j.1365-2567.2007.02668.x.
- Jordan, T R; Pfrogner, E; Rasp, G; u. a. (2006): „[Clinical symptoms and mediators in the allergic early and late phase reaction]“. In: *Laryngo- rhino- otologie*. 85 (2), S. 113–123, DOI: 10.1055/s-2005-870248.
- Jutel, Marek; Akdis, Mübeccel; Budak, Ferah; u. a. (2003): „IL-10 and TGF- β cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy“. In: *European Journal of Immunology*. 33 (5), S. 1205–1214, DOI: 10.1002/eji.200322919.
- Kaiser, Harold B (2004): „Risk Factors in Allergy/Asthma“. In: *Allergy and asthma proceedings*. OceanSide Publications, Inc 25 (1), S. 7–10.
- Kalayci, Omer; Sonna, Larry A; Woodruff, Prescott G; u. a. (2004): „Monocyte chemotactic protein-4 (MCP-4; CCL-13): a biomarker of asthma.“. In: *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma*. 41 (1), S. 27–33.
- Karaki, Masayuki; Dobashi, Hiroaki; Kobayashi, Ryuichi; u. a. (2005): „Expression of interleukin-16 in allergic rhinitis.“. In: *International archives of allergy and immunology*. 138 (1), S. 67–72, DOI: 10.1159/000087359.
- Kasutani, K; Fujii, E; Ohyama, S; u. a. (2014): „Anti-IL-31 receptor antibody is shown to be a potential therapeutic option for treating itch and dermatitis in mice“. In: *British Journal of Pharmacology*. Oxford, UK: BlackWell Publishing Ltd 171 (22), S. 5049–5058, DOI: 10.1111/bph.12823.
- Kato, Atsuhiko; Fujii, Etsuko; Watanabe, Takeshi; u. a. (2014): „Distribution of IL-31 and its receptor expressing cells in skin of atopic dermatitis“. In: *Journal of Dermatological Science*. 74 (3), S. 229–235, DOI: 10.1016/j.jdermsci.2014.02.009.
- Kim, Young Hyo; Jang, Tae Young; Kim, Jae Eun; u. a. (2010): „Comparison of Collecting Methods of Nasal Fluids Using Albumin after Nasal Provocation in Allergic Patients“. In: *Korean Journal of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery*. 53 (10), S. 615, DOI: 10.3342/kjorl-hns.2010.53.10.615.
- König, Katrin; Klemens, Christine; Eder, Katharina; u. a. (2015): „Cytokine profiles in nasal fluid of patients with seasonal or persistent allergic rhinitis.“. In: *Allergy, asthma, and clinical immunology : official journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology*. 11 (1), S. 26, DOI: 10.1186/s13223-015-0093-x.
- Kramer, M F; Ostertag, P; Pfrogner, E; u. a. (2001): „Nasal IL-16 and MIP-1 alpha in

Literatur und Quellen

- late-phase allergic response.“. In: *Allergy and asthma proceedings : the official journal of regional and state allergy societies*. 22 (3), S. 127–132.
- Kranke, P; Schuster, F; Muellenbach, R; u. a. (2008): „Grundlagen und Prinzipien klinischer Studien: Wie viele Patienten sollen (müssen) untersucht werden“. In: *Kardiotechnik*. 4, S. 114–117.
- Kulcsar, Kirsten A; Griffin, Diane E (2016): „T cell-derived interleukin-10 is an important regulator of the Th17 response during lethal alphavirus encephalomyelitis.“. In: *Journal of neuroimmunology*. 295-296, S. 60–67, DOI: 10.1016/j.jneuroim.2016.04.010.
- Laberge, S; Pinsonneault, S; Varga, E M; u. a. (2000): „Increased expression of IL-16 immunoreactivity in bronchial mucosa after segmental allergen challenge in patients with asthma.“. In: *The Journal of allergy and clinical immunology*. 106 (2), S. 293–301, DOI: 10.1067/mai.2000.108112.
- Laberge, Sophie; Ernst, Pierre; Ghaffar, Omar; u. a. (1997): „Increased Expression of Interleukin-16 in Bronchial Mucosa of Subjects with Atopic Asthma“. In: *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. American Thoracic Society New York, NY 17 (2), S. 193–202, DOI: 10.1165/ajrcmb.17.2.2750.
- Lei, Z; Liu, G; Huang, Q; u. a. (2008): „SCF and IL-31 rather than IL-17 and BAFF are potential indicators in patients with allergic asthma.“. In: *Allergy*. 63 (3), S. 327–332, DOI: 10.1111/j.1398-9995.2007.01566.x.
- Leng, Sean X; McElhaney, Janet E; Walston, Jeremy D; u. a. (2008): „ELISA and multiplex technologies for cytokine measurement in inflammation and aging research.“. In: *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*. 63 (8), S. 879–884.
- Liu, Wenlong; Luo, Renzhong; Chen, Yanqiu; u. a. (2015): „Interleukin-31 promotes helper T cell type-2 inflammation in children with allergic rhinitis.“. In: *Pediatric research*. 77 (1-1), S. 20–28, DOI: 10.1038/pr.2014.151.
- Liu, Yansheng; Beyer, Andreas; Aebersold, Ruedi (2016): „On the Dependency of Cellular Protein Levels on mRNA Abundance.“. In: *Cell*. Elsevier 165 (3), S. 535–550, DOI: 10.1016/j.cell.2016.03.014.
- Lou, Wei; Wang, Chengshuo; Wang, Yang; u. a. (2011): „Responses of CD4+CD25+Foxp3+ and IL-10-secreting type I T regulatory cells to cluster-specific immunotherapy for allergic rhinitis in children“. In: *Pediatric Allergy and Immunology*. 23 (2), S. 141–150, DOI: 10.1111/j.1399-3038.2011.01249.x.
- Luster, A D; Rothenberg, M E (1997): „Role of the monocyte chemoattractant protein and eotaxin subfamily of chemokines in allergic inflammation.“. In: *Journal of leukocyte biology*. 62, S. 620–633.
- Maier, Tobias; Güell, Marc; Serrano, Luis (2009): „Correlation of mRNA and protein in complex biological samples.“. In: *FEBS letters*. 583 (24), S. 3966–3973, DOI: 10.1016/j.febslet.2009.10.036.

Literatur und Quellen

- Martinez-Moczygemba, Margarita; Huston, David P (2003): „Biology of common β receptor–signaling cytokines: IL-3, IL-5, and GM-CSF“. In: *The Journal of allergy and clinical immunology*. Elsevier 112 (4), S. 653–665, DOI: 10.1067/mai.2003.1796.
- Martínez-Mesa, Jeovany; González-Chica, David Alejandro; Bastos, João Luiz; u. a. (2014): „Sample size: how many participants do I need in my research?“. In: *Anais brasileiros de dermatologia*. 5. Aufl. 89 (4), S. 609–615, DOI: 10.1590/abd1806-4841.20143705.
- Masuda, Kouji; Katoh, Norito; Okuda, Fujiko; u. a. (2003): „Increased levels of serum interleukin-16 in adult type atopic dermatitis.“. In: *Acta dermato-venereologica*. 83 (4), S. 249–253.
- McFadden, Caroline; Morgan, Ross; Rahangdale, Shilpa; u. a. (2007): „Preferential migration of T regulatory cells induced by IL-16.“. In: *The Journal of Immunology*. 179 (10), S. 6439–6445.
- Mendez-Enriquez, E; García-Zepeda, E A (2013): „The multiple faces of CCL13 in immunity and inflammation“. In: *Inflammopharmacology*. DOI: 10.1007/s10787-013-0177-5.
- Milburn, Michael V; Hassell, Anne M; Lambert, Millard H; u. a. (1993): „A novel dimer configuration revealed by the crystal structure at 2.4 Å resolution of human interleukin-5“. In: *Nature*. Nature Publishing Group 363 (6425), S. 172–176.
- Milovanovic, Milena; Drozdenko, Gennadiy; Weise, Christin; u. a. (2010): „Interleukin-17A Promotes IgE Production in Human B Cells“. In: *Journal of Investigative Dermatology*. 130 (11), S. 2621–2628, DOI: 10.1038/jid.2010.175.
- Molet, Sophie; Hamid, Qutayba; Davoineb, Francis; u. a. (2001): „IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines“. In: *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 108 (3), S. 430–438, DOI: 10.1067/mai.2001.117929.
- Moran, Christopher J; Walters, Thomas D; Guo, Cong Hui; u. a. (2013): „IL-10R polymorphisms are associated with very-early-onset ulcerative colitis“. In: *Inflammatory Bowel Diseases*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company 19, S. 115–123, DOI: 10.1002/ibd.22974.
- Mosmann, T R; Cherwinski, H; Bond, M W; u. a. (1986): „Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins.“. In: *The Journal of Immunology*. 136 (7), S. 2348–2357.
- Mosser, David M; Zhang, Xia (2008): „Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine“. In: *Immunological Reviews*. Blackwell Publishing Ltd 226 (1), S. 205–218, DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00706.x.
- Nagalakshmi, Marehalli L; Murphy, Erin; McClanahan, Terrill; u. a. (2004): „Expression patterns of IL-10 ligand and receptor gene families provide leads for biological characterization.“. In: *International immunopharmacology*. 4 (5), S. 577–592, DOI: 10.1016/j.intimp.2004.01.007.

Literatur und Quellen

- Nakae, Susumu; Komiyama, Yutaka; Nambu, Aya; u. a. (2002): „Antigen-Specific T Cell Sensitization Is Impaired in IL-17-Deficient Mice, Causing Suppression of Allergic Cellular and Humoral Responses“. In: *Immunity*. 17 (3), S. 375–387, DOI: 10.1016/S1074-7613(02)00391-6.
- Nakajima, Saeko; Kitoh, Akihiko; Egawa, Gyohei; u. a. (2014): „IL-17A as an inducer for Th2 immune responses in murine atopic dermatitis models.“. In: *The Journal of investigative dermatology*. 134 (8), S. 2122–2130, DOI: 10.1038/jid.2014.51.
- Neis, Mark M; Peters, Bettina; Dreuw, Alexandra; u. a. (2006): „Enhanced expression levels of IL-31 correlate with IL-4 and IL-13 in atopic and allergic contact dermatitis“. In: *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 118 (4), S. 930–937.
- Okano, Mitsuhiro; Fujiwara, Tazuko; Higaki, Takaya; u. a. (2011): „Characterization of pollen antigen-induced IL-31 production by PBMCs in patients with allergic rhinitis.“. In: *The Journal of allergy and clinical immunology*. 127 (1), S. 277–9–279.e1–11, DOI: 10.1016/j.jaci.2010.09.029.
- Okuda, Minoru (1989): „Nasal Provocation Testing“. In: *American Journal of Rhinology and Allergy*. 3 (2), S. 83–92, DOI: 10.2500/105065889782009796.
- Ortega, Hector G; Liu, Mark C; Pavord, Ian D; u. a. (2014): „Mepolizumab Treatment in Patients with Severe Eosinophilic Asthma“. In: *New England Journal of Medicine*. 371 (13), S. 1198–1207, DOI: 10.1056/NEJMoa1403290.
- Ozdemir, Cevdet; Kucuksezer, Umut Can; Akdis, Mübeccel; u. a. (2011): „Specific immunotherapy and turning off the T cell: how does it work?“. In: *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 107 (5), S. 381–392, DOI: 10.1016/j.anai.2011.05.017.
- Portanova, Joseph P; Christine, Lori J; Rangwala, Shaikat H; u. a. (1995): „Rapid and selective induction of blood eosinophilia in guinea pigs by recombinant human interleukin 5“. In: *Cytokine*. 7 (8), S. 775–783, DOI: 10.1006/cyto.1995.0093.
- Qi, Jian C; Wang, Jing; Mandadi, Sravan; u. a. (2006): „Human and mouse mast cells use the tetraspanin CD9 as an alternate interleukin-16 receptor.“. In: *Blood*. 107 (1), S. 135–142, DOI: 10.1182/blood-2005-03-1312.
- Quan, Song-Hua; Zhang, Yu-Lian; Han, Doo Hee; u. a. (2012): „Contribution of interleukin 17A to the development and regulation of allergic inflammation in a murine allergic rhinitis model.“. In: *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 108 (5), S. 342–350, DOI: 10.1016/j.anai.2012.02.014.
- Raap, Ulrike; Wichmann, Katja; Bruder, Manuela; u. a. (2008): „Correlation of IL-31 serum levels with severity of atopic dermatitis.“. In: *The Journal of allergy and clinical immunology*. 122 (2), S. 421–423, DOI: 10.1016/j.jaci.2008.05.047.
- Rhyne, Paul W; Wong, Oi T; Zhang, Yan J; u. a. (2009): „Electrochemiluminescence in bioanalysis“. In: *Bioanalysis*. 1 (5), S. 919–935, DOI: 10.4155/bio.09.80.

Literatur und Quellen

- Saraiva, Margarida; O'Garra, Anne (2010): „The regulation of IL-10 production by immune cells“. In: *Nature Reviews Immunology*. Nature Publishing Group 10 (3), S. 170–181, DOI: 10.1038/nri2711.
- Scadding, Guy W; Calderon, Moises A; Bellido, Virginia; u. a. (2012): „Optimisation of grass pollen nasal allergen challenge for assessment of clinical and immunological outcomes.“. In: *Journal of immunological methods*. 384 (1-2), S. 25–32, DOI: 10.1016/j.jim.2012.06.013.
- Schatz, M (2007): „A survey of the burden of allergic rhinitis in the USA.“. In: *Allergy*. Blackwell Publishing Ltd 62 Suppl 85 (s85), S. 9–16, DOI: 10.1111/j.1398-9995.2007.01548.x.
- Schmidt-Weber, C B (2008): „Th17 and treg cells innovate the TH1/TH2 concept and allergy research.“. In: *Chemical immunology and allergy*. 94, S. 1–7, DOI: 10.1159/000154844.
- Schoenwetter, William F; Dupclay, Leon; Appajosyula, Sireesh; u. a. (2004): „Economic impact and quality-of-life burden of allergic rhinitis“. In: *Current Medical Research and Opinion*. Informa UK Ltd UK 20 (3), S. 305–317, DOI: 10.1185/030079903125003053.
- Serrano, C D; Valero, A; Bartra, J; u. a. (2012): „Nasal and bronchial inflammation after nasal allergen challenge: assessment using noninvasive methods.“. In: *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. 22 (5), S. 351–356.
- Shi, H Z; Li, C Q; Qin, S M; u. a. (1999): „Effect of inhaled interleukin-5 on number and activity of eosinophils in circulation from asthmatics.“. In: *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*. 91 (2), S. 163–169, DOI: 10.1006/clim.1999.4699.
- Staudinger, Robert; Phogat, Sanjay K; Xiao, Xiaodong; u. a. (2003): „Evidence for CD4-enhanced signaling through the chemokine receptor CCR5.“. In: *The Journal of biological chemistry*. 278 (12), S. 10389–10392, DOI: 10.1074/jbc.M212013200.
- Stott, Bryony; Lavender, Paul; Lehmann, Sarah; u. a. (2013): „Human IL-31 is induced by IL-4 and promotes TH2-driven inflammation.“. In: *The Journal of allergy and clinical immunology*. 132 (2), S. 446–454.e5, DOI: 10.1016/j.jaci.2013.03.050.
- Strachan, D P (1989): „Hay fever, hygiene, and household size.“. In: *BMJ: British Medical Journal*. BMJ Group 299 (6710), S. 1259–1260.
- Taha, R A; Laberge, S; Hamid, Q; u. a. (2001): „Increased expression of the chemoattractant cytokines eotaxin, monocyte chemoattractant protein-4, and interleukin-16 in induced sputum in asthmatic patients.“. In: *Chest*. 120 (2), S. 595–601.
- Taha, R A; Minshall, E M; Miotto, D; u. a. (1999): „Eotaxin and monocyte chemoattractant protein-4 mRNA expression in small airways of asthmatic and nonasthmatic individuals.“. In: *The Journal of allergy and clinical immunology*. 103 (3 Pt 1), S. 476–483.
- Takatsu, Kiyoshi; Nakajima, Hiroshi (2008): „IL-5 and eosinophilia“. In: *Current*

Literatur und Quellen

- opinion in immunology*. 20 (3), S. 288–294, DOI: 10.1016/j.coi.2008.04.001.
- Trudelle, Annick; Bassam, El, Souad; Pinsonneault, Stéphane; u. a. (2007): „Interleukin-16 inhibits immunoglobulin e production by B lymphocytes.“. In: *International archives of allergy and immunology*. 143 (2), S. 109–118, DOI: 10.1159/000098659.
- Uguccioni, M; Mackay, C R; Ochensberger, B; u. a. (1997): „High expression of the chemokine receptor CCR3 in human blood basophils. Role in activation by eotaxin, MCP-4, and other chemokines.“. In: *The Journal of clinical investigation*. 100 (5), S. 1137–1143, DOI: 10.1172/JCI119624.
- Van Coillie, Els; Van Damme, Jo; Opdenakker, Ghislain (1999): „The MCP/eotaxin subfamily of CC chemokines“. In: *Cytokine & growth factor reviews*. 10 (1), S. 61–86.
- Varricchi, Gilda; Canonica, Walter G (2016): „The Role of Interleukin 5 in Asthma.“. In: *Expert review of clinical immunology*. DOI: 10.1080/1744666X.2016.1208564.
- Wagenmann, M; Baroody, F M; Desrosiers, M; u. a. (1996): „Unilateral nasal allergen challenge leads to bilateral release of prostaglandin D2.“. In: *Clinical & Experimental Allergy*. 26 (4), S. 371–378.
- Wagenmann, M; Schumacher, L; Bachert, C (2005): „The time course of the bilateral release of cytokines and mediators after unilateral nasal allergen challenge“. In: *Allergy*. 60 (9), S. 1132–1138, DOI: 10.1111/j.1398-9995.2005.00867.x.
- Wu, David M H; Zhang, Yujun; Parada, Nereida A; u. a. (1999): „Processing and Release of IL-16 from CD4+ But Not CD8+ T Cells Is Activation Dependent“. In: *The Journal of Immunology*. 162, S. 1287–1293.
- Yamamoto, Hideaki; Nagata, Makoto; Sakamoto, Yoshio (2005): „CC chemokines and transmigration of eosinophils in the presence of vascular cell adhesion molecule 1.“. In: *Annals of allergy, asthma & immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 94 (2), S. 292–300, DOI: 10.1016/S1081-1206(10)61311-7.
- Ye, P; Rodriguez, F H; Kanaly, S; u. a. (2001): „Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating factor expression, neutrophil recruitment, and host defense.“. In: *The Journal of experimental medicine*. 194 (4), S. 519–527.
- Zhang, Xiaoping; Angkasekwinai, Pornpimon; Dong, Chen; u. a. (2011): „Structure and function of interleukin-17 family cytokines.“. In: *Protein & cell*. 2 (1), S. 26–40, DOI: 10.1007/s13238-011-1006-5.

8. Anhang

8.1 Probandenfragebogen



Universitätsklinikum Düsseldorf

Allergie-Sprechstunde
Leiter Priv.-Doz. Dr. M. Wagenmann

Hals-, Nasen- und Ohrenklinik
Direktor der Klinik Univ.-Prof. Dr. Jörg Schipper

Patientenetikett

Allergie-Fragebogen

Arzt:

Datum:

Aktuelle Beschwerden (Bitte ankreuzen)

Beschwerden	keine	gering	mäßig	schwer
Verstopfte Nase				
Nasenlaufen				
Schleimbildung im Rachen, Hals				
Niesreiz (Niesanfälle)				
Juckreiz in der Nase				
Rötung, Juckreiz der Augen				
Augentränen				
Husten, Reizhusten				
Asthma, Atemnot, schweres				
Juckreiz an Lippen, Rachen,				
Hautausschlag, Neurodermitis				

Seit wie vielen Jahren bestehen die Symptome? _____ Jahre

Zu welcher Tageszeit haben Sie Beschwerden? nachts tagsüber

Zu welcher Jahreszeit haben Sie Beschwerden? (Bitte einkreisen):

Jan----Feb----März----Apr----Mai----Juni----Juli----Aug----Sept----Okt----Nov----Dez

Wie häufig haben Sie Beschwerden? an weniger als 4 Tagen/Woche an mehr als 4 Tagen/Woche

an weniger als 4 Wochen/Jahr an mehr als 4 Wochen/Jahr

Haben Sie an bestimmten Orten Beschwerden?

Universitätsklinikum Düsseldorf



Allergie-Sprechstunde
Leiter Priv.-Doz. Dr. M. Wagenmann

Hals-, Nasen- und Ohrenklinik
Direktor der Klinik Univ.-Prof. Dr. Jörg Schipper

Bitte kreuzen Sie im Folgenden das Zutreffende an und schreiben Sie genauere Angaben auf:

Unverträglichkeit von Medikamenten: Nein Ja (falls ja, welche?):

Unverträglichkeit von Aspirin: Nein Ja

Unverträglichkeit von Lebensmitteln: Nein Ja (falls ja, welche?):

Aufgetretene Beschwerden bei obengenannten Unverträglichkeiten?

Welche Medikamente nehmen Sie regelmäßig ein?

Frühere Operationen an der Nase oder den Nasennebenhöhlen? Nein Ja (falls ja, welche?):

Wurde früher bereits ein Allergietest durchgeführt: Nein Ja (Zeitpunkt):

Welche Allergien wurden früher festgestellt?

Wurde Ihre Allergie bereits mit folgenden Mitteln behandelt?

Nasenspray: Nein Ja

Antihistaminika (antiallergische Tabletten): Nein Ja

Hyposensibilisierung („Allergieimpfung“, -spritze): Nein Ja Zeitdauer: _____ Jahre

Haben sich Ihre Beschwerden durch diese Behandlung gebessert? Nein Ja

Universitätsklinikum Düsseldorf

Allergie-Sprechstunde
Leiter Priv.-Doz. Dr. M. Wagenmann

Hals-, Nasen- und Ohrenklinik
Direktor der Klinik Univ.-Prof. Dr. Jörg Schipper

Frühere Beschwerden:

Waren in Ihrer **Kindheit** bereits folgende Erkrankungen bekannt?

Allergien: Nein Ja

Asthma: Nein Ja

Hauterkrankungen: Nein Ja

Folgende Behandlung hat stattgefunden:

Haben Blutsverwandte (Eltern, Geschwister, Großeltern) von Ihnen eine der folgenden Beschwerden?

Allergien Nein Ja (Wer, welche?)

Asthma : Nein Ja (Wer?)

Hauterkrankungen Nein Ja (z.B. Neurodermitis, Wer?)

Informationen zu Ihrer Wohnsituation:

Haustiere: Nein Ja Welche? (z.B. Hund): _____

Teppichboden: Nein Ja Zimmer (z.B. Schlafzimmer) : _____

Kübelpflanzen: Nein Ja Zimmer (z.B. Wohnzimmer): _____

Feuchte Stellen, Schimmel: Nein Ja Zimmer (z.B. Badezimmer) _____

Teilen Sie uns mit, was Sie zusätzlich für wichtig zur Abklärung Ihrer Allergie halten:

Universitätsklinikum Düsseldorf

Allergie-Sprechstunde
Leiter Priv.-Doz. Dr. M. Wagenmann



Hals-, Nasen- und Ohrenklinik
Direktor der Klinik Univ.-Prof. Dr. Jörg Schipper

Ergebnis Hauttest

Ergebnis spezifisches IgE

Ergebnis nasale Provokation

Diagnose

Procedere

Arzt:

Datum:

8.2 Prick-Test

Universitätsklinikum Düsseldorf
 Moorenstraße 5
 40225 Düsseldorf
 Tel.: 0211/811-7582
HNO-Klinik
Direktor: Prof. Dr. J. Schipper
Allergieambulanz

Datum: _____

Untersucher: _____

		Prick
1	NaCL	
2	Histamin	
3	Gräser	
4	Bäume I	
5	Bäume II	
6	Pilze I	
7	Pilze II	
8	Roggen	
9	Birke	
10	Hasel	
11	Erle	
12	Wegerich	
13	Beifuß	
14	Brennnessel	
15	Ragweed	
16	Katze	
17	Hund	
18	Alternaria	
19	Cladosporum	
20	Aspergillus	
21	Penicillium	
22	D. farinae	
23	D. pteron.	
24	Lepidoglyphus d.	
25	Acarus siro	
26	Tyrophagus p.	
27		
28		
29		
30		
31		
32		
33		
34		
35		

	Scratch	
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		
21		
22		
23		
24		

Beurteilung	Prick (mm Ø)	
	Quaddel	Erythem
Ø	Ø	<3
+	2-3	3-5
++	3	6-10
+++	4-6	11-20
++++	>6	>20
	Pseudopodien	

8.3 Probandenaufklärung

Hals-Nasen-Ohrenklinik

Patienteninformation

Mechanismen der allergischen Rhinitis.

Studie zur Untersuchung der Pathophysiologie der allergischen Rhinitis nach nasaler Allergenprovokation

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

Sie werden gebeten an einer Untersuchung teilzunehmen, bei der wir die pathophysiologischen Mechanismen bei der allergischen Rhinitis ("Heuschnupfen") in Ihrer Nase untersuchen möchten.

Ehe Sie Ihr Einverständnis geben, lesen Sie bitte dieses Schreiben durch und lassen sich von Ihren betreuenden Ärzten eingehend aufklären, falls Sie etwas nicht verstehen.

Allergische Rhinitis ist eine Erkrankung, deren Häufigkeit in den letzten Jahren deutlich zugenommen hat. Sie wird bei Menschen mit einer Sensibilisierung durch an sich eigentlich nicht krankmachende Allergene ausgelöst und führt zu den typischen Symptomen wie Augen- und Nasenjucken, Niesen und übermäßiger Sekretproduktion. Des Weiteren führt eine allergische Rhinitis häufig zu einem sogenannten Etagenwechsel in den Atemwegen, es kann ein Asthma bronchiale entstehen. Die Wahrscheinlichkeit, weitere Allergien zu entwickeln, wenn man bereits gegen ein Allergen sensibilisiert ist, ist deutlich erhöht, auch können Kreuzallergien und Nahrungsmittelallergien auftreten.

Ziel der Untersuchung:

Mit dieser Studie helfen Sie uns, zu verstehen, welche Mechanismen bei der allergischen Rhinitis ablaufen und wie die allergische Entzündungsreaktion gesteuert wird. Hieraus möchten wir anwendungsbezogen die Therapiemöglichkeiten der allergischen Rhinitis verbessern.

Vorgehensweise:

Die Studie wird durchgeführt gemäß den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAKI). Da es nicht um eine Therapiestudie, sondern um eine diagnostisch-wissenschaftliche Studie handelt, erhalten Sie kein Studienmedikament.

Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien und allgemeine körperliche und HNO-ärztliche Untersuchung (Screening-Visite):

Vor Aufnahme in die Studie werden Sie gründlich körperlich untersucht, es wird ein HNO-Status mit Allergietest durchgeführt. Sie erhalten diese Patienteninformation und werden genau über den Ablauf der Studie, die Art der Allergenprovokation, die Probengewinnung und über mögliche Risiken informiert.

Als Schwangere oder Stillende dürfen Sie diese Studie nicht beginnen.

Visite 1:

Wenn Sie schriftlich Ihr Einverständnis für die Teilnahme an dieser Studie erklärt haben und die körperliche Untersuchung ergibt, dass Sie die Einschlusskriterien erfüllen, führen wir am gleichen

Anhang

Tag, wenn Sie die Methode kennen und damit einverstanden sind, einen Allergietest durch. Außerdem erheben wir mit einem Fragebogen Ihre medizinische Vorgeschichte und fragen Ihre Beschwerden ab. Alternativ erhalten Sie hierfür einen neuen Termin.

Visite 2:

Außerhalb der Allergensaison -also wahrscheinlich im Herbst oder Winter -erhalten Sie einen Termin zur nasalen Allergenprovokation: Dazu werden wir eine Lösung aus Allergenen -das sind natürlich vorkommende Substanzen (z.B. aus Gräserpollen gewonnen), die die allergische Reaktion Ihrer Nase auslösen-auf die Nasenschleimhaut auftragen. Dies geschieht entweder mit einer kleinen Filterpapierscheibe. Kurz nach dem Auftragen werden die Ihnen bekannten Symptome der allergischen Rhinitis auftreten: Sie werden niesen, Ihre Nase wird laufen und die Nasenatmung erschwert sein. Außerdem kann es zu Jucken in den Augen, zu Tränenfluss und zu einem Jucken im Rachenbereich kommen. Diese Beschwerden können einige Stunden anhalten. Nach der Provokation werden wir Ihr Nasensekret und Ihren Speichel in festgesetzten Abständen (0 und 10 min; 2 und 5 Stunden) sammeln und den Luftstrom ihrer Nase messen (anteriore Rhinomanometrie). Das Sammeln des Nasensekrets geschieht durch das Auflegen von kleinen Filterpapierscheibchen (Discs) auf die Nasenschleimhaut. Die Zeit zwischen der 2h und der 5h Messung steht Ihnen frei zur Verfügung. In dem Nasensekret und dem Speichel möchten wir verschiedene Substanzen, die als Antwort auf die Allergenprovokation in Ihrer Nase produziert werden, messen.

Zudem werden wir Ihnen einmal vor der Allergenprovokation, fünf Stunden und 24h danach etwa 25 ml Blut abnehmen.

Visite 3:

Am Folgetag zu Visite 2 findet noch eine einmalige Nasensekret- und Speichelgewinnung, sowie eine Rhinomanometrie statt.

Visite 4 und 5:

Diese beiden Visiten entsprechen Visite 2 und 3, und werden mit mindestens 14 Tagen Abstand nach Visite 3 durchgeführt.

Mögliche Risiken und Unannehmlichkeiten:

Die bei durchzuführenden **Blutabnahmen** können schmerzhaft sein und zu einem blauen Fleck an der Entnahmestelle führen.

Die **nasale Allergenprovokation** ist der **Goldstandard** zur Diagnostik einer allergischen Rhinitis. Durch Verabreichung eines Allergenaerosols in die Nase wird künstlich eine rhinitische Reaktion mit Niesen, Tränen, Juckreiz und Sekretfluss ausgelöst. In seltenen Fällen kann es nach einer Allergenprovokation der Nase zum Auftreten von Schwellungen im Rachenbereich oder des Gaumenzäpfchens (Uvula) kommen. Sehr selten kommt es zu Beschwerden im Bereich der unteren Atemwege im Sinne eines Asthma bronchiale mit Atemnot. Dies ist wahrscheinlicher, wenn Sie früher bereits asthmatische Beschwerden hatten. Diese vorübergehende Verengung der Atemwege kann durch die Anwendung von bronchienerweiternden Medikamenten rückgängig gemacht werden. Unsere Mitarbeiter sind mit der Anwendung und Indikation solcher Therapeutika gut vertraut.

Extrem selten kann es nach einer nasalen Allergenprovokation zum Auftreten von Allgemeinsymptomen im Sinne eines anaphylaktischen Schocks kommen. Dieses akute und lebensbedrohliche Krankheitsbild muß durch die Verabreichung von Adrenalin und eventuell weiterer auch intravenös verabreichter Medikamente behandelt werden. Auch darin sind unsere Mitarbeiter geschult. Anzeichen für die Entwicklung eines anaphylaktischen Schocks wären ein

Hautausschlag, Jucken der Handflächen, Atemnot, Kurzatmigkeit, schneller Pulsschlag, Unruhe.

Falls bei Ihnen Kontraindikationen zur Anwendung solcher Medikamente bestehen, sollten Sie uns dies bitte jetzt mitteilen. Auch über weitere Medikamentenunverträglichkeiten bitten wir Sie, uns in Kenntnis zu setzen. Solche sehr seltenen, schwerwiegenden Nebenwirkungen bedürfen dann einer intensivmedizinischen Behandlung. Ihr Studienarzt ist mit der Methode der nasalen Allergenprovokation vertraut und kann Notfälle adäquat behandeln. Die nasale Allergenprovokation wird in der HNO-Klinik des Universitätsklinikums Düsseldorf routinemäßig in der Patientenversorgung eingesetzt. Die folgende Messung des Nasendrucks (anteriore Rhinomanometrie) kann objektivieren, wie stark die allergenabhängige Reaktion der Nasenatmungsbehinderung ist. Des Weiteren messen wir Ihre Symptome: Juckreiz und Niesen. Nach ca. 15 Minuten ist die akute Phase beendet. Ca. 6 Stunden nach nasaler Allergenprovokation kann allerdings wieder eine Nasenatmungsbehinderung, Niesen, Juckreiz oder auch eine systemische Reaktion stattfinden.

Die Einlage von **Papierdiscs** in die Nase zum Sammeln von Nasensekret nach nasaler Allergenprovokation kann Niesreiz hervorrufen.

Während der Dauer der klinischen Prüfung sollte eine andere medizinische Behandlung mit Ausnahme von Notfallsituationen nur im Einvernehmen mit dem Prüfarzt erfolgen. **Der klinische Prüfer ist von einer Notfallbehandlung unverzüglich zu unterrichten.** Bei Verdacht auf einen studienbedingten Gesundheitsschaden sind Sie verpflichtet, dies dem klinischen Prüfer unverzüglich anzuzeigen.

Sollten Sie Fragen zu dieser Studie haben, fragen Sie unbedingt Ihren betreuenden Prüfarzt. Er beantwortet Ihre Fragen gern.

Die Teilnahme ist freiwillig/ alternative Behandlungsmethoden:

Die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf hat der Durchführung dieser Studie in vorliegender Form zugestimmt. Ihre Teilnahme an der Studie ist freiwillig und so können Sie die Teilnahme auch ablehnen. Sie können auch jederzeit Ihre Teilnahme beenden – ohne Nachteile für Ihre weitere Behandlung. Außerdem ist die Pflicht jedes Studienarztes die Studienbehandlung abzubrechen, falls Risiken für Ihre Gesundheit bestehen. Sollten Sie Fragen hinsichtlich dieser Studie haben, beobachten Sie Nebenwirkungen oder benötigen Sie medizinische Behandlung, dann wenden Sie sich bitte ohne zu zögern an das Studienteam der HNO-Klinik Düsseldorf, Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf. Tel. 0211/8117580.

8.4 Probandeneinwilligung

Universitätsklinikum Düsseldorf



Hals-Nasen-Ohrenklinik

Patienteneinwilligung

Mechanismen der allergischen Rhinitis. Studie zur Untersuchung der Pathophysiologie der allergischen Rhinitis während der Allergensaison und nach nasaler Allergenprovokation

Die Teilnahme ist freiwillig

Die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf hat der Durchführung dieser Studie in vorliegender Form zugestimmt. Ihre Teilnahme an der Studie ist freiwillig und so können Sie die Teilnahme auch ablehnen. Sie können auch jederzeit Ihre Teilnahme beenden – ohne Nachteile für Ihre weitere Behandlung. Außerdem ist es die Pflicht jedes Studienarztes die Studienbehandlung abzubrechen, falls Risiken für Ihre Gesundheit bestehen.

Es ist mir bekannt, dass Informationen über mich gesammelt werden und als Teil dieser Studie analysiert werden. Die Informationen aller Studienteilnehmer werden zusammengefasst. Es ist mir bekannt, dass jede Information, die mich direkt als Individuum identifiziert, in ärztlichen Händen verbleibt und vertraulich behandelt wird. Es ist mir auch bekannt, dass Daten erhoben werden, die mich nicht direkt als Individuum identifizieren (sog. pseudonymisierte Daten). Diese Informationen werden in eine Datenbank eingegeben und werden Teil der zu veröffentlichenden Studienergebnisse sein. Dies hat keine Konsequenz bzgl. des Schutzes meiner persönlichen Daten. Ich habe das Recht jederzeit Einblick in meine Daten zu erhalten, und wenn gerechtfertigt auch Korrekturen anbringen zu lassen.

Zustimmung

Ich habe die zugehörige Patientenaufklärung und diese Einwilligungserklärung gelesen und mit meinem Arzt besprochen, dass ich an dieser experimentellen Studie teilnehme. Ich weiß, dass meine Teilnahme freiwillig ist und ich diese jederzeit beenden kann. Dies wird meine zukünftige Behandlung nicht beeinträchtigen. Ich habe eine Kopie dieser Einverständniserklärung erhalten.

- Diese wissenschaftliche Studie wurde mir klar und vollständig erklärt.
- Ich habe ein Exemplar der Patientenaufklärung erhalten. Ich werde eine Kopie der Patientenaufklärung behalten.
- Meine Fragen wurden verständlich und vollständig beantwortet.
- Ich weiß, dass ich jederzeit anrufen kann, sollte ich weitere Fragen oder Probleme haben.
- Die möglichen Vorteile und Nachteile wurden mir erklärt.
- Mir wurde erklärt, dass es sich um keine Behandlungsstudie handelt.
- Ich hatte genug Zeit, über meine Entscheidung nachzudenken.
- Es ist mir bekannt, dass meine Teilnahme freiwillig ist. Es ist mir ebenfalls bekannt, dass ich mich zurückziehen kann ohne irgendwelche Gründe anzugeben und dies wird keine Konsequenz auf meine Behandlung oder mein Verhältnis zu meinem Arzt haben.

Sollten neue Informationen zu diesen Behandlungen verfügbar werden, werden mir diese unverzüglich mitgeteilt.

Ort, Datum

Unterschrift

Ort, Datum

Unterschrift Studienleiter

Information und Einwilligungserklärung zum Datenschutz bei Studien nach §§ 40-42 AMG

**Information und Einwilligungserklärung
zum Datenschutz**

Bei wissenschaftlichen Studien werden persönliche Daten und medizinische Befunde über Sie erhoben. Die Weitergabe, Speicherung und Auswertung dieser studienbezogenen Daten erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor Teilnahme an der Studie folgende freiwillige Einwilligung voraus:

1) Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie erhobene Daten/ Krankheitsdaten auf Fragebögen und elektronischen Datenträgern in der HNO-Klinik der Universität Düsseldorf, aufgezeichnet werden. Soweit erforderlich, dürfen die erhobenen Daten pseudonymisiert weitergegeben werden an:

a) die zuständige Überwachungsbehörde (Landesamt oder Bezirksregierung) oder Bundesoberbehörde (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bonn) zur Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der Studie.

2) Außerdem erkläre ich mich damit einverstanden, dass ein autorisierter zur Verschwiegenheit verpflichteter Beauftragter des Auftraggebers, der zuständigen Überwachungsbehörde oder der zuständigen Bundesoberbehörde in meine beim Prüfarzt vorhandenen personenbezogenen Daten Einsicht nimmt, soweit dies für die Überprüfung der Studie notwendig ist. Für diese Maßnahme entbinde ich den Prüfarzt von der ärztlichen Schweigepflicht.

3) Die Einwilligung zur Erhebung und Verarbeitung meiner personenbezogenen Daten, insbesondere der Angaben über meine Gesundheit, ist unwiderruflich. Ich bin bereits darüber aufgeklärt worden, dass ich jederzeit die Teilnahme an der Studie beenden kann. Im Fall eines solchen Widerrufs meiner Einwilligung, an der Studie teilzunehmen, erkläre ich mich damit einverstanden, dass die bis zu diesem Zeitpunkt gespeicherten Daten ohne Namensnennung weiterhin verwendet werden dürfen, soweit dies erforderlich ist, um sicherzustellen, dass meine schutzwürdigen Interessen nicht beeinträchtigt werden.

4) Ich bin über folgende gesetzliche Regelung informiert: Falls ich meine Einwilligung, an der Studie teilzunehmen, widerrufe, müssen alle Stellen, die meine personenbezogenen Daten, insbesondere Gesundheitsdaten gespeichert haben, unverzüglich prüfen, inwieweit die gespeicherten Daten für die in Nr. 3 genannten Zwecke noch erforderlich sind. Nicht mehr benötigte Daten sind unverzüglich zu löschen.

Name, Datum, Unterschrift

**Einwilligungserklärung
zur wissenschaftlichen Verwendung von Blut- bzw. Gewebeproben
und personenbezogenen Daten**

Sehr geehrte Frau _____ / Sehr geehrter Herr _____,
hiermit bitten wir Sie um Ihr Einverständnis zur wissenschaftlichen Verwendung Ihrer Blut- bzw. Gewebeproben und Ihrer personenbezogenen Daten, wie Sie Ihnen in der Probandeninformation näher erläutert worden ist.

**Mechanismen der allergischen Rhinitis. Studie zur Untersuchung der Pathophysiologie der allergischen Rhinitis während der Allergensaison und nach nasaler Allergenprovokation
HNO-Klinik Düsseldorf, Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf
Ansprechpartner: PD Dr. med. Martin Wagenmann**

A. Allgemeines

Ich bin durch den Prüfarzt über den Zweck, den Ablauf, die Bedeutung der klinischen Studie sowie die Vorteile und Risiken, die damit verbunden sein können, mündlich aufgeklärt worden.

Die schriftliche Probandeninformation habe ich gelesen. Alle meine Fragen sind zu meiner Zufriedenheit beantwortet worden.

Ich habe eine Kopie der Probandeninformation und Einverständniserklärung ausgehändigt bekommen. Ich hatte genügend Zeit, um meine Entscheidung zur Studienteilnahme zu überdenken und frei zu treffen.

Meine folgenden Erklärungen reichen nur so weit, wie mir dies im Rahmen der schriftlichen Probandeninformation bzw. in der mündlichen Erläuterung näher dargelegt wurde.

Meine folgenden Erklärungen berechtigen und verpflichten die oben einleitend genannte Institution.

**B. Einwilligung in die Entnahme und Nutzung der Blut- bzw. Gewebeproben
(Zutreffendes bitte ankreuzen)**

Ich bin mit der **Entnahme** einer Blut- bzw. Gewebeprobe einverstanden und überlasse die mir entnommene Blut- bzw. Gewebeprobe hiermit den oben genannten Institutionen.

Ich **stimme zu**, dass die Blut bzw. Gewebeprobe unter der Verantwortung der oben genannten Institutionen in verschlüsselter Form (d.h. so, dass eine Zuordnung zu meiner Person nur über weitere Hilfsmittel – etwa eine Referenzliste – möglich ist).

- für Studien mit allen wissenschaftlich in Betracht kommenden Fragestellungen verwendet wird.
- oder
- für Studien mit der oben genannten Fragestellung verwendet wird.

Anhang

Ich bin damit einverstanden, dass ich ggf. (soweit möglich) von den einleitend genannten Institutionen kontaktiert werde, um meine Zustimmung zur Verwendung meiner Blut- bzw. Gewebeprobe in weiteren Studien zu erlauben.

oder

Ich verlange bereits heute, dass meine Blut- bzw. Gewebeprobe nach Abschluss der genannten Studien vernichtet wird.

Sofern durch die oben bezeichnete Studie Ergebnisse erzielt werden, die für mich oder meine nächsten Angehörigen von unmittelbarer Bedeutung sind, möchte ich darüber informiert werden.

oder

Ich bin damit einverstanden, dass ich keine individuellen Rückinformationen über die Ergebnisse der Studie erhalte.

Ich bin mir bewusst, dass ich für die Überlassung meiner Blut- bzw. Gewebeprobe kein Entgelt erhalte.

Ich bin mir bewusst, keinerlei Ansprüche auf Vergütung, Tantieme oder sonstige Beteiligung an finanziellen Vorteilen und Gewinnen zu haben, die möglicherweise auf der Basis der Forschung mit meiner Blut- bzw. Gewebeprobe erlangt werden.

Widerruf der Zustimmung zur Probenverwendung

Ich weiß, dass ich meine Zustimmung zur Verwendung meiner Blut- bzw. Gewebeprobe jederzeit und ohne Angaben von Gründen gegenüber der oben genannten Institution/ Personen widerrufen kann und dass dies keinen Einfluss auf meine etwaige weitere ärztliche Behandlung hat.

Im Falle des Widerrufs bin ich damit einverstanden, dass meine Blut- bzw. Gewebeprobe zu Kontrollzwecken weiter aufbewahrt wird. Ich habe jedoch das Recht, deren Vernichtung zu verlangen, sofern gesetzliche Bestimmungen der Vernichtung nicht entgegenstehen.

Ich bin mir bewusst, dass eine Vernichtung der Blut- bzw. Gewebeprobe auf meinen Wunsch nicht möglich ist, wenn sie so weit verschlüsselt („pseudonymisiert“) wurde, dass eine Verbindung zwischen den Proben und meiner Person nicht oder nur mit einem unverhältnismäßig großen Aufwand an Zeit, Kosten und Arbeitskraft möglich ist.

C. Datenschutzrechtliche Einwilligungserklärung (Zutreffendes bitte ankreuzen)

Ich bin damit einverstanden, dass die einleitend genannten Personen bzw. ein Mitarbeiter der einleitend genannten Institutionen Einblick in meine Original-Krankenunterlagen nimmt.

Ich stimme zu, dass Daten, die meine Person betreffen (hierzu gehören insbesondere auch Krankheitsdaten aus meinen Krankenunterlagen) unter der Verantwortung der oben genannten Institutionen in verschlüsselter Form

für Studien mit wissenschaftlich in Betracht kommenden Fragestellungen gespeichert und verarbeitet werden.

oder

für Studien mit der oben genannten Fragestellung gespeichert und verarbeitet werden.

Ich bin damit einverstanden, dass wissenschaftliche Mitarbeiter und Doktoranden der HNO-Klinik des Universitätsklinikums Düsseldorf sowie der Studienleiter PD Dr. Martin Wagenmann Einblick in meine Original-Krankenunterlagen nehmen.

Ich bin mir bewusst, dass die zuständigen Behörden im Rahmen ihrer gesetzlichen Befugnisse ggf. Einblick in sämtliche Unterlagen nehmen können.

Widerruf der Zustimmung zur Datenverwendung

Ich weiß, dass ich meine Zustimmung zur Verwendung meiner Daten jederzeit und ohne Angaben von Gründen gegenüber der einleitend genannten Institution bzw. Person widerrufen kann und dass dies keinen Einfluss auf meine etwaige weitere ärztliche Behandlung hat.

Im Falle des Widerrufs bin ich damit einverstanden, dass meine Daten zu Kontrollzwecken weiterhin gespeichert bleiben. Ich habe jedoch das Recht, deren Löschung zu verlangen, sofern gesetzliche Bestimmungen der Löschung nicht entgegenstehen.

Ich bin mir bewusst, dass im Falle einer pseudonymisierten Speicherung meiner Daten deren Löschung auf meinen Wunsch nicht möglich ist.

Datum

Name der Probandin/ des Probanden

Unterschrift

8.5 Symptomscore

Probendenummer:

Datum:

Probandeninitialen:

Messung:

Termin:

Symptomscore:

Sekretion der Nase:

gar nicht

maximale Symptomatik

Obstruktion der Nase:

gar nicht

maximale Symptomatik

Jucken der Nase/ Ohren/ Rachen/ Augen:

gar nicht

maximale Symptomatik

Niesen:

Ergebnis Atemwiderstandsmessung:

FLOW	150 ccm/s
L	R + L =
R	L / R =

9. Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Martin Wagenmann, für die Ermöglichung dieser Arbeit. Er war mir durch die Aufnahme in seine Forschungsgruppe, das Überlassen des Forschungsthemas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes in der Klinik und dem Labor für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde am Universitätsklinikum Düsseldorf und die finanzielle sowie personelle Unterstützung stets eine große Hilfe. Zudem begleitete sein wertvoller Rat meine gesamte Arbeit.

Der gesamten Forschungsgruppe des Labors für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde danke ich für die tatkräftige Unterstützung und Kollegialität.

Mein Dank gilt besonders meinem Betreuer, Dr. Ralf Baumann. Er zeigte stets große Bereitschaft, mich im Rahmen des gesamten Forschungsprojekts zu unterstützen. Seine sowohl inspirierenden als auch kritischen Gedanken trugen maßgeblich zu dieser Arbeit bei.

Ich bedanke mich bei den Probanden für ihre Teilnahme.

Ich danke meiner Familie, die mich stets auf allen Wegen begleitete und mir diese Erfolge erst ermöglichte.

Zuletzt danke ich Svenja Neuhaus, die mir immer zur Seite stand.