

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde
der Ludwig-Maximilians-Universität München,
Direktor: Prof. Dr. med. A. Berghaus

Symptomatik und Mediatorfreisetzung nach nasaler Allergenprovokation

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Thorsten Jordan
aus
Schloss Neuhaus

2004

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:

Prof. Dr. med. G. Rasp

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. H. Schulz

Priv. Doz. Dr. U. Wintergerst

Prof. Dr. I. Golly

Prof. Dr. R. Wank

Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:

Dr. med. M. F. Kramer

Dekan:

Prof. Dr. med. Dr. h.c. K. Peter

Tag der mündlichen Prüfung:

21.10.2004

Diese Arbeit ist meiner Mutter gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Problemstellung	3
1.1 Physiologie der Nase.....	3
1.1.1 Blutversorgung der Mukosa, Schwellkörper und Nasenzyklus.....	3
1.1.2 Innervation der Nasenschleimhaut.....	4
1.1.3 Abwehr.....	5
1.2 Allergologie	6
1.3 Pathophysiologie der allergischen Rhinitis	7
1.3.1 Frühphase der allergischen Reaktion.....	8
1.3.2 Spätphase der allergischen Reaktion	9
1.3.3 Eosinophile Granulozyten in der Spätphase der allergischen Entzündungsreaktion.....	10
1.3.4 Modellcharakter der nasalen Allergenprovokation	12
1.3.5 Priming und Hyperreagibilität	12
1.4 Beurteilung allergischer Symptome	13
1.4.1 Subjektive Einschätzung - Quality of Life (QoL).....	13
1.4.2 Objektive Messmethoden – akustische Rhinometrie	14
1.5 Wirkungen und zellulärer Ursprung der untersuchten Parameter	15
1.5.1 Nasensekretion und Allergenkontakt.....	15
1.5.2 Gesamtprotein	15
1.5.3 Eosinophil Cationic Protein	16
1.5.4 Interleukin-5.....	16
1.5.5 Chemokine.....	17
1.5.6 Adhäsionsmoleküle	21
1.5.7 Leukotrien C ₄	22
1.6 Fragestellung	23
2. Material und Methoden.....	24
2.1 Studienaufbau	24
2.1.1 Probandenkollektiv und Kriterien	24
2.1.2 Nasale Provokation.....	24
2.2 Beurteilung der allergischen Symptome	24
2.2.1 Fragebogen – Quality of Life	24
2.2.2 Akustische Rhinometrie	25
2.3 Biochemische und immunologische Untersuchung – experimenteller Teil	28
2.3.1 Probengewinnung, Verarbeitung und Berechnung der absoluten sezernierten Stoffmenge	28
2.3.2 Gesamtprotein	28
2.3.3 ECP.....	29
2.3.4 Interleukin-5.....	30

2.3.5	Chemokine: IL-8, MCP-1, MCP-3, RANTES und Eotaxin.....	30
2.3.6	sVCAM-1.....	31
2.3.7	Leukotrien C ₄	31
2.4	Statistische Berechnungen.....	32
3.	Ergebnisse	33
3.1	Auswertung des klinischen Teils.....	33
3.1.1	Fragebogen.....	33
3.1.2	Rhinometrie.....	38
3.2	Auswertung des experimentellen Teils.....	42
3.2.1	Sekretvolumenfluss	42
3.2.2	Gesamtprotein	43
3.2.3	ECP.....	44
3.2.4	IL-5	45
3.2.5	Chemokine.....	47
3.2.6	sVCAM-1.....	50
3.2.7	Leukotrien C ₄	50
4.	Diskussion	52
4.1	Klinischer Teil.....	52
4.1.1	Fragebogen.....	52
4.1.2	Akustische Rhinometrie	55
4.2	Experimenteller Teil	57
4.2.1	Sekretvolumenfluss	57
4.2.2	Gesamtprotein	58
4.2.3	ECP.....	58
4.2.4	IL-5	59
4.2.5	Chemokine.....	60
4.2.6	sVCAM-1.....	65
4.2.7	Leukotrien C ₄	66
5.	Zusammenfassung	68
6.	Literaturverzeichnis.....	71
7.	Anhang	82
7.	Anhang	82
7.1	Fragebogen zu Beschwerden unter Allergenprovokation.....	82
7.2	Einzelergebnisse der Rhinometriemessungen.....	84
8.	Abkürzungsverzeichnis	86
9.	Danksagung	88
10.	Lebenslauf	89

1. Einleitung und Problemstellung

1.1 Physiologie der Nase

Die Nase ist weit mehr als ein die Physiognomie des Menschen bestimmendes Merkmal. Was sich hinter den beiden Nasenlöchern verbirgt, ist in Wahrheit ein komplex aufgebauter Apparat aus Nasenmuskeln, Nasennebenhöhlen, Schleimhaut, Flimmerepithel, Drüsen, Nerven und Blutgefäßen, die den unterschiedlichsten Aufgaben gerecht werden. Eingeatmete Luft wird hier angefeuchtet, gefiltert, gereinigt, erwärmt und gerochen. Keime werden abgewehrt und das Immunsystem auf komplexe Weise moduliert.

1.1.1 Blutversorgung der Mukosa, Schwellkörper und Nasenzyklus

Die Gefäßversorgung der Nasenschleimhaut erfolgt sowohl aus Ästen der A. carotis externa über die A. sphenopalatina aus der A. maxillaris, als auch aus der A. carotis interna über Aa. ethmoidales anteriores und posteriores aus der A. ophthalmica. Aber auch die A. palatina ascendens (aus A. maxillaris) und kleine Äste aus der A. facialis (Ast der A. carotis externa) sind an der Versorgung beteiligt.

Abbildung 1 zeigt schematisch das komplizierte Netzwerk aus arteriellen Widerstandsgefäßen, Arteriolen und arteriovenösen Anastomosen der Mukosa. Oberflächlich verlaufende fenestrierte Kapillaren versorgen das respiratorische Epithel und submuköse Drüsen.⁸⁴ Aus dem Kapillarnetz, aber auch über arteriovenöse Anastomosen, gelangt das Blut in das venöse Kapazitätssystem.

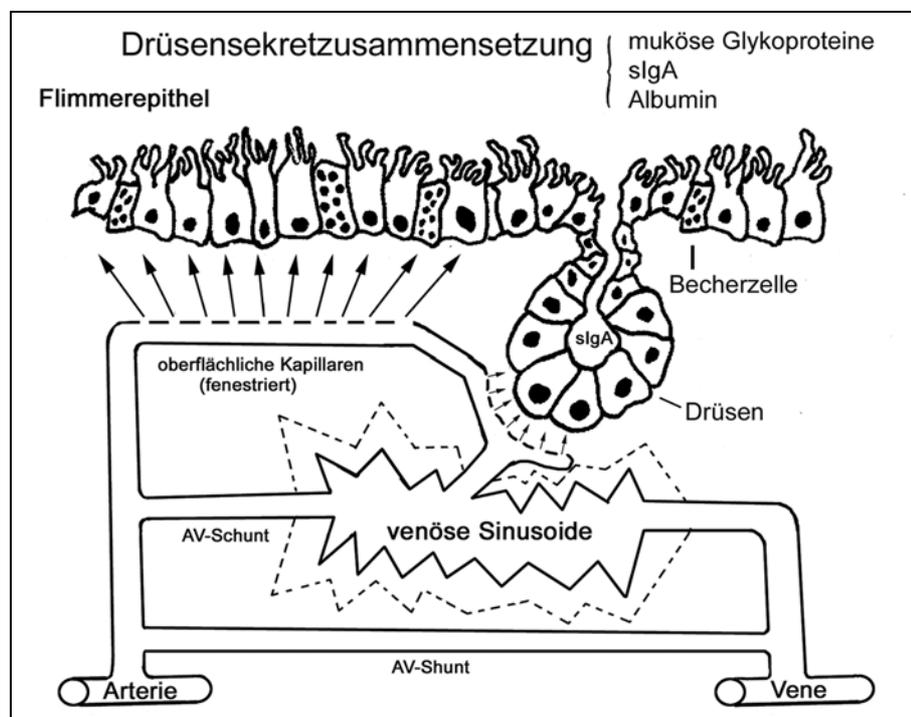


Abb.1: Dargestellt sind schematisch die Blutversorgung der Mukosa und die Hauptquellen des Nasensekrets. Eine Besonderheit sind die fenestrierten subepithelialen Kapillaren. Hier kommt es bei gesteigertem arteriellen Druck verstärkt zu Exsudation (nach Raphael^{151,152}).

Diese Kapazitätsgefäße entsprechen venösen Sinusoiden, die von einer unregelmäßig angeordneten Schicht glatter Muskelzellen mit überwiegend α -adrenerger Steuerung umgeben sind.

Sie fungieren vor allem im Bereich der Nasenmuscheln als Schwellkörper und regulieren so die Menge der die Nase durchströmenden Luft.

Ein biologisch alternierendes An- und Abschwellen der Schwellkörper beider Nasenseiten wird als Nasenzyklus bezeichnet. Dieser physiologische Vorgang führt zu einer reziproken Änderung der Luftdurchgängigkeit der beiden Nasenseiten, lässt jedoch die Gesamtresistance nahezu unbeeinträchtigt. Eccles⁵³ beschrieb diese Veränderungen der Schleimhautschwellung als Auswirkung der sympathischen Stimulation des Venenplexus der Schleimhaut. Dem Nasenzyklus unterliegt auch der Zilienschlag, die Zusammensetzung von Schleim und damit die mukoziliäre Transportgeschwindigkeit, mit der eingeatmete Fremdstoffe von der jeweils offeneren und damit aktiveren Seite abtransportiert werden.^{57,127,180} Bei der Bewertung der Ergebnisse nasaler Allergenprovokationen kommt dem Nasenzyklus eine besondere klinische Bedeutung zu (siehe 4.1.2).

1.1.2 Innervation der Nasenschleimhaut

Die Nasenschleimhaut wird über den ersten und zweiten Trigeminasast sensibel innerviert. Diese trigeminalen Nerven besitzen schmerzleitende Fasern der Gruppe-C, die unter anderem auch als afferenter Schenkel am Niesreflex beteiligt sind.¹⁹⁰ Sie verzweigen sich weit im Schleimhautepithel und in der Submukosa. Depolarisation führt einerseits zur sogenannten Axonantwort in der Mukosa, andererseits aber auch zu einer zentralnervösen Aktivierung (Abb. 2).

Nozizeptive Afferenzen aus den Trigeminasästen und Afferenzen aus dem Gebiet des Glossopharyngeus (hinteres Drittel der Zunge, Nasopharynx, Tonsillen, Tuba auditiva und Mittelohr) werden im Thalamus umgeschaltet. Sie sind verantwortlich für die Wahrnehmung von Juckreiz und Obstruktion¹¹, beides zentrale Symptome der allergischen Rhinitis.

Aber die Wahrnehmung dieser Symptome ist nur eine der Folgen der zentralen Verschaltung; eine andere Folge ist die Modulation des autonomen Nervensystems. Verschaltungen zwischen afferenten Interneuronen, dem Tractus solitarius, Nucleus ambiguus und Nucleus salivarius des Nervus facialis rekrutieren parasympathische Reflexe. Motorische Fasern aus dem N. facialis und sympathische Fasern bilden den efferenten Schenkel dieser Reflexe. Reflexantwort sind cholinerge Drüsensekretion und Vasodilatation.^{11,199,200} Bei der Innervation der Blutgefäße dominieren sympathische Nervenfasern. Vasokonstriktion ist die Folge der Freisetzung der dominierenden Neurotransmitter Noradrenalin und Neuropeptid Y. Der Sympathikotonus sorgt aber auch für die Kontraktion der Sinusoide der jeweils besser ventilerten Nasenseite. Der Nasenzyklus beruht also auf einer wechselseitig betonten Asymmetrie des Sympathikotonus.^{80,139}

Parasympathische Fasern aus dem Ganglion pterygopalatinum haben die Kontrolle über Vasodilatation und Drüsensekretion. Als Neurotransmitter spielen Acetylcholin (ACh) und das vasoaktive intestinale Peptid (VIP) die Hauptrolle.

Als Axonantwort wird eine Freisetzung von Neurotransmittern wie Substanz P, Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) und Neurokinin A im Bereich der Nasenschleimhaut bezeichnet.

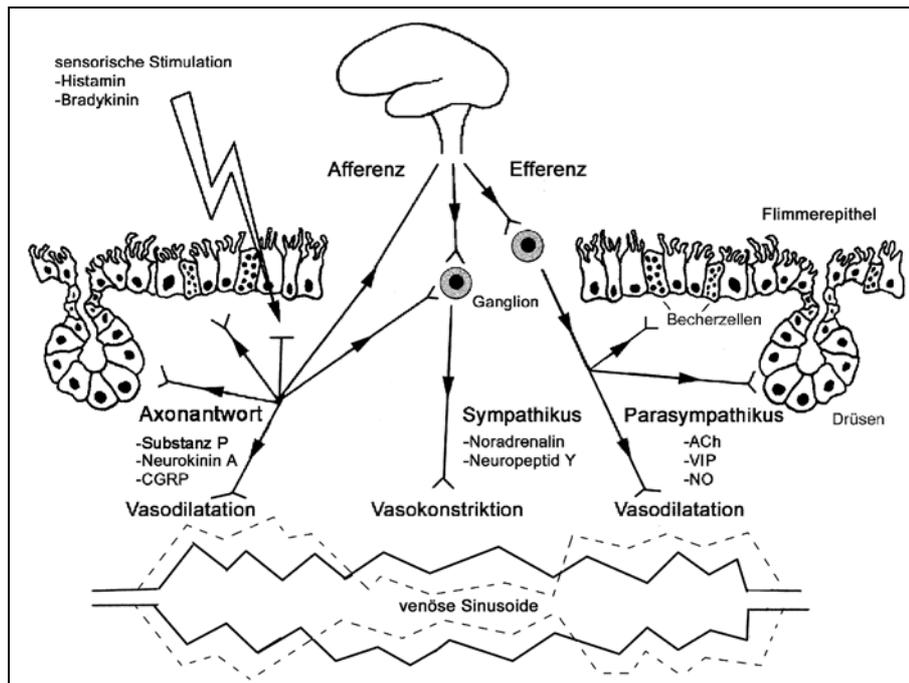


Abb. 2: Schematische Darstellung der Innervation der Nasenschleimhaut. Sensorische Afferenzen sowie sympathische und parasympathische Efferenzen regulieren Gefäßvolumen und glanduläre Sekretion (nach Howarth⁸⁴).

Sie bewirken über Drüsensekretion, Vasodilatation und Expression von endothelialen Adhäsionsmolekülen eine Verdickung der Mukosa und tragen somit zur neurogenen Entzündung bei.¹¹⁵ Auch modulieren sie auf der Ebene der Ganglien die sympathische Neurotransmission. So führt auch indirekt die Reduktion des Sympathikotonus zu Vasodilatation und Obstruktion.

Neben zentralnervösen Reflexen, die Niesreiz und Vasodilatation verursachen, existieren auch nasobronchiale Reflexe, die vor allem bei Asthmapatienten ausgeprägt am pathophysiologischen Geschehen beteiligt sind und die reflektorische Vasodilatation unterstützen.

1.1.3 Abwehr

Die Nase reinigt nicht nur mechanisch die inspirierte Luft, sondern verfügt außerdem über immunologische und enzymatische Mechanismen der Abwehr. Das Nasensekret spielt hier eine bedeutende Rolle: so bindet es kleinere Teilchen von ca. 10-30 µm (zum Beispiel Pollen) und enthält unter anderem Lysozym, Proteasen und sekretorisches Immunglobulin A (Ig A) zur spezifischen Abwehr.⁴⁹ Aber auch verschiedenste Zytokine und Chemokine lassen sich nachweisen. Sie sind Spuren komplexer Interaktionen auf immunologischer Ebene, die zu unserem Verständnis von Reaktion und Überreaktion der Nase beitragen (siehe 1.5).

Auch finden sich in der Lamina propria mucosae Mastzellen, Makrophagen, Granulozyten und Lymphozyten zur zellulären Abwehr. Insbesondere aber die Rekrutierung und Aktivierung eosinophiler Granulozyten im Rahmen allergisch-entzündlicher Prozesse ist Gegenstand dieser Arbeit (siehe 1.3.3).

Die Nase und ihre immunologische Antwort auf eingeatmete Schadstoffe, wie Schmutz oder Allergene, ist von besonderer Bedeutung für die Gesundheit des Menschen.

1.2 Allergologie

Der Begriff „Allergie“, der das „Andersreagieren“ des Körpers auf bestimmte Auslöser umschreibt, wurde bereits 1906 von Clemens von Pirquet geprägt.¹⁴⁷

1963 führten Gell und Coombs ihre bekannte Klassifikation dieser Überempfindlichkeitsreaktionen in vier Reaktionstypen ein (Abb. 3).⁶⁶

Die Sofortreaktion wird als Typ-I-Reaktion bezeichnet. Hier erkennt spezifisches, an Mastzellen oder Basophile gebundenes IgE das Allergen. Die Kreuzvernetzung von IgE führt zur Degranulation der Zellen und zur Freisetzung von Mediatoren, die innerhalb von Minuten zu klinischen Symptomen führen (siehe auch 1.3).²¹ Voraussetzung für diese Reaktion ist eine Sensibilisierung gegen das jeweilige Allergen, die erst zur Produktion des spezifischen IgE führt. Für die Bildung von IgE gelten prinzipiell die gleichen Bedingungen wie zur Produktion anderer Immunglobulin-Isotypen. Allerdings führt das eingedrungene Allergen zu einer T-Zell-Aktivierung. Im Gegensatz zu der normalen Immunantwort, wo vor allem die T_H0 - und T_H1 -Subpopulationen der T-Helferzellen aktiviert werden, scheint das Allergen beim Allergiker vermehrt T_H2 -Helferzellen zu aktivieren.^{30,129,160} Daraus resultiert eine andere Zusammensetzung der Zytokine. In dieser von T_H2 -Zytokinen geprägten Umgebung differenzieren sich B-Zellen vermehrt zu IgE-produzierenden Zellen. Daraus resultierendes IgE lagert sich an Basophile und Mastzellen an. Sie sind die Effektorzellen der Typ-I-Reaktion. Erst dann führt ein Sekundärkontakt mit dem Allergen zur Degranulation der Mastzellen und Basophilen und damit zum klinischen Bild der Sofortreaktion.⁹⁹

Bei der Typ-II-Reaktion richten sich Immunglobuline gegen körpereigene Antigene. In der Folge kommt es zu zytotoxischen Reaktionen durch Komplement oder Killerzellen.

Dagegen sind an der Typ-III-Reaktion Immunkomplexe aus Antigenen und Antikörpern beteiligt. Sie locken Neutrophile an oder aktivieren Komplement und führen somit zu einer lokalen Gewebsschädigung.

Die Typ-IV-Reaktion wird von sensibilisierten T-Zellen ausgelöst, die Zytokine freisetzen und Makrophagen aktivieren, die wiederum die Entzündungsreaktion verstärken. Das Hauptmerkmal dieser Reaktion

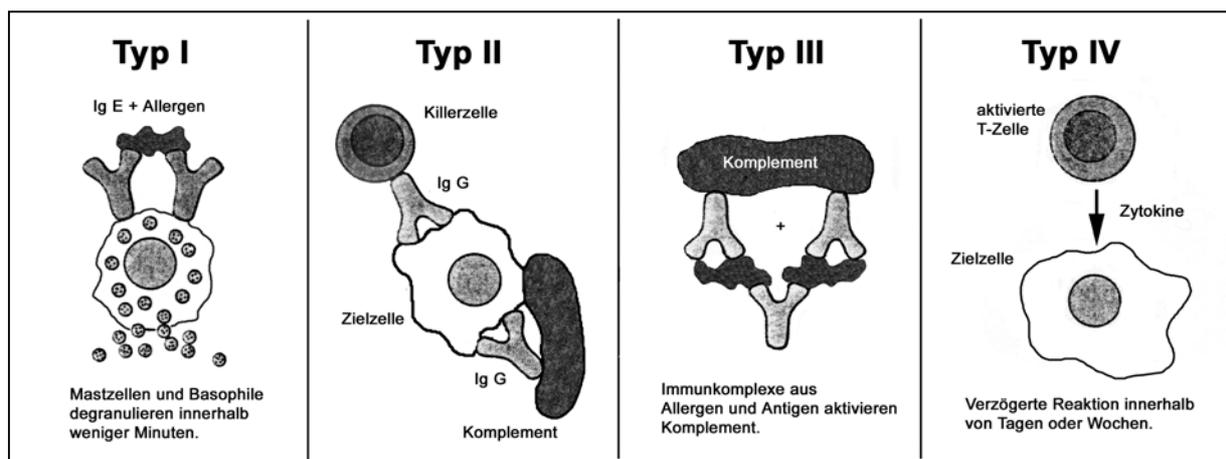


Abb. 3: Vier Typen der Überempfindlichkeitsreaktion (aus Stadler¹⁸²):
 Typ-I : IgE vermittelte Sofortreaktion
 Typ-II : zytotoxische Reaktion durch Killerzellen oder Komplement
 Typ-III : Immunkomplexreaktion
 Typ-IV : T-Zell vermittelte Reaktion vom verzögerten Typ oder auch Spättyp

besteht darin, dass sie ihr Maximum meist erst 24 - 72 h nach Antigenkontakt erreicht. Darum wird sie auch Reaktion vom Spättyp genannt. ¹⁸²

Ob ein Individuum verstärkt allergisch reagiert, hängt von mehreren Faktoren ab: so vom molekularen Aufbau des Allergens, von seiner Konzentration, seiner Löslichkeit und Stabilität, aber auch von einer genetischen Prädisposition des Allergikers. So ist die Fähigkeit, IgE gegen Pollenallergene zu bilden, von Produkten sowohl von Klasse-I-Genen (HLA-A, B, C) als auch von Klasse-II-Genen (HLA-DR) abhängig. Vor allem Letztere sind für die Präsentation von Antikörperfragmenten und T-Helfer-Zellen besonders wichtig. Aber auch verschiedene exogene Einflüsse, wie Zigarettenrauch, industrielle Schadstoffe oder virale Infektionen können eine Sensibilisierung gegen Allergene begünstigen. Dies liegt wahrscheinlich an einer Dauerschädigung des Epithels, die es dem Allergen ermöglicht, leichter in die Mukosa einzudringen. ⁸⁰

Allergische Erkrankungen haben in den letzten Jahrzehnten dramatisch zugenommen. Mit einem Anteil von 45 % ist die allergische Rhinitis die häufigste atopische Erkrankung überhaupt. ¹⁰² Sie stellt also eine nicht zu vernachlässigende gesundheitliche Herausforderung für unsere Gesellschaft dar.

Die Prävalenz der allergischen Rhinitis steigt um etwa 3,5 % pro Jahrzehnt und liegt in Deutschland zur Zeit bei 15 bis 25 %. ⁷ Das heißt, etwa jeder fünfte Erwachsene leidet daran. Ungefähr 30 % der Erkrankten entwickeln in einem Zeitraum von 10 Jahren ein Asthma bronchiale. ²³ Es besteht ein Zusammenhang mit chronischen Sinusitiden und mit dem gehäuften Auftreten von Mittelohrergüssen in der Kindheit. Nicht nur die Folgeerkrankungen, sondern bereits die allergische Rhinitis alleine, beeinträchtigt schulische und berufliche Leistungen der Erkrankten und führt zu einer Einschränkung ihrer sozialen Aktivitäten und Lebensqualität. Trotzdem wird die sozioökonomische Bedeutung der allergischen Rhinitis für die Gesellschaft auch heute noch allzu häufig unterschätzt und banalisiert.

1.3 Pathophysiologie der allergischen Rhinitis

Bei der allergischen Rhinitis, einer Typ-I-Allergie, bindet IgE an hoch empfindliche Rezeptoren auf Mastzellen und basophilen Granulozyten (Basophile), sowie an weniger empfindliche Rezeptoren auf anderen Zellen (Eosinophile, Monozyten und Thrombozyten). Die allergische Entzündungsreaktion wird in Gang gesetzt, wenn in den Luftwegen Allergene an IgE binden, eine Degranulation der Zelle verursachen und eine Anzahl verschiedener Entzündungsmediatoren freisetzen. ¹³³ Es kommt zu den typischen Symptomen wie Niesreiz, Juckreiz der Nase und der Augen, behinderte Nasenatmung und Naselaufen. ¹³³ Verantwortlich dafür sind die Stimulation afferenter Nerven, die Hypersekretion von Drüsen, eine gesteigerte Gefäßpermeabilität und die Infiltration von Entzündungszellen. ¹⁸⁷

In der Folge kommt es zu einer Frühphase und einer Spätphase der allergischen Reaktion. Die Frühphase schließt sich unmittelbar dem Allergenkontakt an und persistiert etwa eine Stunde lang. Die Spätphase entwickelt sich nach drei bis sechs Stunden, zeigt ihren Höhepunkt nach sechs bis acht Stunden und hält für etwa 14 bis 24 Stunden nach Allergenkontakt an. ¹⁴⁵

Bisher wurde die allergische Rhinitis nach saisonaler, durch Pollen (Hasel, Birke, Gräser, Roggen) verursachter, oder perennialer Verlaufsform unterschieden, die zum Beispiel durch Milben, Tierepithelien oder Schimmelpilzsporen entsteht. Seit kurzem gibt es die neue allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) Klassifizierung. Hier werden Allergien in intermittierende und persistierende Formen unterteilt. Zusätzlich wird noch nach Stärke der Symptome differenziert.¹⁸⁵ Außerdem bietet die ARIA-Klassifizierung, wie in der Asthmatherapie schon seit langem üblich, die Möglichkeit eines medikamentösen Stufenschemas in der Therapie der allergischen Rhinitis.

1.3.1 Frühphase der allergischen Reaktion

Mastzellen spielen eine bedeutende Rolle in der Modulation der allergischen Frühphase.⁶⁹ Sie speichern proinflammatorische Mediatoren. Dazu gehören Trypsinase, Histamin und Zytokine wie Tumor Nekrose Faktor alpha (TNF- α) und Interleukin 4 (IL-4).²⁶

Allergenkontakt führt zur Kreuzvernetzung von spezifischen IgE und damit zur Aktivierung von Mastzellen.¹⁴² Die Folge ist Degranulation und damit die sofortige Freisetzung der in den Mastzellen gespeicherten Mediatoren (Abb. 4).^{134,217} Außerdem wird in aktivierten Mastzellen die de novo Synthese von Lipidmediatoren wie Leukotrienen (LTC₄, LTD₄, LTE₄), Prostaglandinen (PGD₂), Platelet Activating Factor (PAF) und Bradykinin angeregt.¹³⁵ Diese Botenstoffe wirken in Blutgefäßen, an Schleimdrüsen und an Nervenendigungen und verursachen Symptome der allergischen Rhinitis. Histamin, Bradykinin, Leukotriene und PAF aktivieren die Endothelzellen der postkapillären Venolen und induzieren Vasodilatation, erhöhte Gefäßpermeabilität und Zelladhäsion.

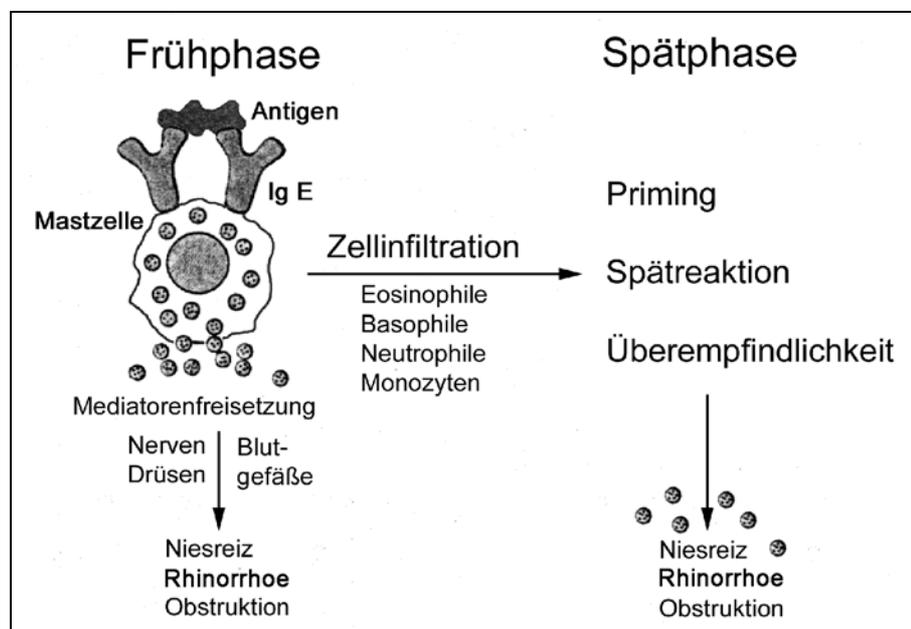


Abb. 4: Allergische Rhinitis als Produkt von allergischer Frühphase und Spätphase. Kommt die Entzündung nicht zum Erliegen, kann die Nasenschleimhaut eine Überempfindlichkeit gegen irritierende Substanzen oder Allergene entwickeln. Somit kann es über die Stufe der chronischen Rhinitis auch zur Beteiligung der unteren Atemwege und zum allergischen Asthma kommen (nach Watson²¹¹).

Dabei ist Histamin einer der potentesten Mediatoren in der Nasenschleimhaut.^{5,42} Seine Freisetzung stimuliert sensorische Nervenendigungen und verursacht Juckreiz der Nase, des Gaumens und der Konjunktiven. Eine reflektorische parasympathische Erregung führt zu Vasodilatation und Hypersekretion von Schleim und trägt somit zu einer Schwellung der Schleimhaut bei.^{55,131}

In der Frühphase sinkt die Fließgeschwindigkeit des Blutes in der Mukosa.⁸¹ Kinine, insbesondere Bradykinin aus Mastzell-Tryptase, und plasmaeigene Kallikreine stimulieren afferente Neuronen und führen über Vasodilatation, Ödem und Exsudation von Plasma zu wässriger Rhinorrhoe und Obstruktion.

Kurz nach Allergenkontakt kommt es unter Einfluss von Histamin und Kininen (IL-4, IL-13) zur Aktivierung der Epithelzellen, die nun vermehrt Adhäsionsmoleküle wie Inter Cellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) oder Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) und Selektine exprimieren.^{32,54,143}

Mediatoren wie IL-5 und Chemokine (IL-8, Eotaxin) mit chemotaktischen Eigenschaften rekrutieren Eosinophile und andere Entzündungszellen in die Nasenschleimhaut.

1.3.2 Spätphase der allergischen Reaktion

Klinisch manifestiert sich die drei bis sechs Stunden nach Allergenkontakt eintretende Spätphase mit erneut auftretendem Juckreiz der Nase, Niesen, Rhinorrhoe und erneuter Schwellung der Schleimhäute.

Sie ist Folge der auf die Zytokin- und Chemokinexpression der Frühphase hin einsetzende Infiltration des Gewebes mit Entzündungszellen. Die Anzahl der CD4⁺ T-Zellen (T_H2-Lymphozyten), Eosinophilen und Basophilen in der Mukosa von Allergikern steigt nun an.^{13,204}

Die Infiltration mit Entzündungszellen wird durch die vermehrte Expression von endothelialen Leukozyten-Adhäsionsmolekülen in den postkapillären Venolen der Nase und einen Chemokingradienten im Gewebe reguliert. Die Endothelzellen der nasalen Mukosa exprimieren E-Selektine und P-Selektine⁹¹ und die Adhäsionsmoleküle VCAM-1 und ICAM-1¹⁸⁸ (siehe auch 1.5.6). Sind die Entzündungszellen einmal an endothelialen Adhäsionsmolekülen gebunden, passieren sie schließlich durch Endothelzellspalten in den perivaskulären Raum.

Die Infiltration von Entzündungszellen setzt das Vorhandensein von zellspezifisch wirkenden Chemokinen voraus.^{20,168} So unterstützen IL-3, IL-5 und Granulocyte and Monocyte-Colony Stimulating Factor (GM-CSF) vermehrt die Expression von endothelialen Adhäsionsmolekülen für Eosinophile. Eotaxin, IL-5 und RANTES (Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and presumably Secreted) zeigen eine starke chemotaktische Wirkung auf Eosinophile. Auf Basophile wirken IL-3, IL-5, IL-8, Monocyte Chemotactic Protein (MCP-1) und RANTES chemotaktisch.^{36,125}

Im weiteren Verlauf aktiviert die Interaktion mit Matrixproteinen die eingewanderten Entzündungszellen und verursacht die Freisetzung ihrer Mediatoren. Dies führt zu einer Verlängerung der Entzündungsreaktion und einer Verstärkung bestimmter Merkmale der Überempfindlichkeitsreaktion, insbesondere von Kongestion und Schleimsekretion. Vor allem die Infiltration mit Eosinophilen verursacht grundlegende Veränderungen in der Mukosa (siehe 1.3.3). Aber auch die Epithelzellen der Mukosa werden aktiviert und exprimieren nun vermehrt Rezeptoren für GM-CSF, IL-8 und TNF- α . Unter dem Einfluss von Zytokinen und

Eosinophil Cationic Protein (ECP) wird auch ihre Anzahl an Adhäsionsmolekülen (ICAM-1, VCAM-1) gesteigert ^{2,97,138}; alles Faktoren, die zu einer Persistenz der Entzündung beitragen.

Bleibt die Entzündung durch wiederholten Allergenkontakt aufrechterhalten, kommt es in der Folge zu einer Senkung der Reaktionsschwelle. Die Nasenschleimhaut zeigt nun schon bei Kontakt mit geringen Allergenmengen und anderen Stimuli wie Kälte oder irritierende Substanzen eine Hyperreagibilität (siehe auch 1.3.5).

1.3.3 Eosinophile Granulozyten in der Spätphase der allergischen Entzündungsreaktion

Der eosinophile Granulozyt wurde lange Zeit nur im Zusammenhang mit der Kontrolle und Abwehr von Wurminfektionen beachtet. Erst in jüngerer Zeit erlebte er sein Comeback in der Immunologie als vermutlich wichtigste Effektorzelle und Modulator in der Aufrechterhaltung der Spätphase der allergischen Entzündungsreaktion.

Eosinophile entstehen im Knochenmark, wo CD34+ Stammzellen unter dem Einfluss der T_H2-Zytokine IL-3, IL-5, GM-CSF (siehe 1.5.4) und des Chemokins Eotaxin (siehe 1.5.5) proliferieren, sich zu Eosinophilen ausdifferenzieren und ins periphere Blut freigesetzt werden. ¹⁷⁵

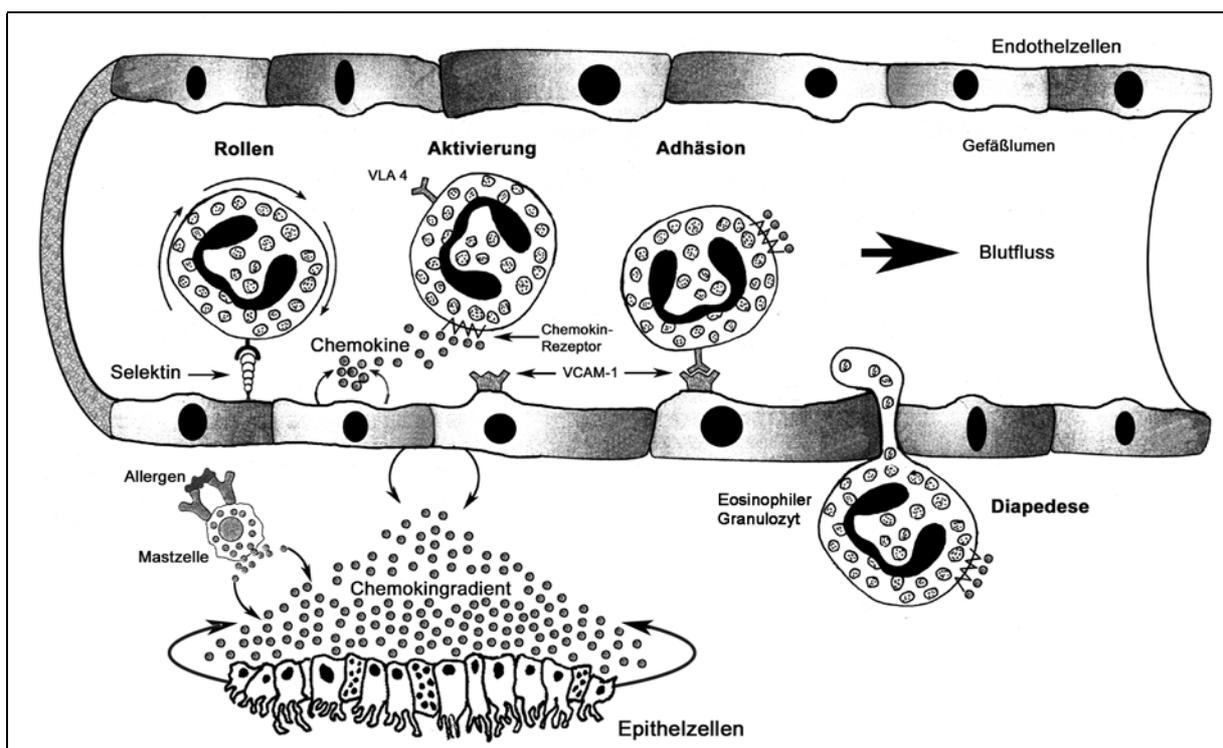


Abb. 5: Schematische Darstellung der Immigration von Eosinophilen aus dem Gefäßlumen an den Ort der allergischen Entzündung (nach Gangur ⁶³)

Durch das Zusammenspiel von Selektinen, Prostaglandinen, Adhäsionsmolekülen ²⁹ (sVCAM-1; siehe 1.5.6) an den Endothelzellen der submukösen Gefäße der Nasenschleimhaut und einem Chemokingradienten über das Gefäßendothel kommt es zunächst zu einer Verlangsamung der Fließgeschwindigkeit (Abb. 5). Das in der Frühphase ausgeschüttete Histamin bewirkt eine erhöhte Expression von Selektinen

(P-Selektine, E-Selektine), die durch reversible Bindungen eine verminderte Rollgeschwindigkeit der Eosinophilen am Gefäßendothel verursachen. ¹¹³

An der Oberfläche von Eosinophilen werden $\alpha_4\beta_1$ Integrine exprimiert, auch als Very Late Antigen-4 (VLA4) bekannt (siehe 1.5.5), die eine feste Bindung an Adhäsionsmoleküle (VCAM-1, ICAM-1) auf dem Endothel unterstützen. ¹⁰⁸ Die sich durch Endothelspalten vollziehende Extravasation der Eosinophilen führt zur Einwanderung von Eosinophilen aus dem peripheren Blut an den Ort der Entzündung. ¹⁹³ Die Aufklärung der genauen Vorgänge bei Adhäsion und Ablösung der Eosinophilen an und von Endothelzellen sind Gegenstand aktuellster Forschung.

Vor allem im Schleimhautepithel und in der Submukosa nimmt die Anzahl der Eosinophilen zu. ¹⁵ Die verstärkte Adhäsion und die Freisetzung (zum Teil autokrin) von antiapoptotisch wirkenden Zytokinen (IL-3, IL-5, GM-CSF) führt zu einer verlängerten Überlebenszeit der Eosinophilen. Maximale Eosinophilenzahlen im Gewebe nach einmaligem Allergenkontakt werden nach 24 h Stunden erreicht und bleiben bis zu einer Woche erhöht. Dieser Anstieg von Eosinophilen im entzündeten Gewebe wird mit der Hyperreagibilität der Atemwege nach Allergen-Kontakt in Verbindung gebracht ⁶⁷ (siehe auch 1.3.5).

Verschiedenste Auslöser führen zur Aktivierung von eosinophilen Granulozyten. Dazu gehören nicht nur die hier im Vordergrund stehenden Allergene, die nach Interaktion mit T-Lymphozyten in sekundärem lymphatischem Gewebe über IL-5 auf Eosinophile wirken. Auch Chemokine (siehe 1.5.5) und Viren (Rhinoviren, Parainfluenzaviren, Respiratory Syncytial Virus) können direkt Eosinophile aktivieren. Gewebsverletzungen und Parasiteninfektionen (v.a. Würmer) setzen über Antikörper- oder Komplementkontakt die zelluläre Toxizität der Eosinophilen in Gang. ⁷⁶

Aktivierte Eosinophile tragen dazu bei, die Entzündungsantwort zu verstärken, indem sie unmittelbar zerstörend auf das Epithel der Atemwege einwirken. Eine Vielzahl von gespeicherten Mediatoren wie Peroxidasen, Lysozym und Kollagenasen können sofort aus den Granula freigesetzt werden. Nur Eosinophile speichern zytotoxische Produkte wie ECP und Major Basic Protein (MBP), sowie neurotoxisch wirkende Substanzen wie Eosinophil-Derived Neurotoxin (EDN).

Lipidmediatoren wie Leukotrien C₄ oder PAF müssen dagegen aus Membranlipiden neu synthetisiert werden. Wirkungen dieser toxischen Substanzen sind Epithelschäden, Beeinflussung der Nervenleitgeschwindigkeit, Einschränkung der Zilienbeweglichkeit, chronische Entzündung, Hyperreagibilität und Schwellung der Schleimhäute. ^{194,200} Chemokine wie Eotaxin und RANTES spielen eine Rolle bei der Rekrutierung von Eosinophilen ins entzündete Gewebe. ⁷¹

Zytokine wie Interleukine (IL-3, IL-4, IL-5, IL-12), GM-CSF und TNF- α halten wiederum die Bildung von Eosinophilen im Knochenmark in Gang und tragen zur Verlängerung ihrer Überlebenszeit bei. Außerdem weiß man, dass Eosinophile die Kollagensynthese und damit eine zunehmende Gewebsfibrosierung unterstützen. ¹⁰³

1.3.4 Modellcharakter der nasalen Allergenprovokation

Zur Diagnose und zur Erforschung allergischer Erkrankungen der Atemwege eignen sich Allergenprovokationen.¹⁵⁸ Die nasale Provokation mit Pollen imitiert dabei die natürliche Pollenexposition der Nase in der Pollenflugsaison¹⁴⁶ und führt zu den typischen Symptomen der allergischen Rhinitis wie Obstruktion, Niesreiz und Rhinorrhoe. Allerdings spiegelt eine einzelne Provokation nicht die Einflüsse wiederholter oder kontinuierlicher Allergenexposition wider, wie sie in der Pollensaison auftreten. Denn erst diese führen schließlich zur chronischen Entzündung.¹³⁵

1.3.5 Priming und Hyperreagibilität

Im Verlauf der Pollensaison nimmt die Empfindlichkeit sensibilisierter Patienten gegen das Allergen zu. Dieser Vorgang wird als Priming bezeichnet. Durch wiederholte Allergenprovokationen kann dieser Vorgang unter Laborbedingungen imitiert werden.⁴¹ Bei wiederholter Allergenexposition innerhalb von 24 h kann die zur Auslösung einer Reaktion benötigte Allergendosis um bis zu 100fach niedriger sein. Diesen Effekt schreibt man dem Influx von Entzündungszellen und der Wirkung ihrer Transmitter im Rahmen der allergischen Spätphase zu.

In Anlehnung an das wohlbekanntes Phänomen der bronchialen Hyperreagibilität spricht man heute auch von nasaler Hyperreagibilität. In diesem Zustand reagiert die Nasenschleimhaut nicht nur vermehrt auf niedrigere Allergendosen, sondern auch auf nicht allergische Stimuli wie kalte Luft und verschiedene irritierende Substanzen.

Pathophysiologisch gesehen, geht man dabei von einer Hyperreagibilität der Innervation der Nasenschleimhaut aus. Betroffen sind sowohl sensible Afferenzen, das zentrale Nervensystem und parasymphatische Efferenzen zu den Drüsen und Gefäßen¹⁹⁹ (Abb. 2). Bei der Entwicklung der nasalen Hyperreagibilität kommt der Freisetzung und Wirkung des Neurotrophins Nerve Growth Factor (NGF), das nach Allergenprovokation vermehrt im Nasensekret nachgewiesen wurde, große Bedeutung zu.¹⁶⁶ Auch den Eosinophilen, als Produzenten von NGF und Neurotrophin-3, wird eine Rolle in der Entwicklung der neuronalen Hyperreaktivität zugeschrieben.¹⁰⁰

1.4 Beurteilung allergischer Symptome

Zur Beurteilung des klinischen Zustands der Nase werden eine Reihe von Methoden angewendet, die subjektiv empfundene Symptome des Patienten und objektiv messbare Veränderungen in der Nase aufzeichnen. Dazu gehören Fragebögen zu Nasensymptomen und die Rhinometrie.⁴⁵

1.4.1 Subjektive Einschätzung - Quality of Life (QoL)

Der Patient erfährt durch seine allergische Rhinitis neben lokal an der Nase auftretenden Symptomen auch andere körperliche Beschwerden wie Kopfschmerz und Müdigkeit, die dazu führen, dass weite Bereiche des täglichen Lebens beeinträchtigt werden. Diese Beschwerden nehmen Einfluss auf Arbeit, Lernen, soziale Kontakte, sportliche Aktivitäten und nicht zuletzt die Psyche des Allergikers. In den letzten Jahren wurde vermehrt nach Methoden gesucht, die Einflüsse einer Krankheit auf die Lebensqualität des Patienten (Quality of Life/QoL) in spezifisch entwickelten Fragebögen zu erfassen und auszuwerten.^{92,93}

Zu unterscheiden sind prinzipiell zwei Arten von Fragebögen zur Beurteilung der QoL: eine eher allgemein gehaltene Form des Fragebogens (engl. generic) und die spezifisch auf eine Krankheit bezogenen Fragebogen (engl. disease specific). Dabei haben allgemeine Fragebogen wie das Sickness Impact Profile (SIP) oder der Medical Outcomes Study 36-Item Short Form Health Survey (SF-36) den Vorteil, dass sie bei Patienten mit unterschiedlichen Krankheiten anwendbar sind und somit eine Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Krankheiten schaffen.^{59,210} Da sie allerdings nicht in der Lage sind, geringe, aber dennoch bedeutende Veränderungen innerhalb einer speziellen Krankheit wiederzugeben, wurden die krankheitsbezogenen Fragebögen entwickelt.

Der bei der allergischen Rhinitis am meisten verwendete krankheitsbezogene Fragebogen ist der Rhinokonjunktivitis Quality of Life Questionnaire (RQLQ)⁹⁴, der Fragen zu sieben Bereichen beinhaltet: praktische Probleme wie ständiges Nase putzen müssen oder Taschentücher dabei haben; Nasensymptome wie Niesen, Juckreiz der Nase oder Naselaufen; Augensymptome wie Jucken oder Schwellung; schlafbezogene Symptome wie Schlaflosigkeit, Durchschlafstörungen oder Einschlafstörungen; andere Symptome wie Müdigkeit oder Konzentrationsschwäche; Einschränkung der Aktivitäten im sozialen, beruflichen oder körperlichen Bereich; emotionale Probleme wie erhöhte Erregbarkeit, Frustration, Unruhe oder Scham. Er ist empfindlicher als die allgemein gehaltenen Fragebögen, aber erlaubt keinen Vergleich zwischen unterschiedlichen Krankheiten.

Um Veränderungen der Lebensqualität im klinischen Alltag und in Studien einschätzen zu können, müssen die Kriterien der Sensitivität, Spezifität, Validität und Reproduzierbarkeit erfüllt sein.

Der 1991 von Juniper und Guyatt entwickelte RQLQ war einer der ersten validierten Fragebogen für die Beurteilung der allergischen Rhinitis.⁹⁴ Seither wurden auch Kürzungen des RQLQ, wie der Mini-RQLQ⁹⁵, entwickelt und validiert, die den Einsatz in groß angelegten Feldstudien und Umfragen erleichtern sollen. Dennoch handelt es sich bei diesen validierten und etablierten Fragebögen nicht um Instrumente, die für die Erfassung von sich schnell verändernden und neu auftretenden Symptomen über einen kurzen Zeitraum hinweg (z.B. im Zuge einer nasalen Provokation) geeignet sind. Diese Fragebögen zur QoL sind

daraufhin angelegt, vom Patienten während der Wartezeit oder zu Hause bequem ausgefüllt zu werden und erheben überwiegend retrospektive Daten. Sie sollen Zeit sparen, aufwendige Anamnesen verkürzen und es dem Arzt ermöglichen, schnell, systematisch, vergleichbar und verlässlich einen Überblick über die tatsächlichen Probleme und Einschränkungen des Patienten zu erhalten.⁹²

Aus diesem Grund erscheint es sinnvoll, für die Erfassung von Früh- und Spätphase der allergischen Rhinitis eine vorwiegend auf Nasensymptome adaptierte Form von Fragebogen einzusetzen, die das Kriterium einer möglichst kurzen Bearbeitungszeit erfüllt und somit mehrere Male hintereinander in kürzester Zeit ausgefüllt werden kann.

Auf diese Weise kann eine Aufzeichnung kleinster Veränderungen der Befindlichkeit der Patienten nach Allergenprovokation gewährleistet sein. Ein engmaschiges Ausfüllen von Fragebögen in angemessenen Zeitintervallen (siehe auch 2.2.1) erlaubt es, die Änderungen einzelner Symptome zu erfassen, die in der Früh- und Spätphase der allergischen Rhinitis auftreten. Nur so können zuverlässig Aussagen über ihre Ausprägung, sowie über den Zeitpunkt und die Reihenfolge ihres Auftretens gemacht werden. Außerdem ermöglicht die Erstellung von Zeitreihen aus den jeweiligen QoL-Werten eine Vergleichbarkeit mit anderen Daten, die parallel dazu in Rhinometrie und Labor gewonnen wurden.

1.4.2 Objektive Messmethoden – akustische Rhinometrie

Nasale Obstruktion ist eines der Hauptsymptome der allergischen Sofortreaktion. Darum ist die objektive Erfassung dieses Symptoms von größter Bedeutung.

Über die Jahre wurde eine Vielzahl von Meßmethoden zur Aufzeichnung der veränderten nasalen Ventilation nach Allergenkontakt entwickelt. Die am häufigsten benutzte Methode ist die aktive anteriore Rhinomanometrie (AAR), die 1983 erstmals standardisiert wurde und so eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse verschiedener Zentren zuließ.³⁷ Die AAR ist jedoch relativ umständlich und zeigt hohe Variationskoeffizienten in wiederholten Messungen.^{68,165} Eine weitere Methode, die passive anteriore Rhinometrie (PAR), ist weniger zeitaufwendig, aber auch weniger zuverlässig als die AAR.³⁸ Da keine besseren und verlässlicheren Methoden zur Erfassung der Obstruktion zur Verfügung standen, war die objektive Beurteilung der Auswirkungen von nasalen Allergenprovokationen lange Zeit ein schwieriges Unterfangen.

Mit der Einführung der akustischen Rhinometrie (AR) 1989 wurde eine einfachere, nicht invasive, schnell durchführbare und darum häufig wiederholbare Methode entwickelt (zur Funktionsweise siehe 2.2.2).⁷⁸ In klinischen Studien wurde nachgewiesen, dass die akustische Rhinometrie eine sensitive und vor allem reproduzierbare Methode zur Erfassung von Dimensionsänderungen in der Nasenhöhle ist.⁷⁹ Die Korrelationskoeffizienten zwischen Messungen des minimalen Querschnitts (in 2.2.2 auch als Fläche D bezeichnet) durch akustische Rhinometrie und durch andere Methoden wie Computertomographie und Rhinomanometrie lagen zwischen 0,90 und 0,96.^{121,198} Damit bietet sich die akustische Rhinometrie als verlässliche Methode zur Messung der nasalen Dimensionsänderungen im Rahmen einer Allergenprovokation an.

1.5 Wirkungen und zellulärer Ursprung der untersuchten Parameter

1.5.1 Nasensekretion und Allergenkontakt

Die Komponenten des Nasensekrets stammen aus unterschiedlichen Quellen: Transsudate aus dem Gefäßsystem, Mukoglykoproteine aus Becherzellen und submukösen Drüsen, Ionen, sekretorische Proteine und Mediatoren aus Plasmazellen, Mastzellen, Epithelzellen und Lymphozyten der Mukosa (Abb. 1).¹⁵² Aber auch kondensiertes Wasser der Atemluft und Tränenflüssigkeit können enthalten sein.

Der Nasenschleim hat unterschiedlichste Aufgaben: Zunächst erfüllt er eine mechanische Schutzfunktion für die Mukosa. Als Grenzschicht zwischen Luft und Schleimhaut bildet er mit den darunter liegenden Zilien des Flimmerepithels eine funktionelle Einheit, den Mukoziliarapparat. An den Schleim gebundene Schwebestoffe werden über das mukoziliäre Transportsystem abgeräumt. Außerdem speichert er Wasser, dient dem Wärmetransfer und ermöglicht einen Gasaustausch.

Die normale Nasensekretproduktion kann durch eine Vielzahl von Einflüssen gesteigert werden. Dazu zählen Allergene, Viren, Bakterien, Pilze, irritierende Stoffe, kalte Luft, scharfe Speisen, Duftstoffe und pharmakologische Wirkstoffe.¹⁵¹

Die Reaktion der Nase auf Allergenkontakt ist die Folge komplexer Interaktionen zwischen Allergen, Effektorzellen und deren Mediatoren. Die spezifischen Mediatoren der allergischen Frühphase und Spätphase lassen sich zu verschiedenen Zeitpunkten in unterschiedlichen Konzentrationen in den Nasensekreten nachweisen. Sie beeinflussen die Gefäßpermeabilität, stimulieren die Drüsensekretion, wirken chemotaktisch auf Entzündungszellen, reizen Nerven, stimulieren Reflexe und modulieren die Freisetzung sekretorischer Komponenten.¹⁵³

Die Zusammensetzung und Menge des Nasensekrets variiert in Abhängigkeit dieser Faktoren. Somit bietet die Analyse von Nasensekreten nach Allergenprovokation die Möglichkeit, neue Erkenntnisse über die komplexen immunologischen Vorgänge in der Nasenschleimhaut zu erhalten.

1.5.2 Gesamtprotein

Die in Nasensekreten enthaltenen Proteine geben Auskunft über ihren Ursprung (Abb. 1). Die Quellen vieler dieser Proteine wurden bereits nachgewiesen.^{152,153,155} So stammen Mukoglykoproteine aus Becherzellen und submukösen Drüsen, Plasmaproteine, wie Albumin, aus dem Gefäßsystem und sekretorisches IgA (sIgA) aus den Plasmazellen der Mukosa. Anstiege des Gesamtproteins oder bestimmter Proteinfractionen geben Aufschluss über die Vorgänge, die zu ihrer Sekretion führten.

Aus früheren Provokationsstudien ging zum Beispiel hervor, dass Anstiege sowohl der Albumin Konzentrationen als auch des prozentualen Anteils von Albumin am Gesamtprotein für einen Anstieg der Drüsensekretion sprechen. Reine Anstiege nur des prozentualen Anteils von Albumin dagegen sprechen für eine erhöhte Gefäßpermeabilität.^{152,154,155} Gefäßbeteiligung trat dabei nur auf der mit Allergen provozierten Nasenseite auf (in diesen Studien wurde jeweils nur eine Nasenseite provoziert). Die kontralaterale, in diesem Falle nicht provozierte Seite dagegen, zeigte nur eine erhöhte Drüsensekretion über den nasonasalen Reflex.¹⁵³

1.5.3 Eosinophil Cationic Protein

Das ECP wird spezifisch in den Granula von eosinophilen Granulozyten gespeichert und nach ihrer Aktivierung sezerniert. Seine Konzentration gilt als sensitiver Marker für die Eosinophilie der allergischen Spätreaktion. ^{102,205}

ECP ist ein stark kationisches Protein, dessen Gen auf Chromosom 14 in unmittelbarer Nähe anderer pankreatischer Ribonukleasen liegt. Dennoch zeigt es nur geringe Ribonuklease-Aktivität. ¹⁶²

Neben seinen toxischen Effekten auf Parasiten beeindrucken vor allem seine zytotoxischen Eigenschaften im menschlichen Gewebe. Über Lochbildung in Zellmembranen zerstört es respiratorische Epithelzellen, Nervenzellen, Endothelzellen und Tumorzellen. ²⁰⁶ Daneben zeigt es aber auch antivirale und antibakterielle Eigenschaften. Von besonderem Interesse in Bezug auf das allergische Geschehen sind auch seine nicht-zytotoxischen Eigenschaften. So zeigt es einen inhibierenden Effekt auf die Proliferation und Differenzierung von T-Lymphozyten nach Allergen-Kontakt. Es induziert die Freisetzung von Histamin aus Mastzellen und basophilen Granulozyten. ¹⁴⁴ Außerdem bewirkt ECP am respiratorischen Epithel eine vermehrte Expression von Adhäsionsmolekülen und Wachstumsfaktoren (Insulin like Growth Factor-1/IGF-1). ^{34,35} Ferner steigert es die Schleimsekretion in den Atemwegen, interagiert mit dem Komplementsystem und nimmt, je nach Konzentration, hemmend oder fördernd Einfluss auf die Blutgerinnung.

1.5.4 Interleukin-5

Das biologisch aktive Zytokin IL-5 ist ein durch Bisulfidbrücken zusammengehaltenes Dimer ¹²⁴, das hauptsächlich in den für die allergische Entzündungsantwort charakteristischen T_H2+ Lymphozyten gebildet wird. Demnach spielt es eine Rolle in der Spätreaktion, da T_H2+ Zytokine zu diesem Zeitpunkt in Aktion treten. ⁵¹ Dabei liegt IL-5 nicht in gespeicherter Form vor, sondern entsteht de novo nach Aktivierung der Transkription des IL-5 Gens auf Chromosom 5q. ⁷² IL-5 entsteht aber auch in Mastzellen und Eosinophilen. ^{26,50} Dies deutet darauf hin, dass auch eine autokrine IL-5 Sekretion die allergische Entzündungsreaktion in Gang hält.

Beim Menschen wirkt IL-5 selektiv auf Eosinophile und Basophile. Bisher war man davon ausgegangen, dass nur diese zwei wichtigen Effektorzellen im allergischen Entzündungsprozess über den IL-5-Rezeptor verfügen. Neuere Studien haben allerdings auch auf B-Zellen und Zellen des respiratorischen Epithels funktionelle IL-5-Rezeptoren nachgewiesen. ⁸²

Bindung an den IL-5 Rezeptor verursacht im Knochenmark Proliferation, Wachstum und Ausdifferenzierung von CD34+ Stammzellen zu Eosinophilen und führt zur ihrer Freisetzung aus dem Knochenmark ins Blut (Abb. 6). ¹⁰⁵ Am Ort des Entzündungsgeschehens bewirkt IL-5 eine vermehrte Expression von Adhäsionsmolekülen am Gefäßendothel, die eine Adhäsion und Extravasation von Eosinophilen unterstützen. Seine chemotaktische Wirkung leitet Eosinophile in die entzündeten Gewebe und erhöht somit im Falle der allergischen Rhinitis ihre Anzahl in der Mukosa. ¹⁹³ Ferner aktiviert IL-5 sowohl die ortsständigen als auch die neu eintreffenden Eosinophilen in der Mukosa und bewirkt damit eine Sekretion der präformierten Granula. ¹⁴¹ Allerdings könnte die Aktivierung von ortsständigen Eosinophilen ebenfalls auf eine Aktivie-

nung durch sekretorisches IgA zurückzuführen sein.⁴³ Durch seine antiapoptotische Wirkung verlängert IL-5 die Überlebenszeit der Eosinophilen und unterhält somit die Entzündungsreaktion.¹⁰³

Neben dem IL-5 Rezeptor auf Eosinophilen und Basophilen wurde auch eine lösliche Form des Rezeptors nachgewiesen. Sie antagonisiert Bindung und Funktion von IL-5 und kann somit als rückkoppelnde Schutzfunktion gegen exzessive Rekrutierung und Aktivierung von Eosinophilen angesehen werden.¹⁹²

Als spezifisch auf Eosinophile aktivierend wirkendes Zytokin ist IL-5 vor allem in der allergischen Spätphase und somit bei der Aufrechterhaltung der Entzündungsreaktion von Bedeutung; in der Frühphase kommt ihm keine oder nur eine geringe Rolle zu.¹⁷³

1.5.5 Chemokine

Die Bezeichnung Chemokine (ein Neologismus aus Chemotaxis und Zytokin) umfasst eine Gruppe von bisher etwa 40 strukturell verwandten Zytokinen, die zunächst durch ihre chemotaktischen Wirkungen auf Leukozyten charakterisiert wurden. In allergischen Reaktionen sind sie von besonderer Bedeutung, da man davon ausgeht, dass sie nicht nur Leukozyten rekrutieren, sondern auch Zellen aktivieren und die Freisetzung von Entzündungsmediatoren sowie die Expression von Adhäsionsmolekülen steuern. Des Weiteren modulieren sie über T_H2-Zellen die Entzündungsantwort und regulieren die IgE-Synthese.¹⁶¹ Somit spielen sie sowohl in der allergischen Früh- als auch Spätphase eine wichtige Rolle.

Alle Chemokine besitzen typischerweise zwei Disulfidbrücken zwischen je zwei von vier Zystein-Bausteinen. Dazu kommt noch ein kürzeres Aminosäuren-Ende und ein längeres Carboxy-Ende.

Nach der Anordnung der ersten beiden Zysteine werden zwei Subfamilien von Chemokinen unterschieden; bei den CXC-Chemokinen (auch als α -Subfamilie bezeichnet) werden die beiden Zysteine durch eine andere Aminosäure (X) getrennt, und bei den CC-Chemokinen (auch als β -Subfamilie bezeichnet) liegen die beiden Zysteine direkt nebeneinander.⁹ Außerdem existieren seit kurzem noch zwei weitere Subfamilien der Chemokine, das C-Chemokin Lymphotacin und das CX₃C-Chemokin Fractalin.⁹⁶

Die Expression eines bestimmten Chemokinmusters im Rahmen einer Immunreaktion bestimmt ihren weiteren Verlauf. So wurde zum Beispiel das CXC-Chemokin IL-8 mit der T_H1-Reaktion in Verbindung gebracht und Eotaxin und MCP-1 mit der T_H2-Reaktion.¹¹³

Chemokine interagieren mit Lymphozyten über eine Gruppe transmembranärer, G-Protein-gekoppelter Rezeptoren. Die Verteilung von Chemokinrezeptoren auf der Oberfläche von Leukozyten beeinflusst, welche Art von Leukozyten in das entzündete Gewebe einwandern. In diesem Zusammenhang soll insbesondere der Chemokinrezeptor 3 (CCR3) genannt sein, an dem die unten besprochenen Chemokine Eotaxin, MCP-1, MCP-3 und RANTES wirken. Er wurde bisher auf Eosinophilen, Basophilen, Mastzellen und T_H2-Zellen nachgewiesen.^{161,164} Die genauere Betrachtung der Chemokinrezeptoren lohnt sich vor allem in Hinblick auf die selektive Expression eines T_H2-Zell- und Zytokinmusters, wie es in der allergischen Spätphase vorherrscht. Auch verursachen Eotaxin, MCP-3 und RANTES durch Interaktion mit CCR3 eine Degranulation von Eosinophilen.⁶²

Man kann heute davon ausgehen, dass die Interaktion von Chemokinen mit Adhäsionsmolekülen die selektive Einwanderung von Leukozytensubpopulationen ins Gewebe koordiniert.⁹ Außerdem wurde vor kurzem nachgewiesen, dass sie bei der Angiogenese eine kontrollierende Rolle innehaben.¹⁴ Die Forschungsaktivität zur Aufklärung der Funktion verschiedener Chemokine wurde erheblich gesteigert, nachdem offensichtlich wurde, dass das Human Immunodeficiency Virus 1 (HIV-1) Chemokinrezeptoren als Eintrittspforte in Zellen benutzt.⁶¹

Basierend auf den Chemokin-Subfamilien wurde eine neue Nomenklatur für Chemokine und ihre Rezeptoren vorgeschlagen.¹³² Um vollständig zu sein, wurden die neuen Namen zusätzlich in den nachfolgenden Überschriften genannt; aus Übersichtsgründen erscheinen im zugehörigen Text allerdings ausschließlich die gewohnten alten Bezeichnungen.

CXC-Chemokine: IL-8/CXCL8

Interleukin 8 (IL-8) ist ein Mitglied der Subfamilie der CXC-Chemokine. Es wird von vielen Zellen (einschließlich Monozyten, Makrophagen, T-Zellen, Eosinophilen²⁷, Neutrophilen, Fibroblasten, Endothelzellen, und Epithelzellen) in Reaktion auf entzündungsfördernde Stimuli wie Lipopolysaccharide (LPS), IL-1, TNF- α und - β und Viren produziert.⁹⁰

Seine Hauptfunktion besteht in der Anziehung von Neutrophilen an den Ort des Entzündungsgeschehens und in ihrer konsekutiven Aktivierung. Außerdem wurden Wirkungen auf T-Lymphozyten, Basophile und Eosinophile nachgewiesen.¹⁷⁴

Auch in der allergischen Spätphase scheint IL-8 eine Rolle zu spielen, da es hier die Freisetzung von Histamin und Leukotrienen aus Basophilen induziert.¹⁶ IL-8 beeinflusst die Margination von Neutrophilen, indem es die Ablösung von L-Selectin von Neutrophilen verursacht. Dies führt zu veränderten Adhäsionsverhältnissen der Neutrophilen an aktivierte Endothelzellen.^{116,179} Außerdem kommt IL-8 eine Rolle in der Angiogenese und Haematopoese zu.^{101,110}

Die Wirkungen von IL-8 werden über zwei Rezeptoren (CXCR1 und CXCR2) vermittelt. Sie wurden bisher auf Granulozyten, T- und B-Lymphozyten, Fibroblasten und Endothelzellen nachgewiesen.¹²⁸

CC-Chemokine

Die Subfamilie der CC-Chemokine beeinflussen verschiedenste Leukozytengruppen. Im Zusammenhang mit dieser Arbeit sind vor allem die in ihrer Stärke unterschiedlich ausgeprägten Wirkungen auf basophile und eosinophile Granulozyten zu unterscheiden. MCP-1, MCP-3 und RANTES wirken in der angegebenen Reihenfolge stärker auf Basophile, während Eotaxin stärker Eosinophile beeinflusst.¹⁰⁶

MCP-1/CCL2 und MCP-3/CCL7

Die MCP Subfamilie der CC-Chemokine (MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4) zeigt eine große strukturelle Ähnlichkeit. Die MCPs teilen mehr als 60 % ihrer Aminosäurenstruktur.⁶⁴ In vitro werden sie von Mono-

zyten, Fibroblasten, Eosinophilen, Endothelzellen und Epithelzellen produziert.^{88,176,203} Ursprünglich wurde nur ihre chemotaktische Wirkung auf Monozyten beschrieben. Schließlich wurden aber auch Wirkungen auf andere Leukozytensubpopulationen nachgewiesen. Während MCP-1 nur auf Monozyten, Basophile und Lymphozyten wirkt, zeigt MCP-3 zusätzlich Wirkungen auf Eosinophile.⁶⁴

Da diese Entzündungszellen am allergischen Geschehen beteiligt sind, war anzunehmen, dass auch den MCPs eine Rolle zukam.

Die Suche nach auf Basophile aktivierend wirkenden Chemokinen führte zu der Entdeckung, dass sie auch an der Freisetzung von Histamin beteiligt sind. MCP-1 bewirkt bei Basophilen eine sofortige (innerhalb von 30 sec) Freisetzung von Histamin.¹⁰⁶ Auch MCP-3 und RANTES wirken ähnlich; wenn auch weniger ausgeprägt.¹⁰⁷ Eotaxin zeigt ebenfalls, allerdings in noch geringerer Weise, diese Wirkung auf Basophile.

RANTES/CCL5

Das aus nur 68 Aminosäuren bestehende CC-Chemokin RANTES induziert nach Bindung an CCR1, CCR3, CCR4 und CCR5 die Migration von Leukozyten. Dabei moduliert es die Zirkulation und Homöostase von klassisch lymphatischen Zellen wie T-Zellen und Monozyten. Es zeigt allerdings auch Wirkungen auf andere Zellsorten wie Eosinophile, Basophile, Mastzellen, dendritische Zellen und natürliche Killerzellen.⁴ Insbesondere scheint ihm eine Rolle bei der Degranulation von Basophilen, der Aktivierung von T-Zellen und Eosinophilen zuzukommen.^{1,8,107} Ruhm aber erlangte es für seine 1995 von Cocchi et al.³⁹ nachgewiesene protektive Wirkung im Zusammenhang mit HIV-Infektionen.

RANTES wird von vielen Zellen exprimiert, hauptsächlich aber von T_H1-Lymphozyten, Epithelzellen, Fibroblasten und Thrombozyten.^{183,197}

Trotz seiner verschiedenen, nachgewiesenen Wirkungen auf jene Zellen, die auch im allergischen Geschehen Effektorfunktionen übernehmen, ist wenig über seine Rolle in der Früh- und Spätphase der allergischen Rhinitis bekannt.

Eotaxin/CCL11

Eotaxin wirkt *in vitro* und *in vivo* als extrem potentes CC-Chemokin auf eosinophile Granulozyten.^{65,149} Es entfaltet seine Wirkung durch Bindung an CCR3, der auf Eosinophilen, aber auch auf Basophilen und T_H2-Lymphozyten exprimiert wird.

Eine Reihe von Zellen produzieren Eotaxin, darunter auch Eosinophile selbst, T-Zellen, Monozyten und Endothelzellen.^{3,65,85} Wahrscheinlich sind aber Epithelzellen die Hauptproduzenten von Eotaxin¹²⁵ (Abb. 6). Vor allem Lymphozyten, aber auch Mastzellen und dendritische Zellen, sind an der Induktion der Eotaxinproduktion beteiligt.⁷⁰ Durch die Rekrutierung von T_H2-Zellen verstärkt und unterhält Eotaxin die allergische Entzündung.²⁰⁸ T_H2-Zytokine wie IL-4, IL-5, IL-13 und GM-CSF regulieren den weiteren Verlauf der Entzündungsreaktion. Sie haben eine rückkoppelnde Wirkung auf die Zellen im allergischen Geschehen, im Sinne einer Verstärkung einer einmal in Gang gesetzten Kettenreaktion. So unterstützt IL-4 die

Differenzierung von Mastzellen zur Produktion von spezifischem IgE. Es erhöht die Eotaxinproduktion in Endothelzellen und trägt zur Differenzierung von T_H0 zu T_H2 -Zellen bei. ⁴⁷

Es wurde nachgewiesen, dass Eotaxin antagonistisch auf CXCR3, den dominierenden Rezeptor auf T_H1 -Zellen, wirkt und somit ihre Expression unterdrückt. ²¹⁵

Erhöhte Eotaxin-Werte führen wiederum zur Rekrutierung, Aktivierung und Degranulation von Eosinophilen ⁶², Basophilen und Mastzellen. Dabei geschieht die Freisetzung der eosinophilen Proteine, im Vergleich zur schnellen Reaktion der Basophilen, wie sie oben beschrieben wurde, in einem langsamen Prozess, der bis zu 1 h dauern kann. ¹⁰⁷

Im Knochenmark wirkt Eotaxin synergistisch mit IL-5 (siehe auch 1.5.4) und unterstützt hier die verstärkte Produktion, Differenzierung und Freisetzung von Eosinophilen. ^{40,130} Diese werden somit vermehrt am Ort der Entzündung verfügbar.

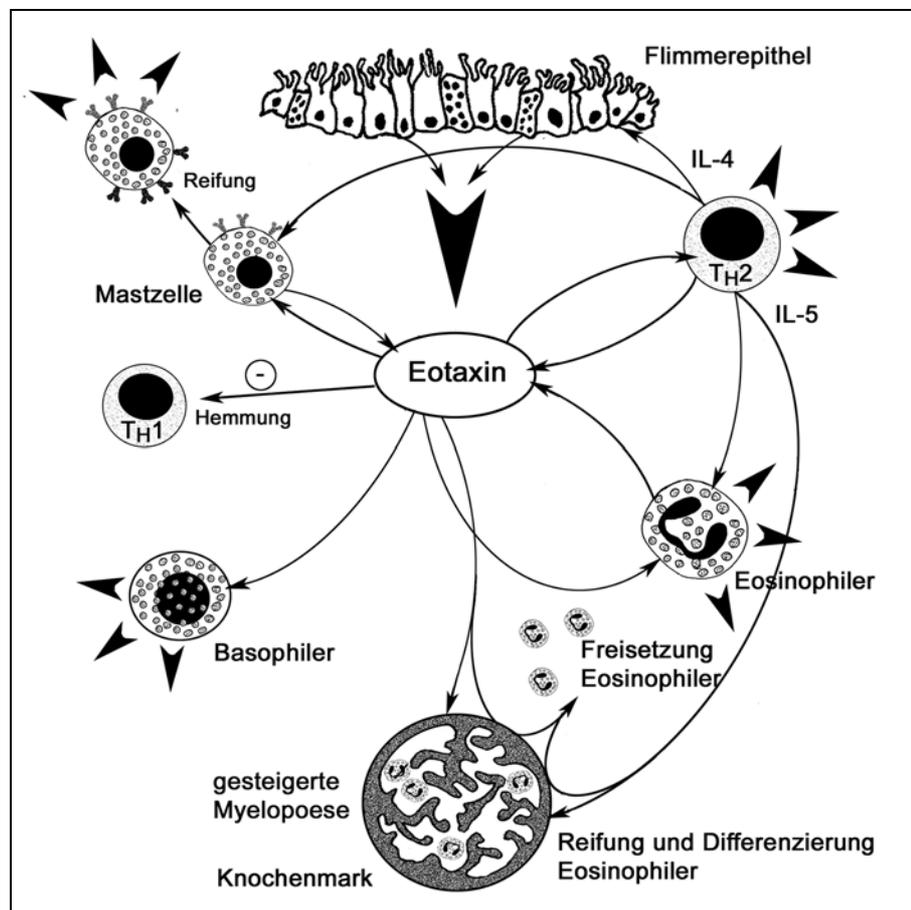


Abb. 6: Eotaxin und seine Wirkungen auf die Effektorzellen der allergischen Reaktion. Eotaxin kommt auf vielen Ebenen eine Schlüsselrolle in der Verstärkung und Unterstützung einer einmal in Gang gesetzten allergischen Reaktion zu (nach Gutierrez-Ramos ⁷⁵).

1.5.6 Adhäsionsmoleküle

Die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen induziert innerhalb weniger Minuten nach Allergenkontakt eine Adhäsionskaskade. Dieser komplexe Vorgang beinhaltet nach initialer Epithelzellaktivierung zunächst die lockere Bindung von Leukozyten an Epithelzellen, dann eine feste Adhäsion und schließlich die Migration der Leukozyten durch Epithelspalten an den Ort der Entzündung. Zu den in allergischen Reaktionen involvierten Adhäsionsmolekülen zählen die Integrine, die Superfamilie der Immunglobuline und die Selektine. Selektine unterstützen die lockere und reversible Bindung von Leukozyten an Endothelzellen, die zur Verlangsamung ihrer Rollgeschwindigkeit am Endothel führt ⁶ (Abb. 5). VCAM-1 und ICAM-1 gehören zur Superfamilie der Immunglobuline und werden vor allem auf Endothelzellen exprimiert. Sie unterstützen die feste Adhäsion von Leukozyten an Endothelzellen. Sie kommen aber auch an nicht vaskulären Strukturen vor. ¹¹² Dabei interagiert das Adhäsionsmolekül mit einem Liganden an der Oberfläche von Lymphozyten, Monozyten, eosinophilen und basophilen Granulozyten. Dieser Ligand ist das Integrin Very Late Antigen 4 (VLA-4). VLA-4 besteht aus zwei Untereinheiten; der α_4 -Untereinheit und der β_1 -Untereinheit. Nur neutrophile Granulozyten exprimieren kein VLA-4 und adhären auch nicht an VCAM-1. ¹¹²

Die fest adhärenen Leukozyten werden in der Folge über Chemokingradienten und weitere Adhäsionsschritte in das Gewebe geleitet. Die exakten Mechanismen, die an der Rekrutierung von Entzündungszellen ins Gewebe beteiligt sind, werden noch immer erforscht. Dennoch scheint der Adhäsion, als erstem Schritt in Richtung Rekrutierung, eine Schlüsselrolle zuzufallen. ¹¹³

In den letzten Jahren wurde vermehrt diskutiert, ob ein bestimmtes Adhäsionsmolekül selektiv bestimmte Entzündungszellen rekrutiert. So scheint die Induktion von VCAM-1 auf aktivierten Endothelzellen spezifisch die Adhäsion von Eosinophilen und T-Lymphozyten zu unterstützen. ¹⁴⁰ Auch beeinflusst das vorherrschende Zytokinmuster die Expression bestimmter Adhäsionsmoleküle. VCAM-1 wird vor allem nach Kontakt mit T_H2 -Zytokinen (zum Beispiel IL-4, IL-13) verstärkt exprimiert. ^{19,169} T_H1 -Zytokine dagegen induzieren vermehrt ICAM-1.

Lösliche Formen der Adhäsionsmoleküle, die mit einem kleinen s für das englische soluble gekennzeichnet sind (sVCAM-1, sICAM-1), können in Plasma und Körpersekreten nachgewiesen werden. ²¹⁴

1.5.7 Leukotrien C₄

Leukotriene sind Lipidmediatoren, die über das Enzym 5-Lipoxygenase aus Arachidonsäure synthetisiert werden. Die Cysteinyl-Leukotriene, LTC₄ und seine extrazellulären Derivate LTD₄ und LTE₄, wurden früher auch als Slow-Reacting Substance of Anaphylaxis (SRS-A) bezeichnet.²⁸

Synthetisiert werden Cysteinyl-Leukotriene von Mastzellen, Makrophagen, basophilen und eosinophilen Granulozyten.^{117,216} Im Zusammenhang mit Asthma und allergischen Erkrankungen sind sie beteiligt an Bronchokonstriktion, Hypersekretion, Hyperreaktivität, erhöhter Gefäßpermeabilität, verminderter mukozilärer Clearance und verstärkter Eosinophilie.⁷⁷

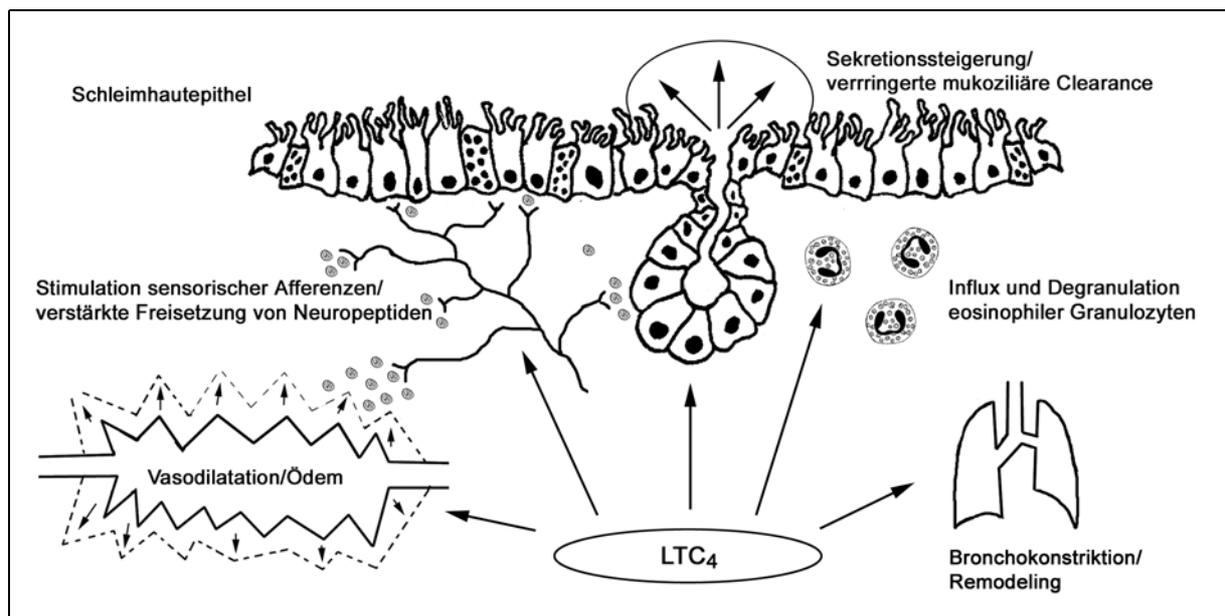


Abb. 7: Schematischer Überblick der Wirkungen von LTC₄ (nach Borish²²).

In Bezug auf die allergische Rhinitis ist insbesondere ihr Einfluss auf Gefäße, Drüsen, Entzündungszellen und Nerven von Interesse (Abb. 7). Folge sind Rhinorrhoe und ödematöse Obstruktion.¹²⁰ In Nervenfasern führen sie über eine Steigerung der Aktionspotentialfrequenz zur vermehrten Sekretion von Neuropeptiden.⁶⁰ Außerdem stimulieren die Cysteinyl-Leukotriene die Synthese von Neuropeptiden in den Zellkörpern sensorischer Nerven.¹²² Somit scheinen sie erheblich an der Entwicklung der Hyperreaktivität der Atemwege beteiligt zu sein.

Über erhöhte Kollagenproduktion von Fibroblasten und die Proliferation von Epithelzellen und glatten Muskelzellen sind Cysteinyl-Leukotriene am Remodeling der Luftwege beteiligt.²²

1.6 Fragestellung

Gegenstand dieser Arbeit ist die weitere Erforschung von Frühphase und Spätphase der nasalen allergischen Sofortreaktion nach Allergenprovokation bei Heuschnupfenpatienten.

Beschrieben werden dabei Veränderungen über einen Zeitraum von 8 h nach nasaler Allergenapplikation. Daten aus einem klinischen und einem experimentellen Teil werden in Bezug auf das Vorhandensein einer allergischen Früh- und Spätphase analysiert und statistisch miteinander verglichen.

Der klinische Teil erfasst anhand von symptomorientierten Fragebögen subjektiv wahrgenommene Änderungen der Lebensqualität. Die aufgezeichneten Symptome werden in ihrem zeitlichen Auftreten, ihrer Ausprägung und ihrem Abklingen miteinander verglichen. Auch soll ermittelt werden, welche Symptome am geeignetsten zur Erfassung von Früh- und Spätphasenreaktion sind.

Dagegen erlauben rhinometrisch aufgezeichnete Nasenvolumenänderungen eine objektive Interpretation von Zu- und Abnahme der ödematösen Schleimhautreaktion im allergischen Geschehen. Mit der akustischen Rhinometrie soll insbesondere aufgeklärt werden, ob die untersuchten Patienten mit Obstruktion auf die Allergenprovokation reagieren oder nicht. Außerdem soll festgestellt werden, ob diese Obstruktion einen biphasischen Verlauf im Sinne einer allergischen Früh- und Spätphase aufweist.

Der experimentelle Teil beschreibt parallel zur Klinik ablaufende immunologische Veränderungen im Nasensekret. Besondere Berücksichtigung gilt der Interpretation der Ergebnisse in Bezug auf die Eosinophilie in der Spätphase der allergischen Rhinitis.

Diesbezüglich wurde eine Auswahl an Zytokinen und Chemokinen getroffen, die in der Folge mit spezifischen ELISAs nachgewiesen wurden: ECP gilt als sensitiver Marker für die Eosinophilie. Mit ihm soll der zunehmende Influx von Eosinophilen in der allergischen Spätreaktion nachgewiesen werden. IL-5 ist ein typischer Vertreter der in der Spätphase dominierenden T_H2 -Zytokine. Von Interesse ist hier unter anderem die Frage, ob IL-5 bereits vor ECP freigesetzt wird. Exemplarisch für die Vielzahl an Chemokinen, die im allergischen Geschehen wirken, fiel die Wahl auf das CXC-Chemokin IL-8 und die CC-Chemokine MCP-1, MCP-3, RANTES und Eotaxin. Zur genaueren Betrachtung der Vorgänge bei Adhäsion und Loslösung von Leukozyten im Rahmen ihrer Extravasation wurde das Adhäsionsmolekül sVCAM-1 bestimmt. Das Cysteinyl-Leukotrien LTC_4 wurde aufgrund seiner Wirkungen auf Gefäße, Drüsen, Entzündungszellen und Nerven, sowie wegen seiner Beteiligung an der Entwicklung der Hyperreagibilität der Atemwege mit in die Untersuchung eingeschlossen.

Die Ergebnisse der ELISAs werden sowohl untereinander, als auch mit den Ergebnissen des klinischen Teils aus Fragebogen und Rhinometrie in Relation gesetzt.

2. Material und Methoden

2.1 Studienaufbau

2.1.1 Probandenkollektiv und Kriterien

An der Untersuchung nahmen 13 Patienten teil; vier Frauen (30,8 %) und neun Männer (69,2 %). Das Alter lag zwischen 20 und 41 Jahren (Mittelwert = 27,85 Jahre).

Einschlusskriterium war der Nachweis einer isolierten saisonalen allergischen Rhinitis (= Pollinosis) durch spezifische Allergietests. Hierzu wurde bei allen Patienten nach ausführlicher fachspezifischer Anamnese zunächst ein Skin-PRICK-Test (ALK-Scherax, Hamburg) durchgeführt und im Serum das Gesamt-IgE sowie das spezifische IgE bestimmt (UniCAP-FEIA, Pharmacia, Freiburg). 11 Patienten reagierten am stärksten gegen Gräser-Pollen (84,6 %, spezifisches Allergen Lieschgras) und zwei gegen Birken-Pollen (15,4 %, spezifisches Allergen Bet v 1).

Ausschlusskriterien waren die Einnahme von Medikamenten vor oder während des Untersuchungszeitraums, der Nachweis einer perennialen Sensibilisierung, eine oder mehrere asthmatische Episoden in der Vorgeschichte mit dem Verdacht auf bronchiale Hyperreagibilität, sowie das Bestehen allergischer Symptome zum Zeitpunkt der Untersuchung.

2.1.2 Nasale Provokation

Nach dem eindeutigen Nachweis einer saisonalen Allergie wurde außerhalb der Pollenflugzeit ein nasaler Provokationstest mit dem jeweils stärksten Allergen durchgeführt. Hierzu wurde auf beide Nasenseiten jeweils standardisiert 10 µl (insgesamt 20 µl) des Allergens (ALK-Scherax) mit einer Eppendorf-Pipette auf den Kopf der unteren Nasenmuschel aufgetragen. 11 Patienten wurden mit Gräser-Pollen (84,6 %, spezifisches Allergen Lieschgras) und zwei mit Birken-Pollen (15,4 %, spezifisches Allergen Bet v 1) provoziert. Vor der Provokation wurde ein Fragebogen ausgefüllt, eine akustische Rhinometrie durchgeführt und Nasensekret entnommen.

2.2 Beurteilung der allergischen Symptome

2.2.1 Fragebogen – Quality of Life

Zu den Zeitpunkten T_{0-12} (T_0 vor der Provokation und T_{1-12} jeweils nach 10, 20, 30, 45 und 60 min, und dann stündlich bis 8 h nach der Provokation) füllten die Probanden je einen Fragebogen zur Lebensqualität aus (zu QoL siehe auch 1.4.1). Auf einer visuellen Analogskala (angefangen von „nicht beeinträchtigt“ bis „extrem beeinträchtigt“, Abb. 8; siehe auch Anhang 7.1) markierten die Patienten mit einem senkrechten Strich ihr Befinden zum jeweiligen Zeitpunkt. Es wurden folgende 10 Punkte beurteilt: Gesamtbefinden, Nase verstopft, Nase läuft, Niesreiz, Juckreiz der Nase, Brennen in der Nase, Beschwerden der Augen (wie Jucken, Brennen, Tränenfluss), Kribbeln im Hals, Schwellung (der Lippen, im Mund) und Atembeschwerden.

Zur Auswertung wurde der Abstand der senkrechten Striche vom Anfang der Skala („nicht beeinträchtigt“) mit einem 100 mm Lineal ausgemessen. Die Stärke der Symptome ließ sich somit im zeitlichen Verlauf auf Werte zwischen 1 bis 100 festlegen.

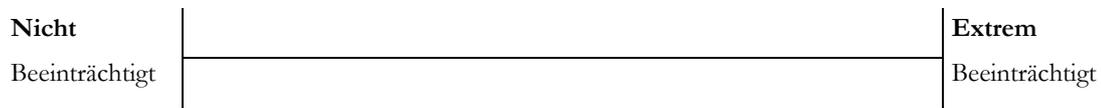


Abb. 8: Beispiel einer visuellen Analogskala.

Zwei Hauptkriterien wurden bei der Erstellung des Fragebogens beachtet: Einerseits das einer möglichst schnellen Bearbeitungszeit, da vor allem die Zeiträume zwischen den ersten Sekretentnahmen mit je 10 min sehr knapp bemessen waren. Dazu bot es sich an, nur bestimmte, der Untersuchung angemessene Fragenkomplexe (wie z. B. Nasensymptome und Augensymptome) eines klassisch etablierten Fragebogens wie des RQLQ auszuwählen, um eine schnelle Durchführung aufeinander folgender Probenentnahmen, rhinometrischer Messungen und Fragebogenbewertungen zuzulassen.

Andererseits sollte die Erfassung der Daten mit einer visuellen Analogskala auch kleinste Veränderungen widerspiegeln, ohne die Patienten auf vorgegebene Werte festzulegen.

2.2.2 Akustische Rhinometrie

Die akustische Rhinometrie (AR) ist ein Verfahren zur Messung von Flächen und Volumina in der Nasenhaupthöhle. Sie beruht auf der Aufzeichnung von reflektierten Schallwellen, die vorher in die Nasenhaupthöhle ausgesendet wurden. ⁸⁹

Die reflektierten Schallwellen werden mit einem Mikrophon aufgezeichnet, über ein PC-Programm (Rhinoklack 2.1, Stimotron) analysiert und als typische, reproduzierbare Messkurve dargestellt (Abb. 9).

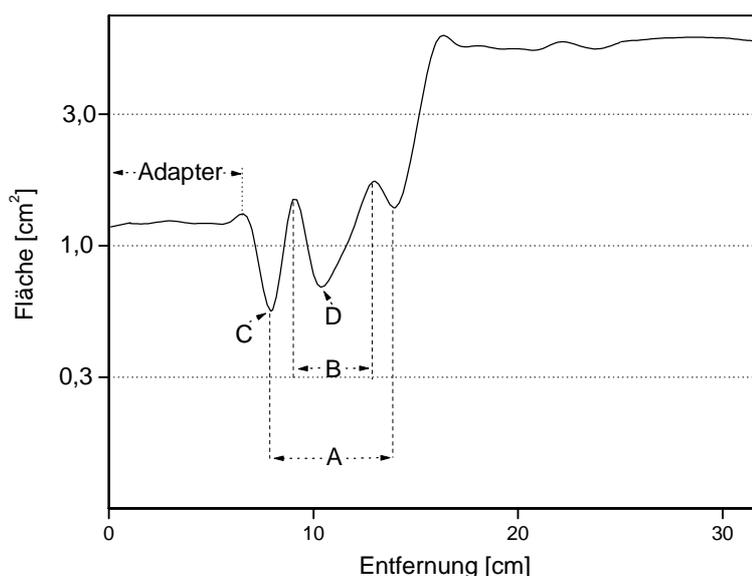


Abb. 9: Darstellung einer Messkurve, wie sie bei der akustischen Rhinometrie gewonnen wird (aus Rasp ¹⁵⁶).
A = Volumen von der Nasenklappe bis zum Kopf der mittleren Muschel
B = Volumen über dem Kopf der unteren Muschel
C = Querschnitt im Bereich der Nasenklappe (Limenes nasi)
D = Querschnitt im Bereich des unteren Muschelkopfes

Gezeigt wird die Querschnittsfläche in Abhängigkeit ihres Abstandes von der Schallquelle.¹⁵⁶ Auf der y-Achse ist in logarithmischer Darstellung für jeden Punkt der Kurve die Querschnittsfläche in cm^2 aufgetragen. Die x-Achse gibt den Abstand der jeweiligen anatomischen Struktur zur Mikrofon in cm wieder. Wird die Kurve über einen bestimmten Entfernungsbereich integriert, d.h. die Fläche unter der Kurve bestimmt, erhält man das entsprechende Volumen als Produkt aus Fläche und Entfernung in cm^3 . Spezifische Aussagen über die Änderung der Durchlässigkeit der Nasenhaupthöhle zu den Zeitpunkten T_{0-12} lassen sich vor allem durch Bestimmung der Volumina A und B, sowie der Fläche D treffen (Abb. 9).

Das Volumen A steht dabei für den Bereich zwischen Nasenklappe und Kopf der mittleren Muschel (7,5 cm bis 12,0 cm). Das Volumen B repräsentiert den bei allergischen Erkrankungen aerodynamisch im Vordergrund stehenden Kopf der unteren Muschel (8,1 cm und 11,4 cm).¹⁵⁶

Die Fläche D findet sich im Bereich des unteren Muschelkopfes, der bei einer Muschelschwellung zum Ort des minimalen Querschnitts wird.

Die Fläche C entspricht dem Ort des minimalen Querschnitts vor der Provokation, der im Bereich der Nasenklappe (Limen nasi, der physiologisch engsten Stelle der Nase) lokalisiert ist, am allergischen Geschehen aber nur wenig beteiligt ist (Abb. 10).^{109,156}

Als nicht invasives, objektives, schnelles und einfach handzuhabendes Verfahren, gestattet es die AR rasch hintereinander viele Messungen durchzuführen.

Zur Bestimmung der Volumina A und B und der Flächen C und D der Nasenhaupthöhle wurde zu den Zeitpunkten T_{0-12} jeweils eine Messung (Gerät: Rhinoklack RK 1000, Stimotron, Wendelstein) seitengetreunt als Vierfachmessung durchgeführt. Die Daten wurden nur dann ausgewertet, wenn die Kurve eindeutig und reproduzierbar darzustellen war.

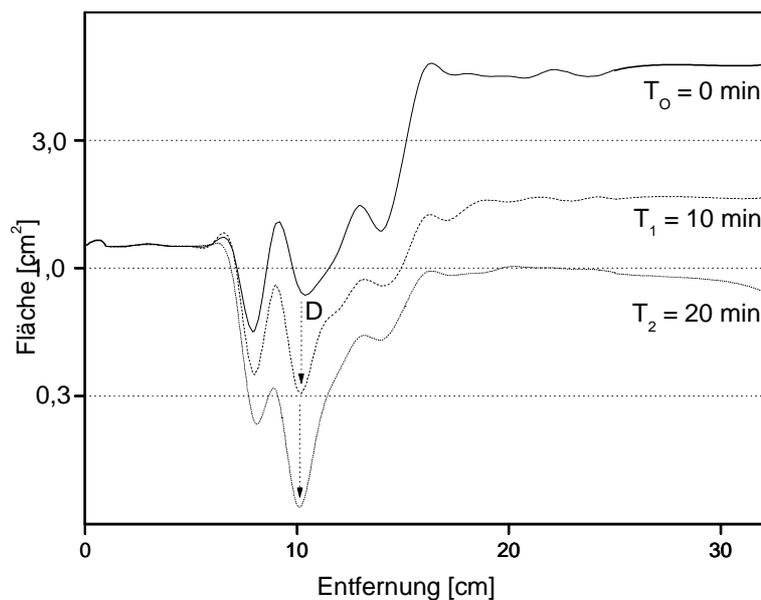


Abb. 10: Typisches Bild einer allergischen Sofortreaktion nach Provokation mit 10 μl Gräserpollen auf einer Nasenseite. Zu sehen ist eine deutliche Abnahme des Querschnittes im Bereich des Kopfes der unteren Muschel (D) zu den Zeitpunkten T_1 und T_2 im Vergleich zu T_0 (aus Rasp¹⁵⁶).

Aus den Daten der linken und rechten Seite wurden durch Addition die Daten für die gesamte Nase gewonnen.

Das Volumen (bzw. die Querschnittsfläche) der vorderen Nasenhöhle (bzw. die Fläche des kleinsten Querschnitts im Bereich der unteren Nasenmuschel) war je nach Proband verschieden groß. Außerdem variierten aufgrund von anatomischen Gegebenheiten (etwa eine vorhandene Septumdeviation oder eine Concha bullosa) auch jeweils die Volumina und Flächen zwischen der linken und der rechten Nasenseite beim jeweils selben Probanden. Es musste eine Größe gefunden werden, die alle Nasen und auch jeweils die linke und die rechte Nasenseite miteinander vergleichbar machte.

Dies gelang, indem die einzelnen Daten der Messungen nach der Provokation auf einen Referenzwert bezogen wurden. Als Referenzwert wurde der Leerwert (T_0) vor der Provokation verwendet ²²¹. Dieser wurde gleich 100 % gesetzt. Daraus resultierte eine prozentuale Abweichung der Messdaten T_{1-12} vom Referenzwert (Abb. 11). Eine Zunahme der Volumina oder Flächen entsprach somit einem Wert größer als 100 %, eine Abnahme einem Wert kleiner als 100 %.

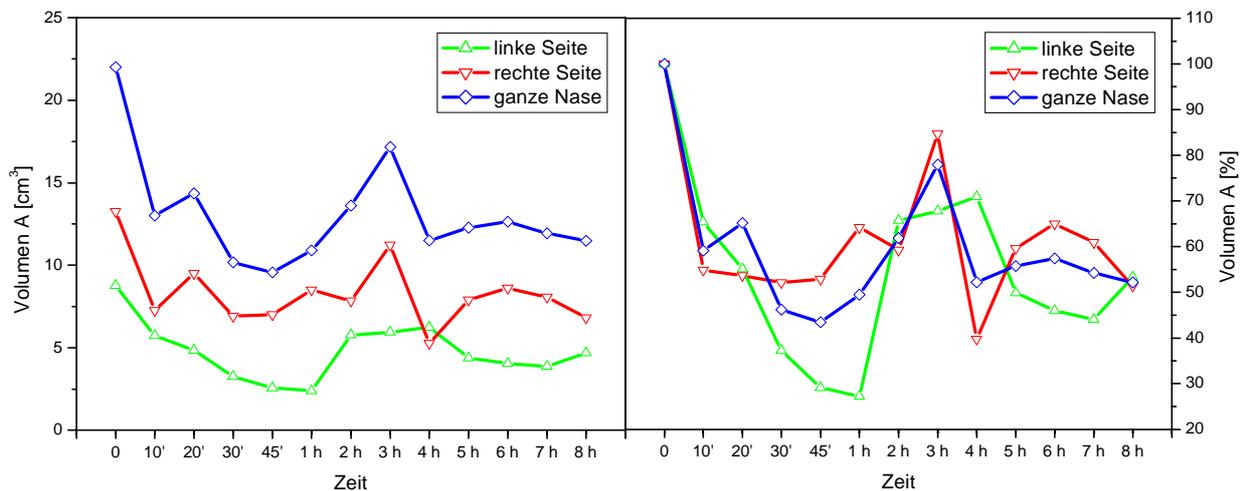


Abb. 11:

links: Änderung des Volumens A der linken Nasenseite, der rechten Nasenseite und der ganzen Nase eines Probanden über den Zeitraum T_{0-12} .

rechts: Prozentuale Änderung des Volumens A der linken und rechten Nasenseite desselben Probanden über den Zeitraum T_{0-12} nach Umrechnung der Daten in Prozentwerte bezogen auf den Referenzwert T_0 . Dargestellt sind links und rechts einzeln, sowie die Änderung des Gesamtvolumens. Die Volumenänderungen lassen sich nun besser miteinander vergleichen.

2.3 Biochemische und immunologische Untersuchung – experimenteller Teil

2.3.1 Probengewinnung, Verarbeitung und Berechnung der absoluten sezernierten Stoffmenge

Zur Nasensekretgewinnung wurden auf beiden Seiten Watteröllchen in den mittleren Nasengang eingebracht. Die Watteröllchen wurden vorher einzeln gewogen (70-80 mg). Eingelegt wurden sie jeweils vor der Provokation (T_0) und zu 12 Zeitpunkten (T_{1-12}) nach der Provokation, jeweils nach 10, 20, 30, 45 und 60 min, und dann stündlich bis 8 h nach der Provokation. Die Watteröllchen verblieben dort für jeweils 5 min, saugten das abgesonderte Nasensekret auf und wurden anschließend entnommen.

Die Proben wurden erneut gewogen und in einem speziell vorbereiteten Sieb und zugehörigem Spitzglas für 10 min bei 2000 g und +4 °C zentrifugiert. Das gewonnene Sekret wurde mit einer Eppendorf-Pipette in 80 µl Proben aliquotiert und in Eppendorf-Cups bis zur weiteren Verarbeitung bei -20 °C eingefroren.

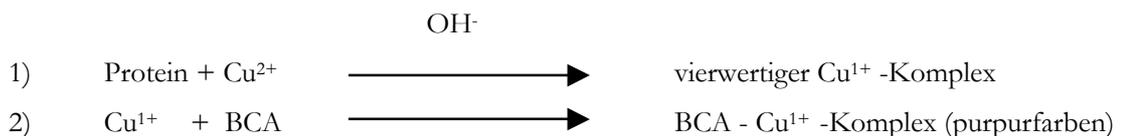
Durch das Pipettieren konnte gleichzeitig das Sekretvolumen bestimmt werden.⁵⁸

Aus den Volumina der einzelnen Sekretproben und den Konzentrationen der mit den unten beschriebenen Enzyme Linked Immuno Sorbant Assays (ELISAs, siehe unten) bestimmten Parametern, wurde die absolute sezernierte Stoffmenge berechnet. Sie ergibt sich für jeden Messwert $T_{0,12}$ aus dem Produkt des Sekretvolumens der einzelnen Probe mit der Konzentration des jeweiligen in dieser Probe nachgewiesenen Parameters. Diese Absolutwerte bieten die Möglichkeit, Verdünnungseffekten im Verlauf der Sekretion gerecht zu werden.

2.3.2 Gesamtprotein

Die Bestimmung des Gesamteiweißes in den einzelnen Nasensekretproben erfolgte mit einem Untersuchungskit der Firma Pierce (BCA Protein Assay Reagent Test, Pierce, Illinois).

Bei dieser Methode reduziert das nachzuweisende Protein in einem alkalischen Milieu Cu^{2+} zu Cu^{1+} (Biuret Reaktion in Reaktionsschema 1). Der hoch sensitive und selektive kolorimetrische Nachweis des entstandene Cu^{1+} - Kations erfolgt mit einem Reagenz, das bicinchoninic acid (BCA) enthält (siehe Reaktionsschema 2). Das purpurfarbene Reaktionsprodukt ist ein wasserlöslicher Chelatkomplex aus zwei BCA-Molekülen mit einem Kupferion, der im Photometer bei 562 nm eine hohe Extinktion zeigt. Bei steigenden Proteinkonzentrationen im Arbeitsbereich zwischen 125 µg/ml bis 2000 µg/ml verläuft die Extinktion linear.



Zunächst wird eine Verdünnungsreihe aus einer Standardstammlösung aus bovine serum albumin (BSA) in den Konzentrationen 25 µg/ml, 125 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, 750 µg/ml, 1000 µg/ml, 1500 µg/ml und 2000 µg/ml erstellt.

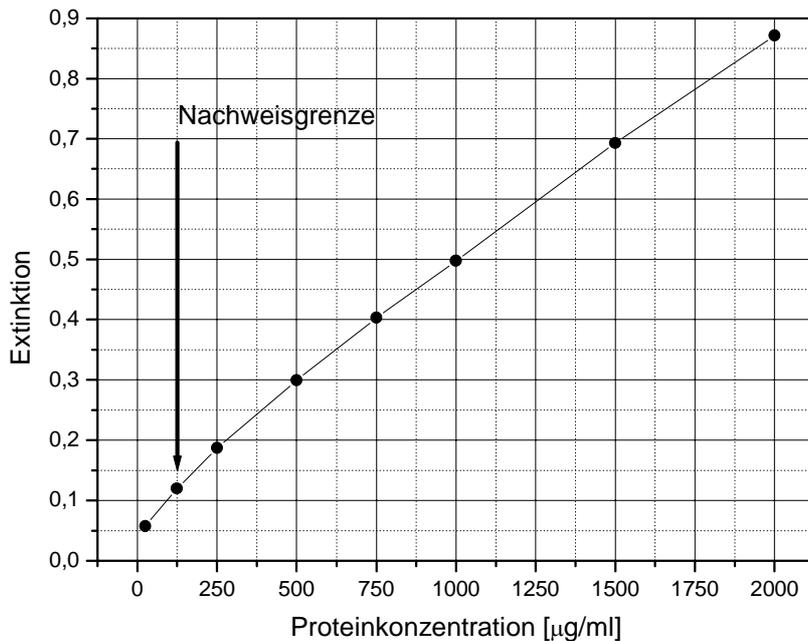


Abb. 12: Standardkurve zur Eiweißbestimmung in den Nasensekretproben.

Nun werden je 10 μl dieser Standards, der zu bestimmenden Proben und der Nullwertkontrolle (Kochsalzlösung) in die Vertiefungen einer entsprechenden Mikrotiterplatte (nicht proteinbindend) pipettiert, mit 200 μl Arbeitsreagenz (herzustellen aus den Kitbestandteilen), gemischt, 30 min bei 37 °C inkubiert und dann nach Abkühlung auf Raumtemperatur als Doppelwert im Mikrotiterplattenlesegerät bei 562 nm gemessen. Die Höhe der Extinktion ist dabei direkt proportional dem Proteingehalt. Mit der erhaltenen BSA-Standardkurve (siehe Abb. 12) können nun die entsprechenden Proben oberhalb der Nachweisgrenze von 125 $\mu\text{g/ml}$ verglichen werden.

2.3.3 ECP

Die hier für ECP dargestellte Beschreibung eines ELISAs steht exemplarisch für die anderen mit der ELISA-Technik durchgeführten Transmitterbestimmungen (Abb. 13, Schema A).

Die Bestimmung des ECP erfolgte mittels Fluoroenzymimmunoassay (UniCAP ECP, Pharmacia & Upjohn Diagnostics AB, Uppsala, Schweden).

- 1) In dem Test reagierten kovalent an das ImmunoCAP gebundene monoklonale Maus-Antikörper gegen ECP (Anti-ECP) mit dem ECP in den zugegebenen Standardlösungen und den Sekretproben der Probanden.
- 2) Nach abgelaufener Inkubationszeit und Waschen wurden mit dem Enzym β -Galaktosidase konjugierte Anti-ECP-Antikörper zugegeben, um einen Komplex zu bilden.
- 3) Nach der Inkubation wurde ungebundenes Enzym-Anti-ECP ausgewaschen und der gebundene Komplex mit einer Entwicklerlösung (Substratlösung 4-Methylumbelliferyl- β -D-Galaktosid) inkubiert. Nach Abstoppen der Reaktion wurde die Fluoreszenz des Eluats gemessen. Die Fluoreszenz verhält sich proportional zur ECP-Konzentration in der Sekretprobe. Um die Ergebnisse auszuwerten, wurden die Messsignale der Patientenproben direkt mit den Messsignalen für die Standardkurve verglichen. Der Messbereich lag zwischen 10 ng/ml und 1000 ng/ml.

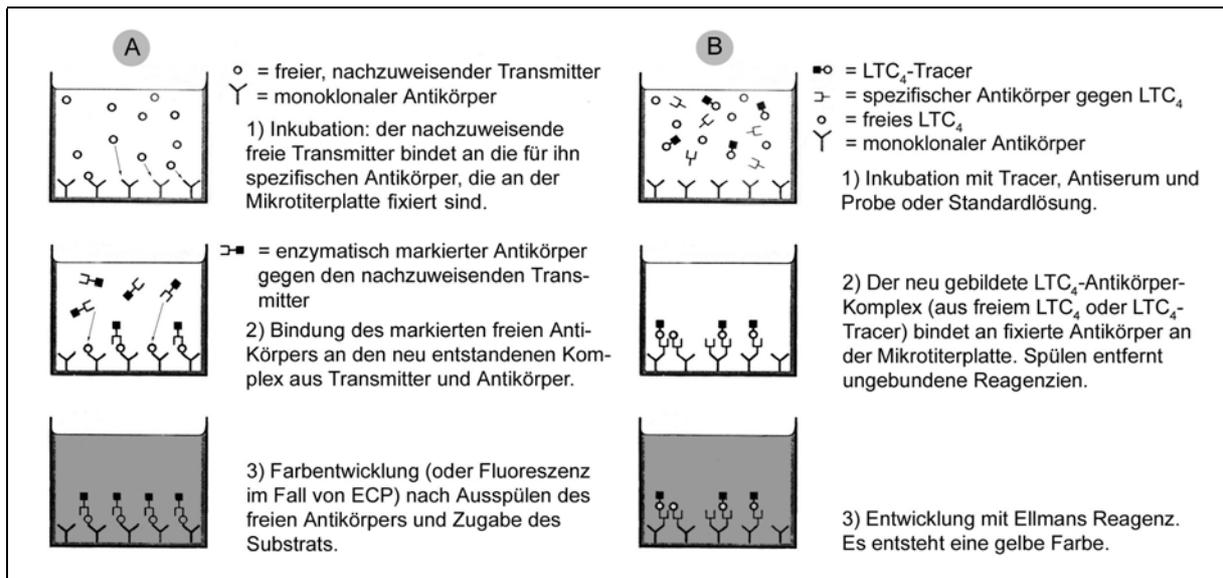


Abb. 13: In Schema A kommt der Enzymimmunoassay und in Schema B der kompetitive Enzymimmunoassay (siehe 2.3.7) zur Darstellung.

2.3.4 Interleukin-5

Im Folgenden sind die Namen der ELISA-Testkits, die Schritte 1 bis 3 (Abb. 13, Schema A) und die untere Nachweisgrenze des jeweiligen Parameters tabellarisch dargestellt.

ELISA-Testkit für IL-5	IL-5 Immunotech Enzymimmunoassay Kit, Beckman & Coulter
1) a) Vorbeschichtete Mikrotiterplatte mit b) Probenzugabe der	monoklonalem Anti-IL-5-Antikörper. Standards und Sekretlösungen.
2) Nach Inkubation und Spülvorgang Zugabe von	biotinyliertem gentechnisch hergestellten monoklonalen Anti-IL-5-Antikörper und dem Konjugat Streptavidin-Peroxidase.
3) Das chromogene Substrat der Peroxidase war Die untere Nachweisgrenze für IL-5 lag bei	Tetramethylbenzidin. 7,8 pg/ml.

2.3.5 Chemokine: IL-8, MCP-1, MCP-3, RANTES und Eotaxin

ELISA-Testkits jeweils für IL-8, MCP-1, MCP-3, RANTES und Eotaxin	Human IL-8, Human MCP-1, Human MCP-3, Human RANTES und Human Eotaxin, Immunoassay, R&D Systems
1) a) Vorbeschichtete Mikrotiterplatte mit b) Probenzugabe der	monoklonalen Antikörpern gegen den jeweils nachzuweisenden Transmitter. Standards und Sekretlösungen.
2) Nach Inkubation und Spülvorgang Zugabe von	spezifischen, polyklonalen Antikörpern gegen den jeweiligen Transmitter, der mit dem Enzym Peroxidase (aus Meerrettich) markiert war.
3) Das chromogene Substrat der Peroxidase war Die untere Nachweisgrenze lagen für	Tetramethylbenzidin. IL-8, MCP-1 und RANTES bei 31,2 pg/ml und für MCP-3 und Eotaxin bei 15,6 pg/ml.

2.3.6 sVCAM-1

ELISA-Testkit für sVCAM-1	Human sVCAM-1 Immunoassay, R&D Systems
1) a) Vorbeschichtete Mikrotiterplatte mit b) Probenzugabe der	monoklonalem Anti-sVCAM-1-Antikörper. Standards und Sekretlösungen.
2) Nach Inkubation und Spülvorgang Zugabe von	monoklonalem Anti-sVCAM-1-Antikörper, der mit Peroxidase (aus Meerrettich) markiert ist.
3) Das chromogene Substrat der Peroxidase war Die untere Nachweisgrenze für s-VCAM lag bei	Tetramethylbenzidin. 4,0 ng/ml.

2.3.7 Leukotrien C₄

Die Bestimmung von Leukotrien C₄ erfolgte mit einem kompetitiven ELISA (Cayman Chemical, ACE Leukotrien C₄ EIA Kit). Der im Folgenden beschriebene Ablauf des kompetitiven ELISA bezieht sich auf das Schema B der Abbildung 13.

- 1) Prinzip dieses Immunoassays war der Wettbewerb zwischen LTC₄ (aus Sekretproben oder Standardlösungen) und einem LTC₄-Acetylcholinesterase-Konjugat (dem sogenannten LTC₄-Tracer) um die Bindung an eine nur begrenzt vorhandene Menge von LTC₄-Antikörper. Weil die Konzentration des zugegebenen LTC₄-Tracers in jeder Probe konstant war, während sich die Konzentration von LTC₄ von Probe zu Probe unterschieden, war die Menge an LTC₄-Tracer, die effektiv während der Inkubationszeit vom LTC₄-Antiserum gebunden wurde, indirekt proportional zur Konzentration von LTC₄ in der Probe.
- 2) Der in der Probe neu entstandene LTC₄-Antikörper-Komplex wiederum wurde von einem monoklonalen Antikörper (aus Maus) gebunden, mit dem die Mikrotiterplatte vorher beschichtet worden war (Abb. 13, Schema B). Ein Spülvorgang entfernte ungebundene Reagenzien.
- 3) Nun wurde Ellmans Reagenz (Acetylthiocholin und 5,5'-Dithio-Bis-2-Nitrobenzolsäure), als entsprechendes Substrat der Acetylcholinesterase, zugegeben. Das Produkt der enzymatischen Reaktion (5-Thio-2-Nitrobenzolsäure) zeigte eine deutlich gelbe Farbe und absorbierte bei 412 nm im Photometer. Die photometrisch bestimmte Intensität dieser Farbe ist proportional der an der Mikrotiterplatte gebundenen Menge an LTC₄-Tracer, also indirekt proportional der während der Inkubation vorhandenen Menge an freiem LTC₄. Die so erhaltenen Ergebnisse wurden mit der aus den mitgeführten Standardlösungen errechneten Standardkurve verglichen. Die untere Nachweisgrenze für Leukotrien C₄ lag bei 500,0 pg/ml.

2.4 Statistische Berechnungen

Die gesammelten Daten der Fragebögen, der akustischen Rhinometrie und der biochemischen Untersuchungen wurden an einem PC mit dem SPSS 10.0 Programm statistisch ausgewertet. Dabei wurden P-Werte $< 0,05$ als signifikant und P-Werte $< 0,01$ als hoch signifikant angesehen. Die Ermittlung der Signifikanzen erfolgte mit dem Wilcoxon-Test für zwei verbundene, nicht parametrische Stichproben, wobei einerseits der Ausgangswert T_0 mit jedem Messpunkt (T_{1-12}) einzeln verglichen wurde (P-Werte $< 0,05$ sind mit dem Symbol * und P-Werte $< 0,01$ mit dem Symbol ** in den Grafiken gekennzeichnet); und andererseits jeder Messpunkt ($T_x = T_{0-11}$) mit dem jeweils folgenden Zeitpunkt (T_{x+1}) verglichen wurde (P-Werte $< 0,05$ sind mit dem Symbol + und P-Werte $< 0,01$ mit dem Symbol ++ in den Grafiken gekennzeichnet). Zum Vergleich sowohl der verschiedenen Transmitterverläufe untereinander, als auch der Transmitterverläufe mit den Ergebnissen der Fragebögen und der akustischen Rhinometrie, fand der Spearman-Test für bivariate Korrelationen Anwendung. Für die durchgeführten Tests erfolgte keine Adjustierung für multiples Testen. Die Ergebnisse sind graphisch als Mittelwerte und \pm Standardabweichung dargestellt.

3. Ergebnisse

3.1 Auswertung des klinischen Teils

3.1.1 Fragebogen

Nach Auswertung der visuellen Analogskala wurden Mittelwerte und Standardabweichungen zu den einzelnen Messzeitpunkten ermittelt und als Zeitreihe graphisch dargestellt (Abb. 14a und 14b). Zur besseren Vergleichbarkeit der Kurven wurden 5 Extrempunkte der Kurven festgelegt (min 1, min 2, min 3 und max 1 und max 2, exemplarisch dargestellt in Abb. 14a Niesreiz). Aus den Differenzen $\boxed{\text{max 1} - \text{min 1}}$ und $\boxed{\text{max 2} - \text{min 2}}$ wurden jeweils der absolute Anstieg 1 in der Frühphase und der absolute Anstieg 2 in der Spätphase berechnet. Ebenso ergaben sich der Abfall 1 nach der Frühphase aus der Differenz $\boxed{\text{max 1} - \text{min 2}}$ und der Abfall 2 der Spätphase aus der Differenz $\boxed{\text{max 2} - \text{min 3}}$. Außerdem wurde bestimmt, wie viel Zeit verging, bis der jeweilige Ausgangswert wieder erreicht wurde.

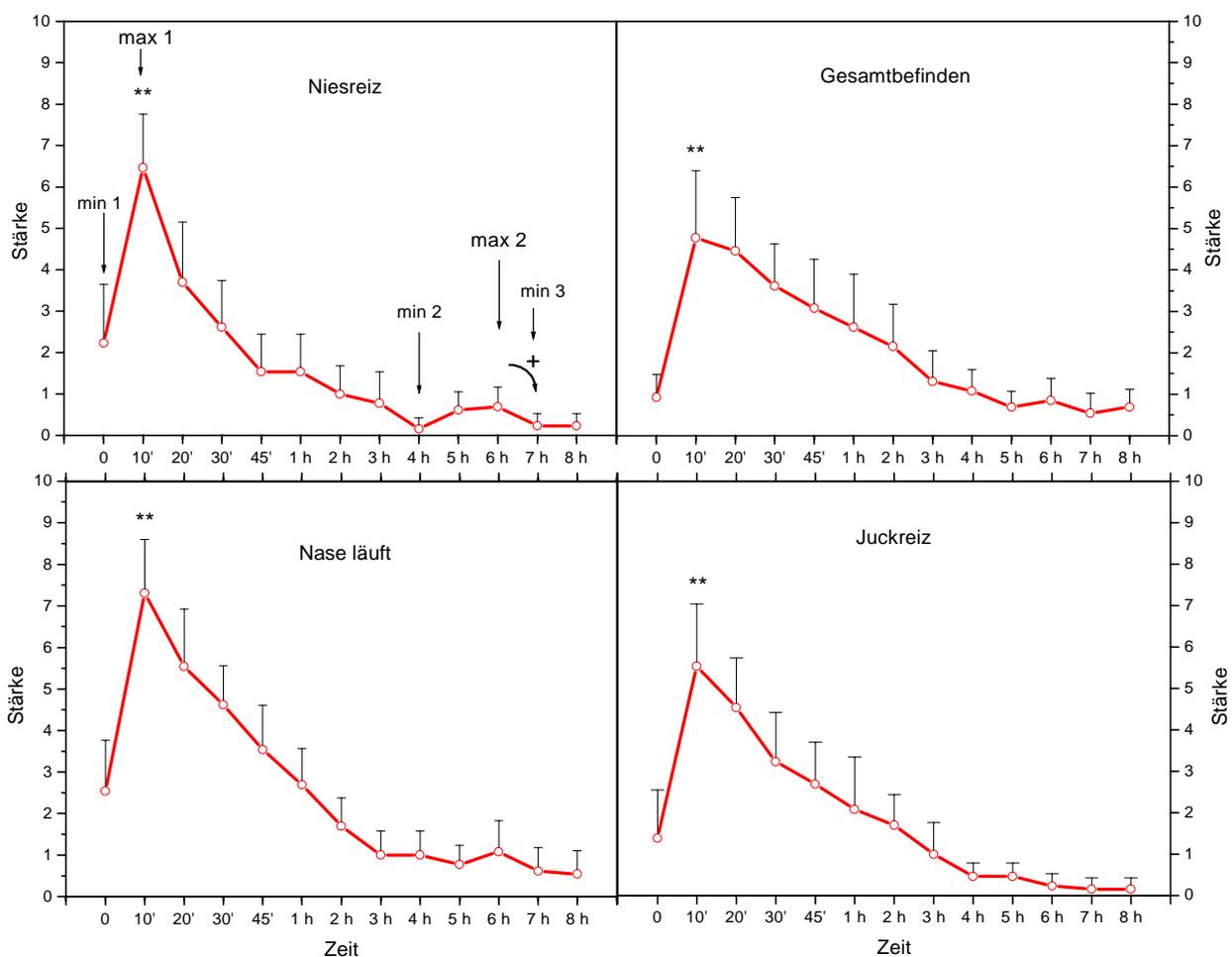


Abb. 14a: Dargestellt sind Mittelwerte ($n=13$) und Standardabweichungen der Stärke des Niesreizes, des Gesamtbefindens, der Rhinorrhoe und des Juckreizes im Messzeitraum. Min 1 (exemplarisch für den Niesreiz eingezeichnet) entspricht dem Ausgangszustand, max 1 der Frühphase, min 2 dem niedrigsten Wert vor der Spätphase, max 2 dem höchsten Wert der Spätphase und min 3 dem niedrigsten Wert nach der Spätphase.

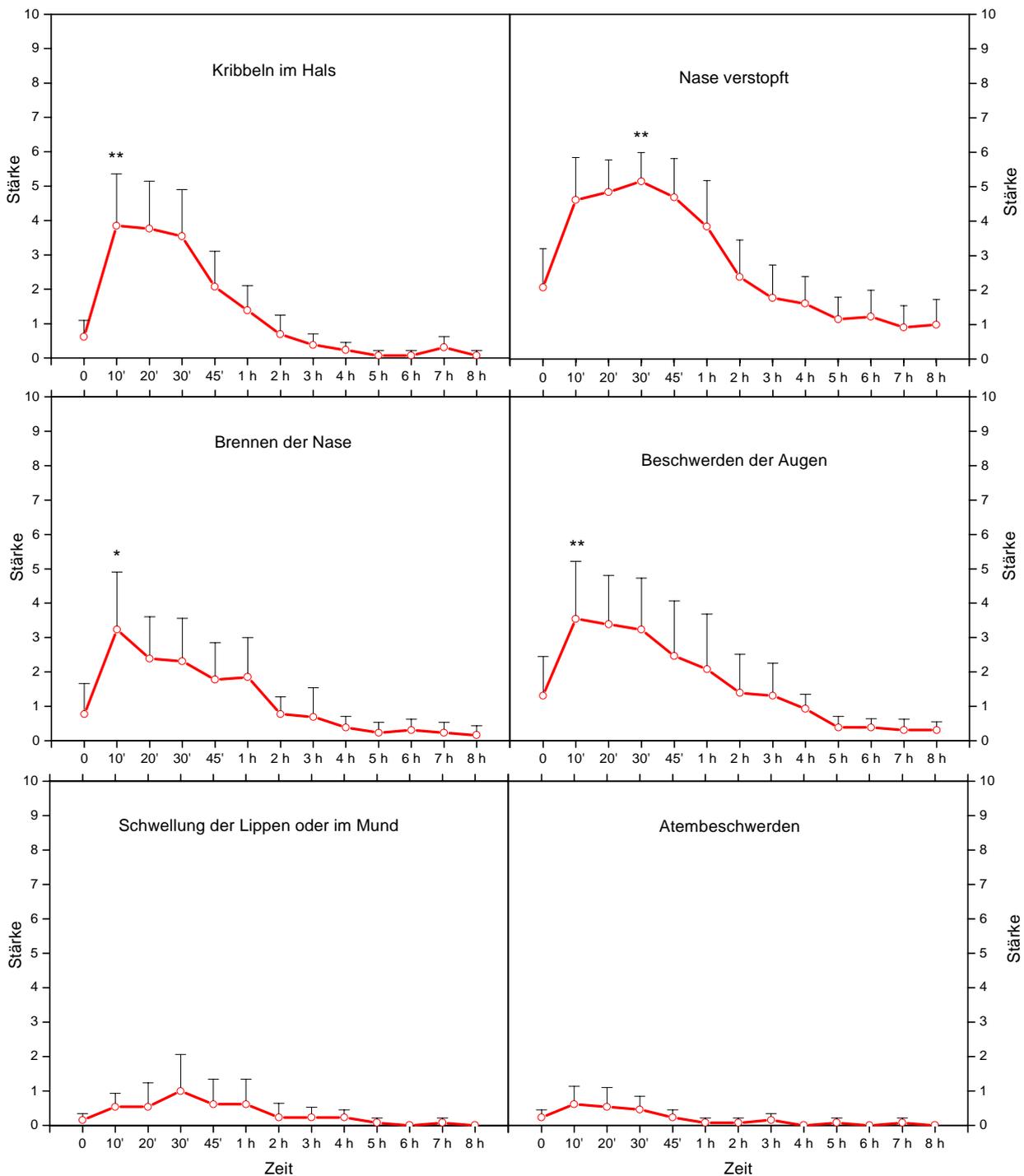


Abb. 14b: Dargestellt sind Mittelwerte (n=13) und Standardabweichungen der Stärke des Kribbelns im Hals, der nasalen Obstruktion, des Brennens in der Nase, der Augenbeschwerden, der Schwellung und der Atembeschwerden im Messzeitraum.

Frühphase

Eine Frühphase war aus allen 10 Fragen abzulesen. Bei 8 der 10 Fragen war die maximale Ausprägung (max 1) der Symptome bereits nach 10 min erreicht. Interessant war allerdings, dass bei den Fragen zur Schleimhautschwellung (Nase verstopft und Schwellung der Lippen oder im Mund) die Symptome erst nach 30 min ihr Maximum erreichten. Das heißt, anhand der QoL-Werte ließ sich in der Frühphase eine Reihenfolge im Auftreten der Symptome festlegen.

Anschließend wurde anhand des Differenzwertes Anstieg 1 $\boxed{\text{max1} - \text{min 1}}$ die absoluten Anstiege miteinander verglichen (Abb. 15).

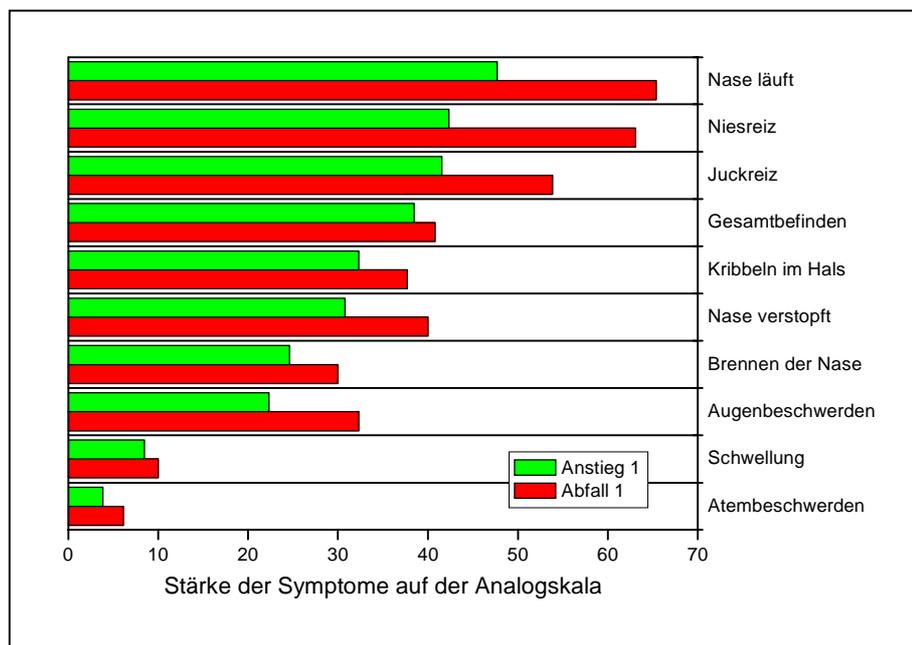


Abb. 15: Dargestellt sind mit Anstieg 1 (grün) die absoluten Maximalwerte der Symptome der Frühphase geordnet von oben nach unten nach der Stärke. Abfall 1 (rot) bezeichnet die absolute Besserung dieser Symptome nach der Frühphase. Ein erstaunliches Ergebnis, denn den Patienten ging es nach überstandener Frühphase subjektiv besser als vor der Provokation!

Die am stärksten von den Patienten bewerteten Symptome waren die laufende Nase, der Niesreiz, der Juckreiz und das eingeschränkte Gesamtbefinden. Die verstopfte Nase wurde erst an sechster Stelle genannt. Auch im Abklingen der Symptome war eine Reihenfolge festzustellen:

- der Niesreiz erreichte seinen Ausgangswert bereits nach 30 min,
- die nasalen Atembeschwerden nach 45 min,
- die laufende Nase nach 1,5 h,
- das Kribbeln im Hals, das Brennen der Nase, die Augenbeschwerden und die Schwellung der Lippen oder im Mund nach 2 h,
- der Juckreiz und die verstopfte Nase nach 2,5 h
- und das Allgemeinbefinden erst nach 4,5 h.

Der Differenzwert Abfall 1 (Abb. 15) spiegelt die maximale Besserung der Symptome nach der Frühphase, noch vor Eintritt der Spätphase, wider. Im Vergleich zum Anstieg 1 wurde deutlich, dass die auf die Frühphase folgende Besserung der Symptome jeweils stärker ausfiel, als der vorhergehende Anstieg. Ein erstaunliches Ergebnis, denn dies bedeutet, dass sich die Patienten nach überstandener Frühphase besser fühlten als vor der Provokation. Sogar das träger abklingende Gesamtbefinden besserte sich nach 5 h minimal im Vergleich zum Ausgangswert.

Dieses Phänomen der subjektiven Besserung des Befindens im Vergleich zum Ausgangszustand lässt sich damit erklären, dass die Probanden erleichtert über das schnelle Abklingen der Allergiesymptome waren. Darum orientierten sie sich in den darauffolgenden Stunden vor allem am unteren Rand der Skala. Dabei ließen sie außer acht, dass es ihnen vor der Provokation eigentlich besser ging als nach der Frühreaktion. Subjektiv ging es den Patienten nach überstandener Frühreaktion tatsächlich viel besser als zum Zeitpunkt der Frühreaktion, aber sehr wahrscheinlich nicht wirklich besser als vor der Provokation. Dieses überraschende Ergebnis müsste in einer anderen Untersuchung mit eingehenderer Fragestellung überprüft werden.

Im Verlauf der Kurve kam es mit der abklingenden Frühreaktion demnach zu einem Baselineshift im Befinden der Patienten. Folglich fiel auch der später folgende Anstieg der Allergiesymptome in der Spätphase im Vergleich zur Frühreaktion sehr viel geringer aus. Das Erlebnis der Frühreaktion hatte für das Befinden der Probanden eine Art eichende Funktion.

Um aber den Ausgangswert vor der Provokation nicht nur mit dem Maximalwert der Frühreaktion vergleichen zu können, sondern auch mit dem kleiner ausfallenden Maximum der Spätreaktion, müsste der Ausgangswert auf einen Wert kleiner oder zumindest gleich dem minimalsten Wert nach der Frühreaktion korrigiert werden.

Spätphase

Eine Spätphase war nur an 8 Symptomen ablesbar (Abb . 16).

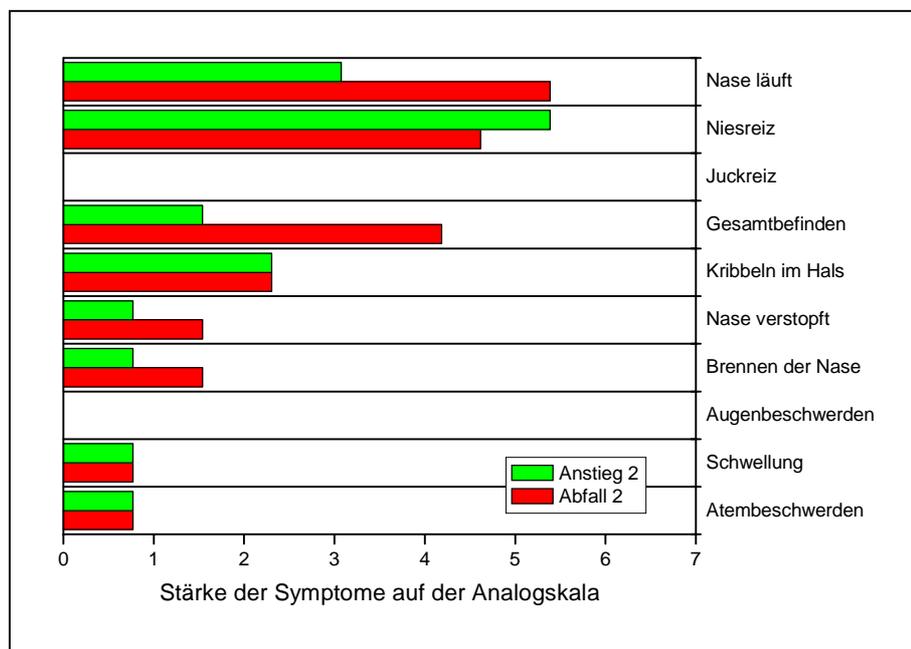


Abb. 16: Maximaler absoluter Anstieg der Spätphasensymptome im Vergleich (grün): vor allem Niesreiz, Naselau-
fen, Kribbeln im Hals und Gesamtbefinden eignen sich zur Beurteilung der Spätphase. Auch im An-
schluss an das Maximum der Spätphase tritt eine Besserung (Abfall 2, rot) der Symptome ein, die stär-
ker ausfällt, als der Anstieg. Das heißt auch nach der Spätphase ging es den Patienten subjektiv besser
als vorher.

Auch bei den Spätphasensymptomen gab es eine zeitliche Reihenfolge:

- a) nach 4-5 h stieg der Niesreiz wieder an und erreichte sein Maximum nach 6 h, um nach 7 h wieder abzuklingen,
- b) nach 5-6 h begann die Nase wieder stärker zu laufen, zu brennen und war auch wieder verstopfter, um nach 7 h wieder abzuklingen,
- c) nach 6-7 h setzten erneut das Kribbeln im Hals, die Atembeschwerden und das Gefühl einer Schwellung der Lippen oder im Mund ein.

Insgesamt lag das Maximum der Spätphasensymptome bei 6-7 h nach der Provokation. Die Spätphasensymptome fielen um den Faktor 10 niedriger aus als die Frühphasensymptome und zeigten auch in der Stärke ihrer Ausprägung andere Prioritäten (Abb. 16).

Das zuerst aufgetretene Spätphasensymptom Niesreiz war zugleich auch das stärkste, gefolgt von Naselaufen, Kribbeln im Hals und Gesamtbefinden. Mit Ausnahme des Niesreizes kam es nach der Spätphase zu einer Besserung (Abfall 2) der Symptome, die auch diesmal etwas stärker ausfiel als die vorhergehende Verschlechterung (Anstieg 2).

Korrelationen

Das ausgeprägteste Symptom der Frühphase war das Naselaufen und das ausgeprägteste Symptom der Spätphase der Niesreiz. Beide Symptome korrelierten in der Frühphase bei ihrem Maximalwert nach 10 min signifikant, vor allem aber in der Spätphase nach 6 h hoch signifikant (P-Werte siehe Tabelle 1).

Das Gesamtbefinden korrelierte im gesamten Verlauf am besten mit dem Symptom der verstopften Nase. Zu Korrelationen mit den Rhinometrie-Ergebnissen siehe Tabelle 2 (Seite 41) und zu Korrelationen mit ECP siehe Tabelle 5 (Seite 45).

	Zeit	0'	10'	20'	30'	45'	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
Gesamt-befinden - Niesreiz	P-Wert n=13		,015				,029		,000	,048	,001	,027	,021	,001
Gesamt-befinden – Nase läuft	P-Wert n=13		,029			,036			,002	,022	,005	,001	,001	,001
Gesamt-befinden – Nase verstopft	P-Wert n=13			,028	,027	,004	,000	,001	,000	,000	,000	,000	,000	,014
Niesreiz – Nase läuft	P-Wert n=13	,000	,037			,028	,019	,012	,007	,002	,001	,000	,000	,000
Niesreiz – Nase verstopft	P-Wert n=13	,019							,000		,001	,022	,009	,014
Nase läuft–Nase verstopft	P-Wert n=13	,026							,006	,048	,013	,001	,001	,001

Tab. 1: Bivariate Korrelationen nach Spearman der Symptome untereinander.

3.1.2 Rhinometrie

Zur Gewinnung objektiver Parameter aus den Änderungen im Kurvenverlauf der akustischen Rhinometrie wurden zunächst die Mittelwerte der Volumenwerte A und B, sowie der minimale Querschnitt im Bereich des unteren Muschelkopfes (Flächenwert D) und der Nasenklappe (Flächenwert C) für die ganze Nase berechnet (Abb. 9, 17a und b). Wegen des am Limen nasi fehlenden Schwellgewebes, zeigte sich hier für den Flächenwert C nach geringer initialer Abnahme von etwa 10 % und Anstieg auf Normalwerte nach 30 min im weiteren Verlauf ein nahezu konstanter Wert über den gesamten Messzeitraum. Der minimale Querschnitt des unteren Muschelkopfes D änderte sich dagegen deutlich und verhielt sich in seinem Verlauf annähernd gleich dem Verlauf der Volumina A und B. Dies war nicht weiter erstaunlich, da alle drei Werte Flächen- und Volumenänderungen im Bereich der an der Obstruktion am meisten beteiligten unteren Muschel wiedergeben. Bei allen drei Werten kam es innerhalb von 30 min auf eine maximale Abnahme auf 50-55 % des Ausgangswertes.

Nach 2 h normalisierten sich die Querschnittsfläche und Volumina auf Werte nahe den Ausgangswerten (85-90 %), um dann langsam wieder abzusinken, diesmal jedoch diskreter auf 70-75 % nach 4-6 h.

Da die Provokation auf beiden Seiten erfolgte, erschien es sinnvoll, nicht nur die Volumen- und Flächenänderungen der ganzen Nase, sondern auch die der beiden Seiten differenziert zu betrachten. Aufgrund des annähernd identischen Verlaufs der Kurven für Volumina A und B und für die Fläche D (siehe oben), wurde im Folgenden nur der Verlauf des Volumens A über der unteren Muschel beschrieben.

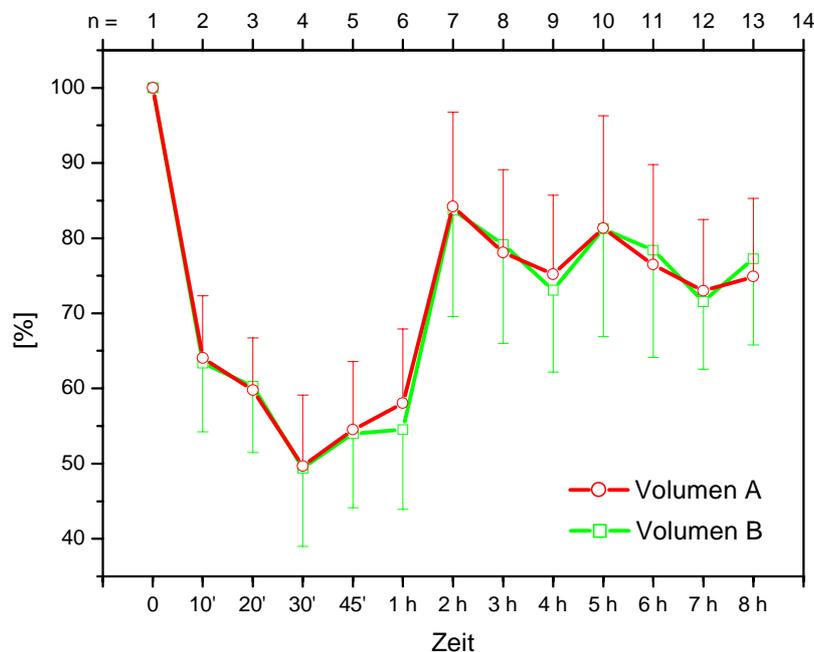


Abb. 17a: Dargestellt ist die prozentuale Änderung der Volumenwerte über der unteren Muschel (A) und über dem Muschelkopf (B) innerhalb des Beobachtungszeitraums bezogen auf den Ausgangswert.

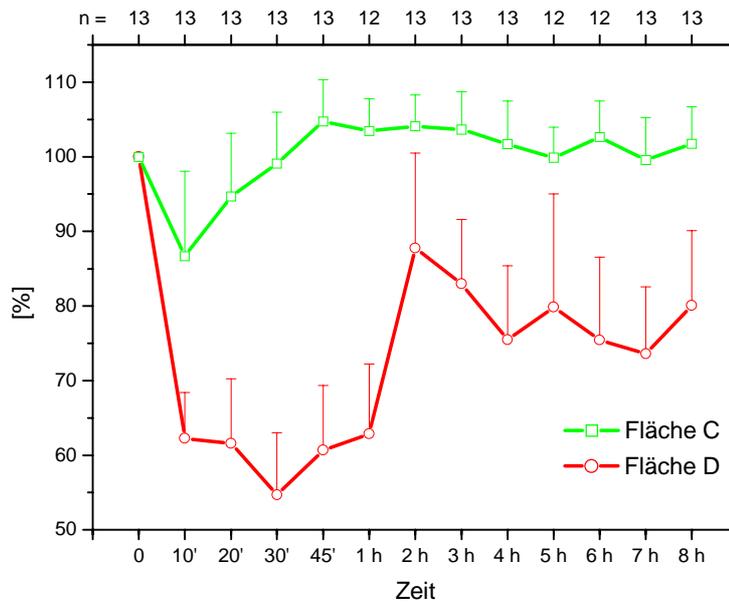


Abb. 17b: Dargestellt ist die prozentuale Änderung der minimalen Querschnitte im Bereich der Nasenklappe (Flächenwert C) und des unteren Muschelkopfes (Flächenwert D) über den Beobachtungszeitraum bezogen auf den Ausgangswert.

Bei der seitengetrenten Betrachtung wurden Mittelwerte für das Volumen A jeweils für die stärker reagierende Seite und für die schwächer reagierende Seite gebildet (Abb. 18).

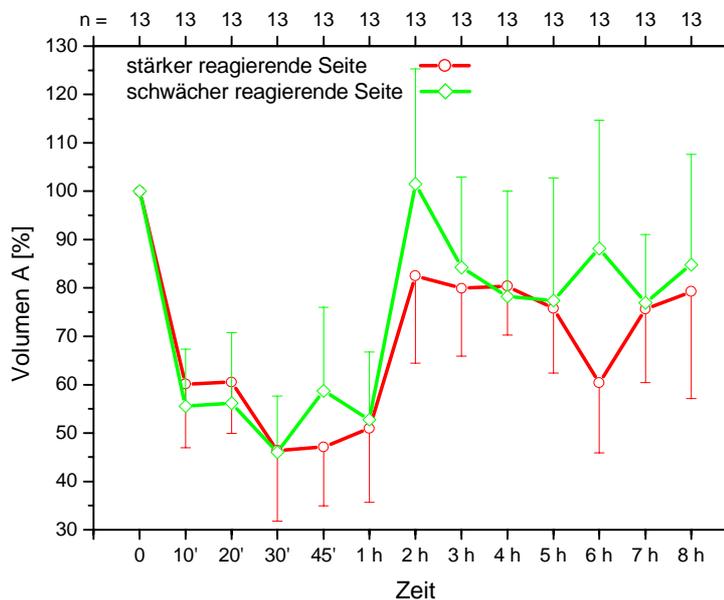


Abb. 18: Aufteilung der über der unteren Muschel gemessenen Volumenwerte A in die jeweils stärker und schwächer reagierende Seite. Auffällig war nach einer annähernd identischen deutlichen Frühphase der Anstieg der schwächer reagierenden Seite auf Werte über 100 %, ihr rascher erneuter Abfall mit einem Angleichen an die stärker reagierende Seite nach 2-3 h und ihr erneuter Anstieg in der Spätphase nach 5-6 h, als gleichzeitig die stärker reagierende Seite nochmals deutlich abfiel.

Dabei zeigte sich ein annähernd identischer Verlauf der beiden Seiten in der Frühphase mit einem maximalen Abfall nach 30 min auf 45 % des Ausgangsvolumens. Erst nach 1-2 h stieg die stärker reagierende Seite wieder auf 80 % des Ausgangswertes. Die schwächere Seite lag nach 45 min bereits knapp unter 60 % und erreicht nach 1-2 h Maximalwerte knapp über 100 %, also Werte um 20 % höher als die stärker reagierende Seite. Im weiteren Verlauf blieb die stärkere Seite zunächst konstant, um nach 5-6 h nochmals deutlich auf 60 % des Ausgangsvolumens abzufallen. Bei der schwächer reagierende Seite fiel ein rascher Abfall nach 2-3 h auf Werte gleich denen der stärker reagierenden Seite (80 %) auf. Nach 5-6 h kam es hier allerdings, statt eines Abfalls wie auf der Gegenseite, wieder zu einer Zunahme der Volumenwerte auf 85 %. Also auch hier 25 % höher als die stärker reagierende Gegenseite.

Zum Nachweis, ob bei jedem Patienten eine Reaktion auf die Allergenprovokation stattgefunden hatte, war es notwendig, den Verlauf beider Nasenseiten bei jedem Patienten auch individuell zu beurteilen (Verläufe der Einzelwerte siehe 7.). Alle 13 Patienten (100 %) zeigten eine Frühphase und 12 Patienten (92 %) zeigten eine Spätphase der allergischen Reaktion.

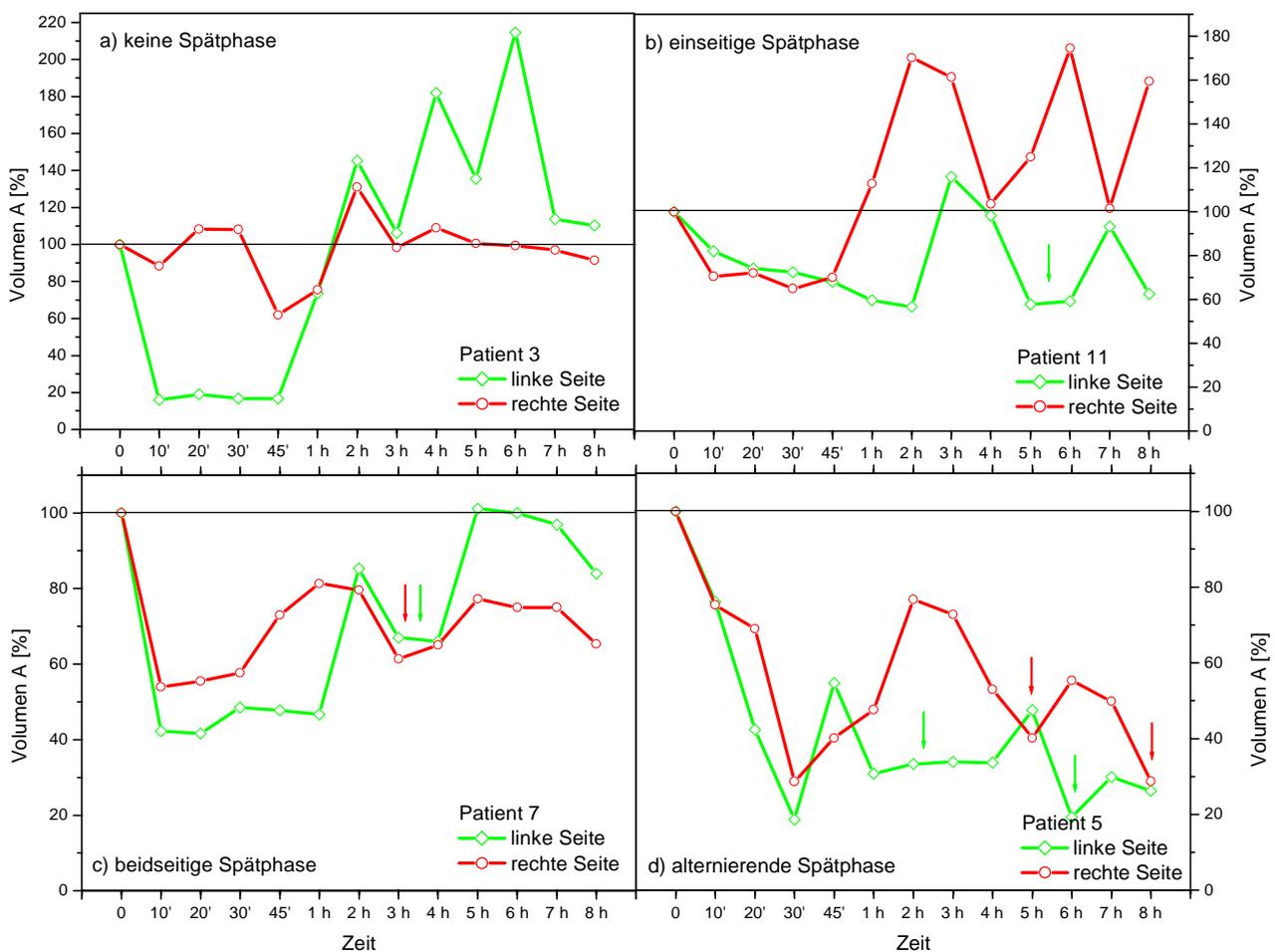


Abb. 19: Vier Typen der Spätphasenreaktion²⁰⁹ anhand von Beispielen aus dem Patientenkollektiv. Grüne Pfeile markieren die Spätphase der linken Seite, rote Pfeile die Spätphase der rechten Seite.

Es wurde deutlich, dass bei jedem Patienten sowohl die Dauer und Intensität der Frühphase unterschiedlich ausfiel, aber vor allem auch der Zeitpunkt und die Ausprägung der Spätphase individuell unterschiedlich verlief. Bei genauerer Betrachtung konnten vier Reaktionstypen²⁰⁹ der Spätphase unterschieden werden: keine Spätphase (8 %), eine einseitige Spätphase (8 %), eine zweiseitige Spätphase (15 %), und eine alternierende Spätphase (69 %). Wobei der alternierende Reaktionstyp den häufigsten Typ darstellte (Abb. 19).

Korrelationen

Sowohl in der Frühphase wie auch in der Spätphase korrelierten die Volumenwerte A für beide Nasenseiten signifikant bis hochsignifikant mit dem QoL-Symptom Obstruktion (Tab. 2).

Volumen A beider Nasen- seiten mit	Zeit	0'	10'	20'	30'	45'	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
Gesamtbefinden	P-Wert n		,007 12						,042 13					
Obstruktion	P-Wert n		,040 12	,010 13						,042 13		,015 12	,007 13	,021 12
Rhinorrhoe	P-Wert n								,011 13					,005 12
Niesreiz	P-Wert n		,035 12						,020 13					

Tab. 2: Bivariate Korrelationen nach Spearman der QoL-Symptome Gesamtbefinden, Obstruktion, Rhinorrhoe und Niesreiz mit dem Volumenwert A für beide Nasenseiten.

3.2 Auswertung des experimentellen Teils

3.2.1 Sekretvolumenfluss

Die Kurven von Sekretvolumen und Sekretgewicht (zu Bestimmung von Volumen und Gewicht siehe 2.3.1) zeigten einen annähernd identischen Verlauf (Abb. 20). Darum wurde im Folgenden exemplarisch nur das Sekretvolumen beschrieben.

In der Frühphase nach Allergenprovokation zeigte sich ein mittlerer Anstieg des Sekretvolumens um 100 % mit einem Maximalwert nach 10 min ($P=0,005$). Bis zum Erreichen des Ausgangswerts nach etwa 1-2 h blieb das Sekretvolumen noch um etwa 30 % erhöht.

Ähnlich wie bei den QoL-Kurven fiel auch hier ein Abfall unter die Ausgangswerte auf: nach 5 h, also noch vor der Spätphase, wurden Minimalwerte etwa 30 % unterhalb des Ausgangswertes erreicht.

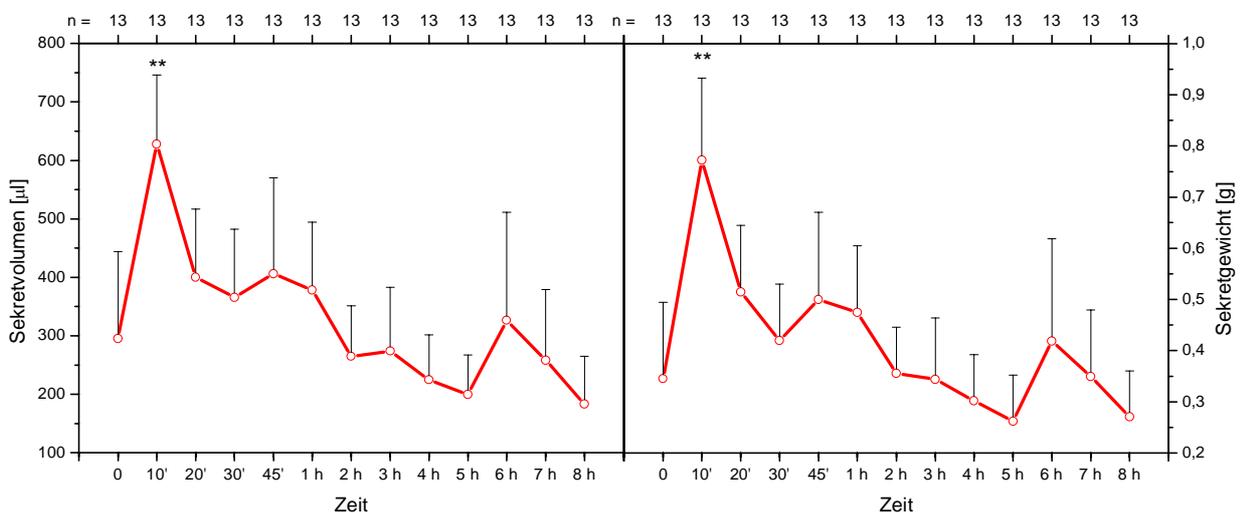


Abb. 20: Dargestellt ist der Verlauf von Mittelwerten und Standardabweichungen von Sekretvolumen und Sekretgewicht über den Messzeitraum. Die beiden Kurven verliefen annähernd identisch. Auffällig war in der Früh- und Spätphase eine Ähnlichkeit mit dem Verlauf der QoL-Kurven.

Im Verlauf fiel deutlich eine erneute Sekretionszunahme nach 5-6 h auf. Allerdings erreichte dieser Spätphasenanstieg in seiner Maximalausprägung gerade einmal Werte geringfügig über dem Niveau der Ausgangswerte, um nach 7-8 h auf die niedrigsten gemessenen Werte abzufallen.

Verglichen mit dem Frühphasenanstieg fiel der Spätphasenanstieg etwa im Verhältnis 3:1 aus.

Zusammenfassend zeigte die Kurve eine ähnliche Kinetik wie die der QoL-Fragen (Abb. 14a und b).

Korrelationen

Nach 7 h korrelierte das Sekretvolumen hoch signifikant ($P=0,003$) mit dem Volumenwert A über der unteren Muschel der besser reagierenden Seite.

Im Vergleich des Verlaufs von Volumenfluss mit der QoL-Frage „Nase läuft“, fiel auf, dass beide Kurven nach 2 h Werte unter dem Ausgangswert erreichten. Beide Kurven zeigten einen geringen Anstieg nach

6-7 h und daraufhin einen erneuten Abfall. Trotz ähnlichem Verlauf waren allerdings keine Korrelationen nachweisbar. Das Sekretvolumen korrelierte nach 5 h ($P=0,037$) mit LTC_4 .

3.2.2 Gesamtprotein

Nach Berechnung der Absolutwerte (siehe 2.3.1) zeigte sich in der Frühphase ein signifikanter Anstieg ($P=0,013$) des Proteingehalts mit Maximalwerten nach 10 min (Abb. 21). Allerdings fiel das Gesamtprotein bereits nach 45 min wieder in den Bereich der Ausgangswerte und blieb dort relativ konstant bis 5 h nach der Provokation.

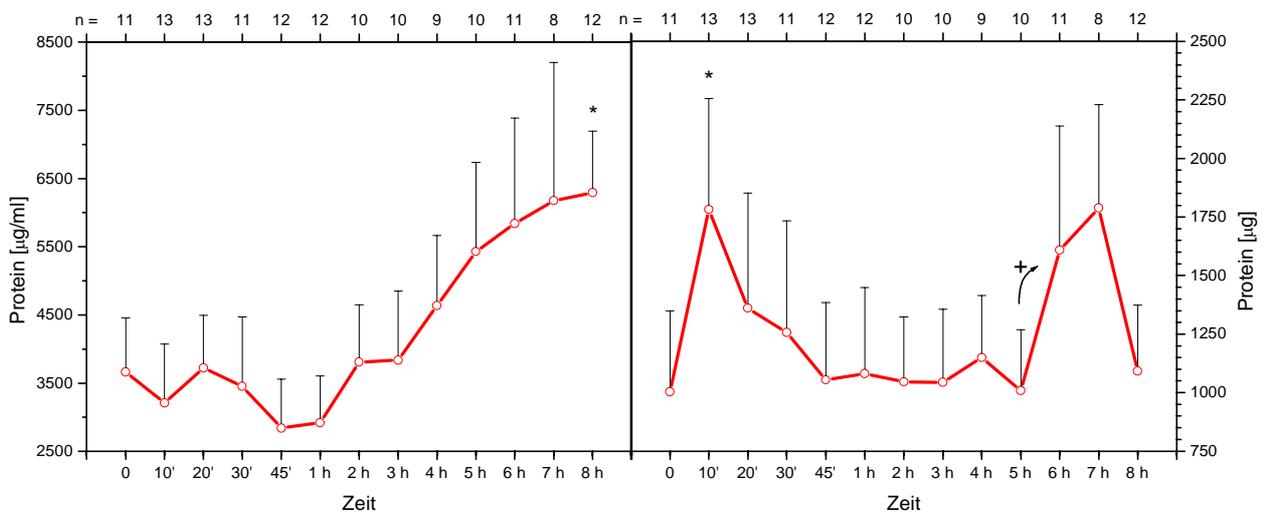


Abb. 21: Dargestellt ist der Verlauf von Mittelwerten und Standardabweichungen der Konzentrationen (links) und der Absolutwerte (rechts) des Gesamtproteins über den Messzeitraum. Auffällig wurde nach Berechnung der Absolutwerte der deutliche biphasische Verlauf mit etwa gleich stark ausgeprägten Früh- und Spätphasenanstiegen.

Protein mit	Zeit	0'	10'	20'	30'	45'	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
IL-8 Konzentration	P-Wert	,039				,033			,036		,025			
	n	11				12			9		9			
IL-8 Absolutwerte	P-Wert		,046			,036	,024		,042		,016	,011		
	n		13			12	12		9		9	11		
Eotaxin Konzentration	P-Wert							,027	,025	,013	,019			
	n							11	9	9	8			
Eotaxin Absolutwerte	P-Wert													
	n													
LTC_4 Konzentration	P-Wert	,037				,023				,000		,000		
	n	5				7				4		4		
LTC_4 Absolutwerte	P-Wert	,037				,000								
	n	5				7								
ECP Konzentration	P-Wert	,014						,029			,013	,038	,024	,000
	n	7						10			9	10	8	11
ECP Absolutwerte	P-Wert					,000	,016							
	n					4	10							

Tab. 3: Bivariate Korrelationen nach Spearman (2-seitig) der Absolutwerte und Konzentrationen des Gesamtproteins mit denen von IL-8, Eotaxin, LTC_4 und ECP. Von allen untersuchten Transmittoren korrelierte IL-8 am besten mit dem Gesamtprotein.

Nach 5-6 h kam es erneut zu einem ähnlich ausgeprägten signifikanten Anstieg ($P=0,021$) wie in der Frühphase. Nach 7-8 h fiel das Gesamtprotein zurück in den Bereich der Ausgangswerte.

Ein deutlicher Unterschied zwischen Früh- und Spätphasenanstieg war die Dauer ihrer Ausprägung; während der initiale Anstieg nach 45 min wieder auf Ausgangswerte zurückgegangen war, blieb der Spätphasenanstieg dagegen für 2-3 h erhalten.

Korrelationen

In der Spätphase korrelierte nach 7 h das Gesamtprotein mit dem Volumen A über der unteren Muschel ($P=0,014$). Auch hier waren keine Korrelationen mit den QoL-Ergebnissen festzustellen.

Nach 4 h ($P=0,031$) und nach 6 h ($P=0,050$) korrelierten die Konzentrationen für LTC_4 und Gesamtprotein hoch signifikant miteinander (Tab. 3). Das Gesamtprotein zeigte nach 4 h, ähnlich dem LTC_4 , einen kleinen Gipfel, bevor es zum endgültigen Spätphasenanstieg nach 5-6 h kam.

3.2.3 ECP

Abgesehen von einem geringen Anstieg der absoluten ECP-Werte nach 10 min, blieben bis 2 h nach Allergenprovokation die Werte im Ausgangsbereich (Abb. 22). Nach 2-3 h kam es erstmals zu einem signifikanten Anstieg ($P=0,012$ gegen den vorhergehenden Messwert), der in der Spätphase kontinuierlich zunahm und nach 7-8 h Maximalwerte erreichte ($P=0,043$ gegen den Ausgangswert).

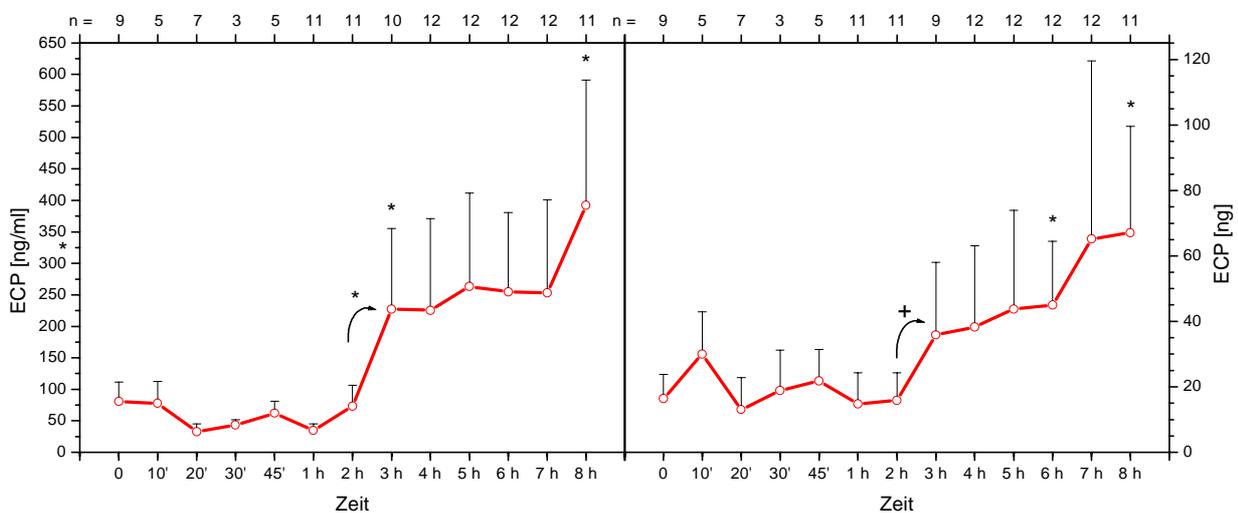


Abb. 22: Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Konzentrationen (links) und Absolutwerte (rechts) von ECP im Verlauf über den Messzeitraum. Die ECP-Werte stiegen erst in der Spätphase kontinuierlich an.

Korrelationen

ECP korrelierte in der Spätphase nach 2-3 h mit Eotaxin und nach 5-8 h zusätzlich mit IL-8 (Tab. 4). Nach 7 h korrelierte ECP mit IL-5 und nach 3 h und 8 h mit MCP-1. Für Korrelationen mit den QoL-Symptomen siehe Tabelle 5.

ECP mit	Zeit	0	10'	20'	30'	45'	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
IL-8 Konzentration	P-Wert n										,026 11	,001 10	,029 10	,001 11
IL-8 Absolutwerte	P-Wert n										,035 11	,048 10	,004 10	,032 11
Eotaxin Konzentration	P-Wert n								,021 6		,016 9		,001 8	,000 10
Eotaxin Absolutwerte	P-Wert n							,048 11	,005 6				,011 8	,004 10
IL-5 Konzentration	P-Wert n									,030 12			,033 11	
IL-5 Absolutwerte	P-Wert n												,007 11	
MCP-1 Konzentration	P-Wert n								,037 5					,005 6
MCP-1 Absolutwerte	P-Wert n				,000 3				,037 5					

Tab. 4: Bivariate Korrelationen nach Spearman der Konzentrationen und Absolutwerte von ECP mit IL-8, Eotaxin, IL-5 und MCP-1.

ECP mit	Zeit	0'	10'	20'	30'	45'	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
Gesamtbefinden Absolutwerte	P-Wert n				,000 3				,003 9	,050 12				,023 11
Nase verstopft Absolutwerte	P-Wert n		,005 5						,004 9	,017 12				
Kribbeln im Hals Absolutwerte	P-Wert n				,000 3								,020 12	

Tab. 5: Bivariate Korrelationen nach Spearman der Absolutwerte von ECP mit den Symptomen Gesamtbefinden, Nase verstopft und Kribbeln im Hals. Die ECP-Absolutwerte korrelierten vor allem nach 3-4 h signifikant bis hoch signifikant mit der verstopften Nase und dem Gesamtbefinden.

3.2.4 IL-5

Abbildung 23 (Seite 46) verdeutlicht, dass in der ersten Stunde nach Allergenprovokation kein IL-5 in den Sekretproben nachweisbar war. In den folgenden Stunden stieg IL-5 allerdings kontinuierlich an, um nach 6-7 h Maximalwerte um 100 pg zu erreichen. Nach 7-8 h kam es wieder zu einem deutlichen Abfall der IL-5 Werte in Richtung Nachweisgrenze.

Korrelationen

In Tabelle 6 (Seite 46) sind die Korrelation von IL-5 mit ECP nach 4 h und 7 h, und mit Eotaxin zwischen der 2-7 h aufgeführt.

Außerdem korrelierte IL-5 nach 7 h signifikant ($P=0,018$) mit dem Volumen A über der unteren Muschel der besser reagierenden Nasenseite.

IL-5 korrelierte in der Spätphase mit den in Tabelle 7 (Seite 46) aufgeführten QoL-Fragen.

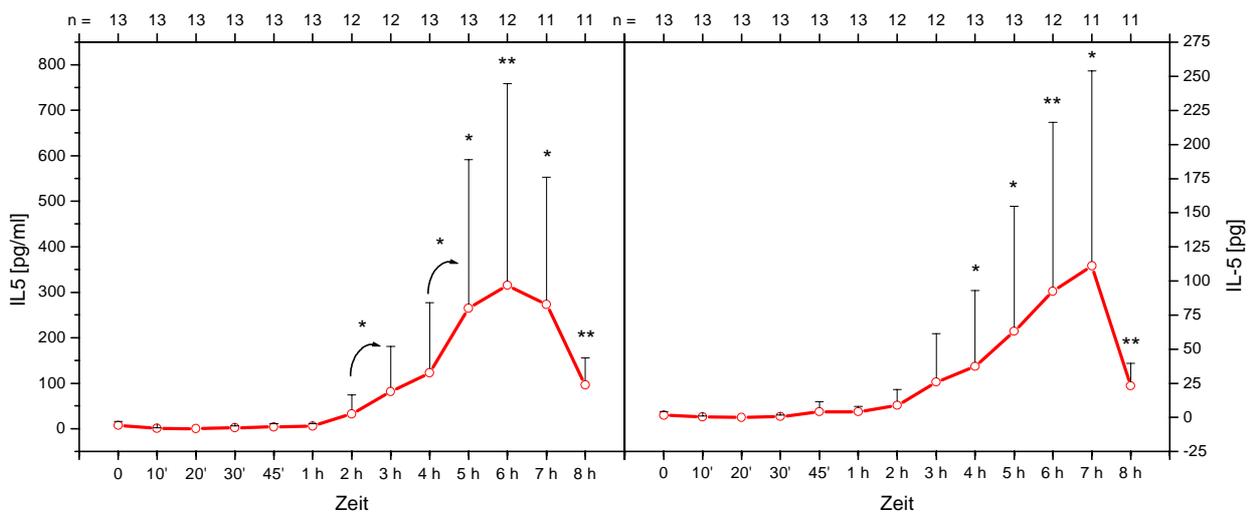


Abb. 23: Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Konzentrationen (links) und Absolutwerte (rechts) von IL-5 im Verlauf über den Messzeitraum. IL-5 stieg in der Spätphase deutlich an.

IL-5 mit	Zeit	0'	10'	20'	30'	45'	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
ECP	P-Wert									,030			,033	
Konzentration	n									12			11	
ECP	P-Wert												,007	
Absolutwerte	n												11	
Eotaxin	P-Wert							,041		,009			,037	
Konzentration	n							12		11			8	
Eotaxin	P-Wert							,027		,021			,000	
Absolutwerte	n							12		11			8	
MCP-1	P-Wert							,023		,015				
Konzentration	n							10		7				
MCP-1	P-Wert											,019		
Absolutwerte	n											9		

Tab.6: Bivariate Korrelationen nach Spearman von IL-5 mit ECP, Eotaxin und MCP-1 (die Korrelationen mit ECP werden zur besseren Übersichtlichkeit nochmals dargestellt).

IL-5 mit	Zeit	0'	10'	20'	30'	45'	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h
Gesamtbefinden	P-Wert								,050	,039		,014	,000
	n								12	13		12	11
Nase verstopft	P-Wert											,005	,000
	n											12	11
Nase läuft	P-Wert					,008			,002	,002	,005	,002	,000
	n					13			12	13	13	12	11
Nase brennt	P-Wert				,010				,003	,000	,001	,000	,000
	n				13				13	13	12	11	11
Juckreiz	P-Wert				,030				,007	,009	,000	,000	,000
	n				13				13	13	12	11	11
Niesreiz	P-Wert				,036				,000		,003	,000	,000
	n				13				13		12	11	11

Tab. 7: Bivariate Korrelationen nach Spearman von IL-5 mit den QoL-Fragen.

3.2.5 Chemokine

IL-8

Die Absolutwerte von IL-8 zeigten in der Frühphase nach 10 min einen Maximalwert (Abb. 24), um gleich darauf nach 20-30 min auf Werte weit unter dem Ausgangsniveau abzusinken ($P < 0,001$). Erst nach 4-6 h kam es zu einem langsamen, aber kontinuierlichen Anstieg. Es wurde auch nach 8 h nicht wieder das Ausgangsniveau der IL-8 Werte erreicht.

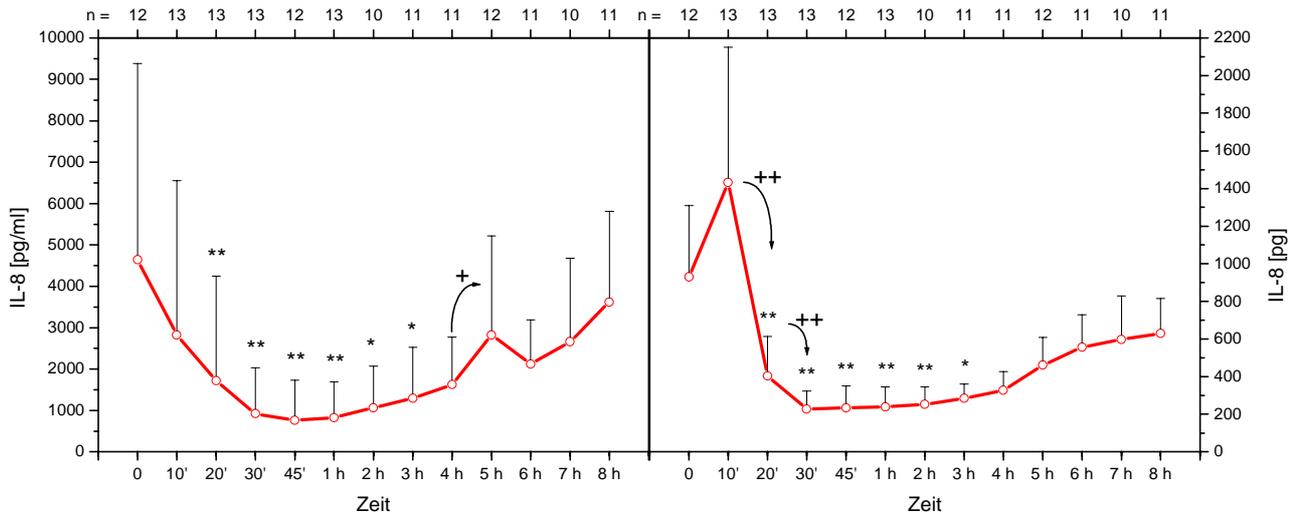


Abb. 24: Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Konzentrationen (links) und Absolutwerte (rechts) von IL-8 im Verlauf über den Messzeitraum.

IL-8 mit	Zeit	0'	10'	20'	30'	45'	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
Protein Konzentration	P-Wert n	,039 11				,033 12			,036 9		,025 9			
Protein Absolutwerte	P-Wert n		,046 13			,036 12	,024 12		,042 9		,016 9	,011 11		
MCP-1 Konzentration	P-Wert n				,023 10				,000 9					,042 6
MCP-1 Absolutwerte	P-Wert n								,017 9					,042 6
ECP Konzentration	P-Wert n										,026 11	,001 10	,029 10	,001 11
ECP Absolutwerte	P-Wert n										,035 11	,048 10	,004 10	,032 11
Eotaxin Konzentration	P-Wert n								,033 9	,008 11	,031 10		,049 7	,000 10
Eotaxin Absolutwerte	P-Wert n									,002 11	,036 10		,012 7	,001 10

Tab. 8: Bivariate Korrelationen nach Spearman von IL-8 mit dem Gesamtprotein, MCP-1, ECP, und Eotaxin (Korrelationen mit ECP, Protein und Eotaxin werden zur besseren Übersichtlichkeit nochmals dargestellt).

Korrelationen

Von allen untersuchten Transmittern korrelierte IL-8, im gesamten Verlauf gesehen, am besten mit dem Gesamtprotein (Tab. 8). Zu den Zeitpunkten der relativ höchsten MCP-1-Werte nach 3 h, beziehungsweise nach 8 h, korrelierte IL-8 auch mit MCP-1.

In der Spätphase stachen besonders die Korrelationen mit Eotaxin (nach 3-8 h) und ECP (nach 5-8 h) ins Auge.

MCP-1/CCL2

Nach 20 min kam es zu einem signifikanten Abfall der MCP-1-Werte ($P=0,043$) unter die Ausgangswerte (Abb. 25).

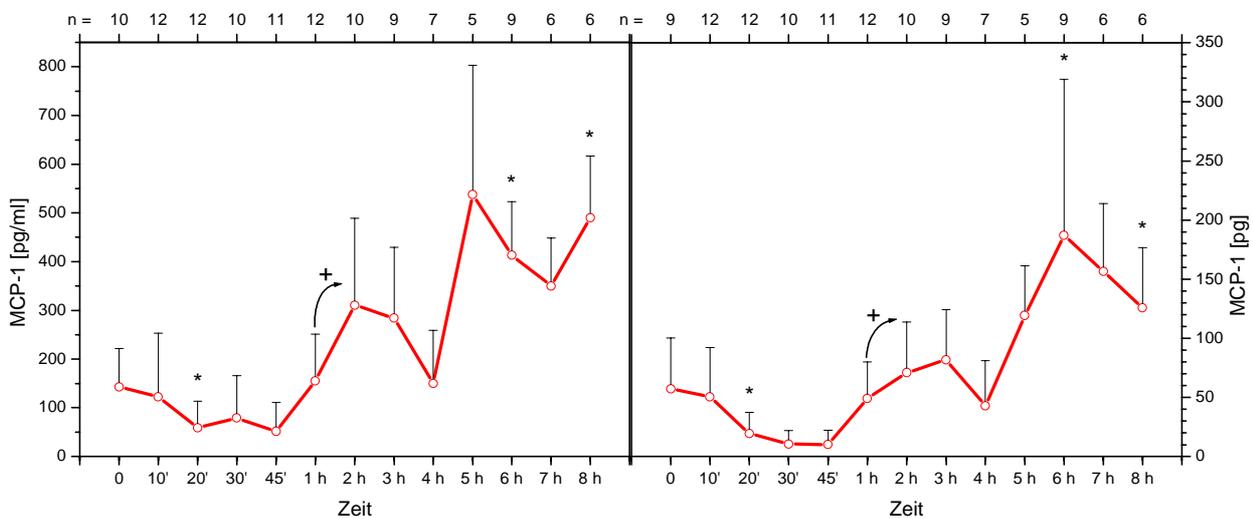


Abb. 25: Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Konzentrationen (links) und Absolutwerte (rechts) von MCP-1 im Verlauf über den Messzeitraum. Besonders auffällig war hier der biphasische Anstieg in der Spätphase.

Im weiteren Verlauf kam es zu einem biphasischen Anstieg der MCP-1-Werte. Nach einem signifikanten Anstieg nach 1 h ($P=0,046$) wurde nach 2 h ein erster Gipfel oberhalb der Ausgangswerte erreicht (nicht signifikant im Vergleich mit den Ausgangswerten). Nach 4-6 h kam es zu einem weiteren Anstieg. Maximalwerte wurden nach 6-8 h erreicht ($P<0,028$).

Korrelationen

MCP-1 korrelierte nach 3 h und 8 h mit ECP und IL-8 (Tabellen 4 und 8) und mit IL-5 (Tab. 6) und Eotaxin (Tab. 9) nach 6 h.

MCP-3/CCL7

Es wurde kein MCP-3 oberhalb der Nachweisgrenze des verwendeten ELISA nachgewiesen.

RANTES/CCL5

Es wurde kein RANTES oberhalb der Nachweisgrenze des verwendeten ELISA nachgewiesen.

Eotaxin/CCL11

Das CC-Chemokin Eotaxin zeigte nach 1-2 h erste Werte oberhalb der Nachweisgrenze (Abb. 26). Mit fortschreitender Zeit stieg es kontinuierlich an, um nach 4-5 h einen Plateauwert zu erreichen. Nach 6-8 h kam es zu einem weiteren, diesmal ausgeprägteren Anstieg. Signifikante Höchstwerte wurden nach 8 h erreicht ($P=0,018$).

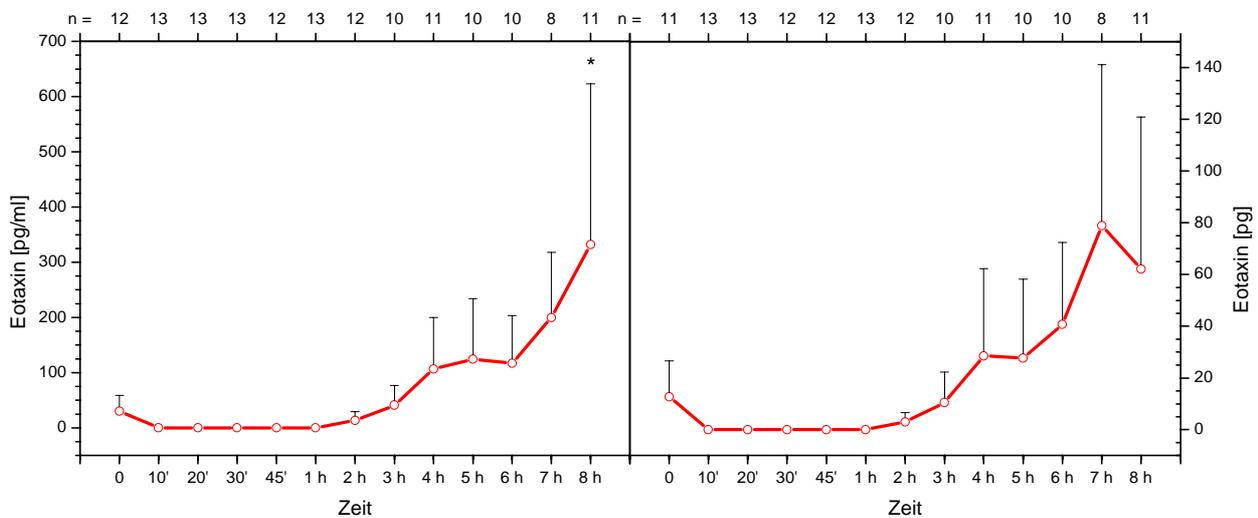


Abb. 26: Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Konzentrationen (links) und Absolutwerte (rechts) von Eotaxin im Verlauf über den Messzeitraum. Die Konzentration von Eotaxin stieg in der Spätphase signifikant an.

Eotaxin mit	Zeit	0'	10'	20'	30'	45'	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
ECP	P-Wert													
Konzentration	n								,021		,016		,001	,000
									6		9		8	10
ECP	P-Wert							,048	,005				,011	,004
Absolutwerte	n							11	6				8	10
MCP-1	P-Wert								,029			,031		,008
Konzentration	n								9			9		6
MCP-1	P-Wert													,008
Absolutwerte	n													6
IL-5	P-Wert							,041		,009			,037	
Konzentration	n							12		11			8	
IL-5	P-Wert							,027		,021			,000	
Absolutwerte	n							12		11			8	
IL-8	P-Wert								,033	,008	,031		,049	,000
Konzentration	n								9	11	10		7	10
IL-8	P-Wert									,002	,036		,012	,001
Absolutwerte	n									11	10		7	10
sVCAM-1	P-Wert							,000	,000	,000	,000		,000	
Konzentration	n							5	5	4	3		2	
sVCAM-1	P-Wert							,000	,000	,000	,000			
Absolutwerte	n							5	5	4	3			

Tab. 9: Bivariate Korrelationen nach Spearman von Eotaxin mit ECP, IL-5, IL-8, MCP-1 und sVCAM-1 (die Korrelationen mit ECP und IL-5 wurden zur besseren Übersichtlichkeit nochmals dargestellt).

Korrelationen

In der Spätphase korrelierte Eotaxin mit dem auf die Differenzierung und Proliferation eosinophiler Granulozyten wirkenden IL-5, dem Protein ECP aus eosinophilen Granula und dem Adhäsionsmolekül sVCAM-1. Ferner korrelierte Eotaxin aber auch mit den eher auf andere Leukozytensubpopulationen wie Neutrophile und Basophile wirkenden Chemokinen IL-8 und MCP-1 (Tab. 9).

3.2.6 sVCAM-1

Der Verlauf der sVCAM-1-Werte zeigte initial (nach 10 min, nicht signifikant) einen Anstieg, der nach etwa 30 min wieder unter die Nachweisgrenze gefallen war (Abb. 27).

Nach 1-2 h lagen die Werte erneut über der Nachweisgrenze und stiegen im weiteren Verlauf der Spätphase deutlich stärker an als in der Frühphase (nicht signifikant). Maximalwerte wurden nach 8 h erreicht.

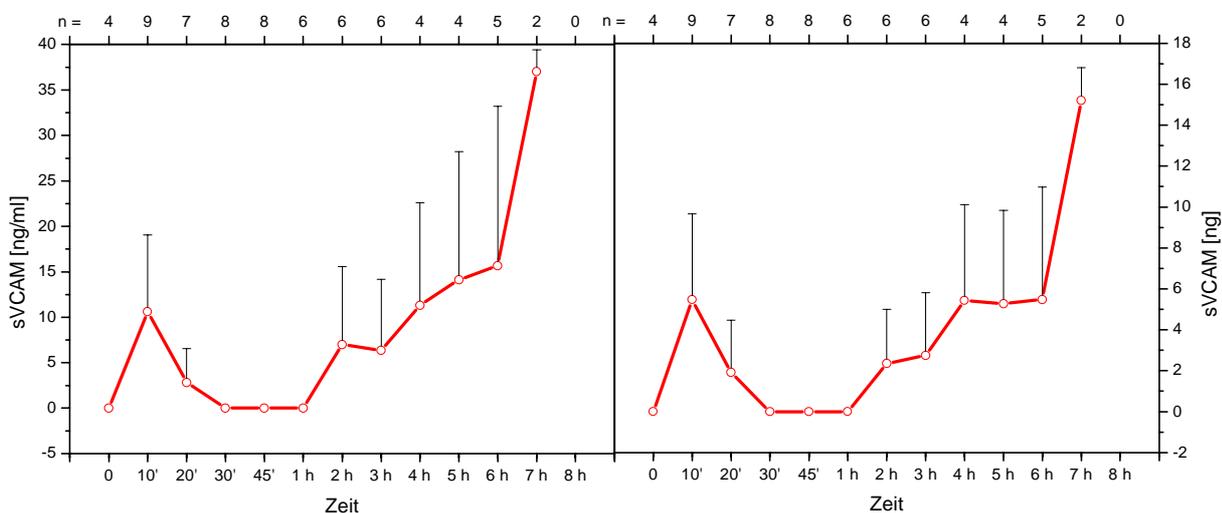


Abb. 27: Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Konzentrationen (links) und Absolutwerte (rechts) von sVCAM-1 in den untersuchten Nasensekretproben. Es zeigte sich ein deutlich ausgeprägter Spätphasenanstieg als Frühphasenanstieg.

Korrelationen

Hoch signifikante Korrelationen lagen nach 2-7 h mit Eotaxin vor (Tab.9).

3.2.7 Leukotrien C₄

Der Verlauf der LTC₄-Werte in den Sekretproben zeigte initial (nach 10 min) einen Anstieg um 100 % (nicht signifikant), um nach 20 min bereits wieder auf Werte um etwa 30 % über den Ausgangswerten abzufallen (Abb. 28). Erst nach 2 h wurden wieder die Ausgangswerte erreicht, um aber gleich wieder um 30 % anzusteigen. Nach 3-4 h zeichnete sich deutlich ein kleiner zweiter Gipfel ab.

Nach 5-6 h kam es zu einem sehr deutlich ausgeprägten Spätphasenanstieg (nicht signifikant). Dabei wurden 2,5-fach höhere Werte als in der Frühphase erreicht. Nach 6-8 h fielen die Werte zwar wieder um die Hälfte, waren aber auch nach 8 h noch deutlich höher als in der Frühphase.

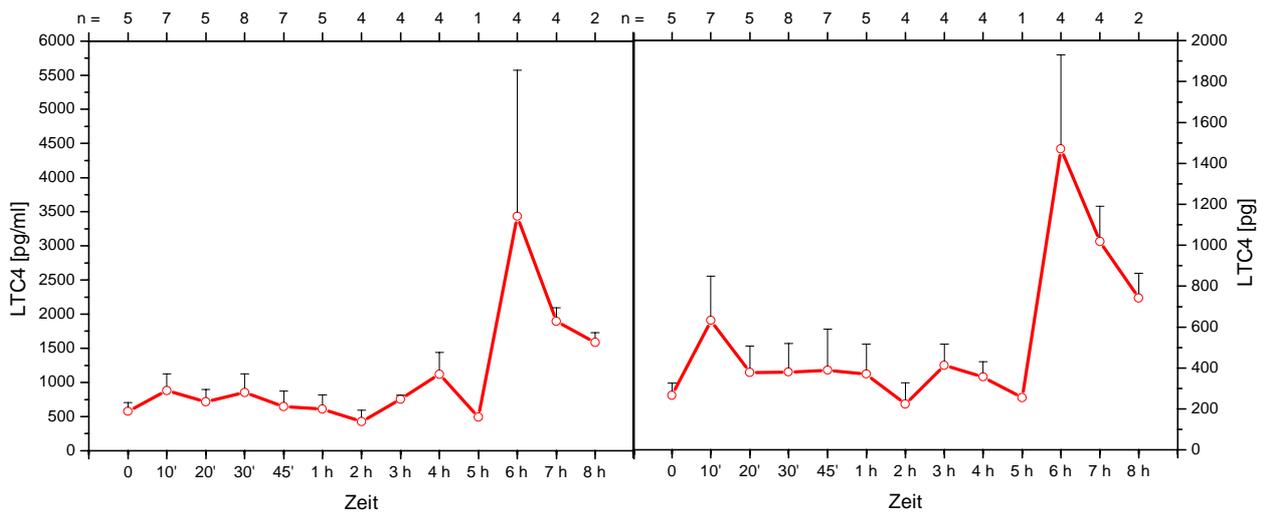


Abb. 28: Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Konzentrationen (links) und Absolutwerte (rechts) von LTC₄ in den untersuchten Nasensekretproben. Hier fiel der Spätphasenanstieg deutlich ausgeprägter als der Frühphasenanstieg aus. Ferner zeichnete sich ein zusätzlicher Gipfel zwischen der 3-4 h ab.

Korrelationen

Nach 20 min korrelierte LTC₄ mit dem QoL-Symptom „Nase verstopft“ ($P < 0,01$) und nach 1 h ($P < 0,01$) und 3 h ($P < 0,01$) mit dem Volumenwert A der ganzen Nase. In der Spätphase waren weder Korrelation mit dem QoL-Symptom „Nase verstopft“, noch mit den Volumenwerten A über der unteren Nasenmuschel nachweisbar.

Nach 1 h korrelierte LTC₄ sowohl mit dem Sekretvolumen ($P = 0,037$) als auch mit dem QoL-Symptom „Nase laufen“ ($P = 0,041$). Alle drei Kurven erreichten nach etwa 1 h wieder ihren Ausgangswert.

Nach 4 h ($P < 0,01$) und nach 6 h ($P < 0,01$) korrelierten die Konzentrationen für LTC₄ und Gesamtprotein hoch signifikant miteinander (Tab. 3). Nach 4 h und 6 h erreichte die LTC₄ Konzentration die zwei oben beschriebenen Gipfel der Spätphase. Ebenso verhielt es sich beim Gesamtprotein. Außerdem korrelierte LTC₄ nach 6-7 h hoch signifikant mit IL-8 ($P < 0,01$).

4. Diskussion

4.1 Klinischer Teil

4.1.1 Fragebogen

Frühphase

Nach Allergenprovokation zeigten die Patienten in der Frühphase charakteristische Symptome, die sich nach dem Zeitpunkt ihres Auftretens und ihrer Maximalausprägung untereinander in Beziehung setzen ließen. So bestätigte die Auswertung der Fragebögen frühere Beobachtungen von Iliopoulos et al.⁸⁷, dass Rhinorrhoe und Niesreiz als stärkste Symptome der Frühphase bewertet wurden; eng gefolgt von Juckreiz und Gesamtbefinden. Das in anderen Untersuchungen¹¹¹ hervorgehobene Symptom der verstopften Nase (Obstruktion) wurde von den Patienten erst an sechster Stelle, nach einem Gefühl des Kribbelns im Hals, genannt (siehe Abb. 15). Zudem wurde die Maximalausprägung der nasalen Obstruktion subjektiv erst nach 30 min erreicht. Die anderen Symptome zeigten bereits nach 10 min die maximale Ausprägung. Damit reagierte die nasale Obstruktion den erst genannten Symptomen gegenüber mit einer zeitlichen Verzögerung. Auch beim Rückgang der Symptome lag die verstopfte Nase hinterher. Sie erreichte durchschnittlich erst eine halbe Stunde später (erst nach 2,5 h) als die anderen Symptome (schon nach 2 h) ihren Ausgangswert. Am längsten war das Gesamtbefinden eingeschränkt (bis 4,5 h). Dies war insofern erstaunlich, als alle anderen Symptome in dieser Zeit bereits deutlich zurückgegangen waren und sogar Werte besser als die Ausgangswerte erreicht hatten. Auch das Symptom Obstruktion, das am besten mit dem Gesamtbefinden korrelierte, kann nicht als alleinige Erklärung für das eingeschränkte Gesamtbefinden gesehen werden. Schließlich hatte die Obstruktion schon nach 2,5 h wieder Ausgangswerte erreicht; das Gesamtbefinden aber erst nach 4,5 h. Eigentlich müsste sich der Patient auch nach 2 h besser als vorher fühlen, nachdem alle lokalen Symptome wie Niesreiz, Rhinorrhoe und Obstruktion sich gegenüber dem Ausgangszustand gebessert hatten.

Eine mögliche Erklärung für die Persistenz dieser Einschränkung des Gesamtbefindens wäre die Beeinflussung zentralnervöser und autonomer Regulationsmechanismen durch das lokale entzündliche Geschehen. Togias¹⁹⁹ berichtete von der Aktivierung sensorischer Nerven in der allergischen Reaktion als wichtigstes Element im Zusammenhang der Entstehung von Frühphasensymptomen der allergischen Rhinitis. Diese Aktivierung stimuliere Reflexe, die über Efferenzen Endorgane beeinflussen (siehe auch 1.1.2 und Abb. 2). Diese Reflexe seien verantwortlich für Niesreiz und Juckreiz, die typischen Symptomen der allergischen Rhinitis.

Die Beeinflussung der lokalen neuronalen Aktivität durch Allergenexposition kann zu unerwarteten Veränderungen auch systemischer Natur führen. In sensorischen und autonomen Nervenganglien, sowie im ZNS überlagern sich Neurone, die unterschiedliche Gewebe und Organe beeinflussen. Undem²⁰⁰ et al. wiesen darauf hin, dass Neurone die Fähigkeit besitzen, auch die Funktion benachbarter Neurone zu beeinflussen. Dies wurde bei der lokalen Entzündungsreaktion mit dem Begriff „neurogene Entzündung“¹⁹⁹ umschrieben. Dabei werden sensorische Axone antidrom durch eine Axonantwort stimuliert, die statt ins ZNS zu

wandern, von einem sensorischen Nerven zum anderen springt. Folge ist die Freisetzung von Neuropeptiden, potenten Mediatoren der Entzündungsreaktion, in das die Nerven umgebende Gewebe. Erfolgt die Freisetzung von Neuropeptiden in sensiblen oder autonomen Ganglien, kann es zur Erregung benachbarter Nervenfasern kommen, die andere Gewebe versorgen.¹⁷²

Werden Neuropeptide im Rahmen der allergischen Reaktion ins ZNS transportiert, hat dies bedeutenden Einfluss auf die Interaktionen von Afferenz und Efferenz der Reflexbögen.²⁰⁰ Dieser als „zentrale Sensibilisierung“ bezeichnete Vorgang beruht auf einer Erhöhung der Nervenleitgeschwindigkeit, der synaptischen Übertragung und der Aktionspotentialfrequenz im afferenten Schenkel. Die Folge des erhöhten Inputs nach Allergenkontakt ist bewusstes und unterbewusstes Output. Zu den bewussten Anteilen zählt die Wahrnehmung von Niesreiz, Juckreiz und Obstruktion. Die unterbewussten Anteile dagegen beeinflussen die Aktivität des autonomen Nervensystems.²⁰⁰ Das ZNS reguliert den Tonus des autonomen Nervensystems über die Aktionspotentialfrequenz in präganglionären Neuronen. Folge ist die vermehrte Freisetzung von Mediatoren aus cholinergen postganglionären Neuronen, und damit unter anderem verstärkte glanduläre Sekretion und Transmitterfreisetzung.

Es ist denkbar, dass eine Kombination aus den beiden oben beschriebenen Mechanismen der neurogenen Entzündung und der zentralen Sensibilisierung zu einer Aktivierung des autonomen Nervensystems führt. Das länger als die anderen QoL-Symptome beeinträchtigte Gesamtbefinden könnte als Korrelat dieser neurogen-immunologischen Interaktion angesehen werden.

Spätphase

Nach Analyse der Daten der Spätphase wurde ebenfalls deutlich, dass Obstruktion auch hier erst an fünfter Stelle genannt wurde (Abb. 16). Stärkste Ausprägung zeigte hier allen voran der Niesreiz, gefolgt von Rhinorrhoe, Kribbeln im Hals und dem Gesamtbefinden. Einzig unter der Annahme, dass auch der minimalste Anstieg im QoL eine Spätphase darstellt, konnte Obstruktion mit einem minimalen mittleren Anstieg $< 0,1$ nach 6 h überhaupt zu den subjektiv empfundenen Spätphasensymptomen gezählt werden.

Dennoch stößt man in der Literatur immer wieder auf die Aussage, dass gerade Obstruktion ein Hauptmerkmal der Spätphase darstelle.^{11,24,136,194}

Vergleicht man diese Tatsache mit den Spätphasenwerten der akustischen Rhinometrie für die ganze Nase, geht daraus hervor, dass zum Beispiel das Volumen über dem Muschelkopf (Volumen A) im Vergleich zum Ausgangswert eigentlich zum Zeitpunkt der Spätphase nur um etwa 25 % erniedrigt war. Die Obstruktion betraf vor allem die stärker reagierende Seite. Hier war das Volumen A tatsächlich um etwa 40 % erniedrigt. Auch waren keinerlei Korrelationen in der Spätphase zwischen dem Volumenwert A der stärker reagierenden Seite und dem Symptom Obstruktion in der Spätphase nachzuweisen. Diese unilaterale Obstruktion wird vom Patienten anscheinend nicht als Haupteinschränkung im allergischen Geschehen angesehen. Sie ähnelt der ebenfalls im Zuge des Nasenzyklus auftretenden unilateralen Obstruktion.

Die signifikanten bis hoch signifikanten Korrelationen von Volumenwert A für beide Nasenseiten mit dem Symptom Obstruktion sowohl in der Frühphase, als auch in der Spätphase (Tab. 2), unterstreichen dagegen die Sensitivität der visuellen Analogskala. Sie gibt in diesem Falle selbst geringste subjektiv empfundene Veränderungen wieder.

Niesreiz und Sekretvolumen stellten die besten Parameter zur subjektiven Beurteilung der Spätphasenreaktion dar. Das Sekretvolumen und das Symptom Rhinorrhoe korrelierten in der Spätphase hoch signifikant miteinander ($P=0,001$).

Beides, sowohl die Zunahme des Niesreizes, als auch der Rhinorrhoe in der Spätphase, weist auf zwei unterschiedliche Komponenten der Pathophysiologie der Spätphasenreaktion hin: einerseits auf eine lokale, durch die Entzündungszellen und ihre Mediatoren der Spätphase ausgelöste Reaktion, und andererseits auf eine Beteiligung des ZNS, bei der nozizeptive Afferenzen zentral moduliert werden und über cholinerge Efferenzen auf Drüsen und Gefäße wirken. Vor allem der früh die Spätphase einleitende Niesreiz unterstreicht die Bedeutung der neurogenen Komponente.

In der Literatur wurde von Hyperreagibilität der Schleimhaut berichtet.^{166,199} Dies bedeutet, dass die Schleimhaut im entzündeten Zustand schon auf natürliche Reize (Kälte, Gerüche) hin verstärkt mit Symptomen wie Niesreiz und Rhinorrhoe reagiert.

Togias²⁰⁰ berichtete von einer verstärkten Empfindlichkeit der Mukosa gegen ihre eigenen Produkte (z. B. Histamin) 24 h nach Allergenprovokation.

Damit ergibt sich die Hypothese, dass im Zustand der Hyperreagibilität, die Nasenschleimhaut auch verstärkt auf den erhöhten autonomen Tonus im Rahmen der zentralen Sensibilisierung reagiert. Somit könnten Tonusänderungen im Rahmen des Nasenzyklus lokale und zentrale Überreaktionen zur Folge haben (siehe auch 4.1.2), die an der Spätphase der allergischen Reaktion beteiligt sind.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich vor allem die vier Symptome Niesreiz, Rhinorrhoe, Kribbeln im Hals und Gesamtbefinden zur Erfassung und Beurteilung sowohl der Frühphase als auch der Spätphase der allergischen Rhinitis als geeignet erwiesen. Dabei war die Erfassung der einzelnen Symptome mit der visuellen Analogskala sensitiv genug, auch sehr kleine Änderungen des Befindens in der Spätphase anzuzeigen. Die deutliche Zunahme des Niesreizes bereits nach 4 h am Anfang der Spätphase unterstrich die Bedeutung dieses Symptoms für Interpretation und Erforschung der Spätphasenreaktion, vor allem auch in Bezug auf die Interaktionen zwischen neuronalen und zellulären Mechanismen.

4.1.2 Akustische Rhinometrie

Es ist allgemein anerkannt, dass nasale Obstruktion eines der Hauptsymptome nach natürlicher oder provozierter Allergenexposition darstellt. Mit der akustischen Rhinometrie sollte in dieser Untersuchung nachgewiesen werden, ob die untersuchten Patienten mit Obstruktion auf die Allergenprovokation reagierten oder nicht. Ferner sollte festgestellt werden, ob diese Obstruktion einen biphasischen Verlauf im Sinne einer allergischen Früh- und Spätphase aufwies.

Der Verlauf der Mittelwerte der stärker reagierenden Seite des Volumen A (wie unter 3.1.2 beschrieben) zeigte bei allen 13 Patienten eine Frühphase nach wenigen Minuten, die etwa 1-2 h anhielt, und bei 12 Patienten eine weniger stark ausgeprägte Spätphase der allergischen Sofortreaktion, die nach 4-6 h eintrat. Das Auftreten einer Obstruktion in der Spätphase wurde von verschiedenen Autoren in den unterschiedlichsten Prozentzahlen angegeben.^{52,145,157,170} Wurden die Werte der gesamten Nase berechnet, zeigte sich bei diesen Autoren eine bilaterale Spätphase durchschnittlich nur bei 41 %²⁰⁹ des allergischen Patientenguts. Das bedeutet, dass nur bei wenigen der Untersuchten tatsächlich eine Spätphase nachzuweisen war. Daher war es nötig, auch die einzelnen Verläufe bei unseren Patienten zu betrachten. So zeigten auch bei uns scheinbar nur 6 von 13 Probanden (46 %) eine bilaterale Spätphase, wenn nur die Werte für die gesamte Nase analysiert wurden. Betrachteten wir aber die Werte seitengetrennt, bot sich ein differenzierteres Bild:

Der Reaktionsablauf nach Allergenprovokation zeigte in diesem Fall bei allen 13 Patienten eine deutliche Frühphase und bei 12 eine Spätphase der Sofortreaktion. Dabei konnten in der Spätphase vier Reaktionstypen unterschieden werden: keine Spätphase (8 %), eine einseitige Spätphase (8 %), eine zweiseitige Spätphase (15 %), und eine alternierende Spätphase (69 %). Wobei der alternierende Reaktionstyp, wie schon von Wang und Clement²⁰⁹ beschrieben, den häufigsten Typ darstellte (Abb. 19).

Die Ventilation der beiden Nasenseiten ist normalerweise asymmetrisch. In der Literatur wurde beschrieben, dass bei rund 80 % der Bevölkerung ein Nasenzyklus nachzuweisen ist.^{56,57} Allerdings nehmen die meisten Menschen dies nicht bewusst wahr, da der tatsächliche Luftfluss aufgrund reziproker Verhältnisse der beiden Seiten annähernd konstant bleibt. Der minimale Querschnitt der jeweils offenen Seite zur geschlossenen Seite liegt beim Gesunden bei etwa 2:1. Das Verhältnis wechselt alle 3-6 h.¹¹⁴

Die in der vorliegenden Arbeit bei 69 % der provozierten Patienten nachgewiesene alternierende Spätphase ähnelte dabei einem Nasenzyklus. Einen Unterschied zum natürlichen Nasenzyklus zeigten die, mit einem durchschnittlichen Verhältnis von 3:1, wesentlich stärker ausgebildeten Querschnittsverhältnisse von jeweils offenerer zu geschlossenerer Seite. Offensichtlich wurde trotz Allergenprovokation ein Nasenzyklus aufrecht erhalten, der zudem ausgeprägter ausfiel als der natürliche Nasenzyklus. Diese größere Ausprägung, eines sonst geringer ausgeprägten zyklischen Phänomens, deutet auf eine erhöhte Empfindlichkeit der Nasenschleimhaut auch auf die den Nasenzyklus verursachenden Reize hin. Sie ist Ausdruck einer Hyperreagibilität der Mukosa zum Zeitpunkt der allergischen Spätreaktion. Diese Hyperreagibilität könnte insofern als physiologisch angesehen werden, als dass sie dafür sorgt, dass eine ausreichende Ventilation garantiert bleibt.

Eccles et al. ⁵⁶ beschrieben ein Modell, in dem die periodische Änderung der unilateralen Obstruktion dem Einfluss des Sympathikus zugeschrieben wurde. Demnach kontrollieren Vasokonstriktorentonus und venöser Füllungsdruck nicht nur die einseitige Obstruktion, sondern auch die Vasokonstriktion und damit die bessere Durchgängigkeit der Gegenseite. Bei der allergischen Rhinitis und bei Infektionen der Nase fielen die Amplituden der reziproken Ventilationsänderungen stärker aus. Der Sympathikotonus verhielt sich asymmetrisch. Dabei unterlag die jeweils patentere Nasenseite einem derart hohen Tonus, dass selbst die externe Applikation von Sympathikotonika keine stärkere Vasokonstriktion und damit Abschwellung der Schleimhaut mehr verursachte.

Die obstruktive Seite dagegen hatte gleichzeitig einen sehr geringen Tonus und reagierte deswegen wesentlich stärker auf entzündungsfördernde Mediatoren im Gewebe. ⁵⁶

Diese Überempfindlichkeit könnte durch das spezifische Zytokinmuster der Spätphase hervorgerufen sein. Gegenstand zukünftiger Untersuchungen könnte es sein, mehr auf den jeweiligen Zeitpunkt im Nasenzyklus des einzelnen Patienten einzugehen. Durch eine Synchronisation der Nasenzyklen wäre eine exaktere Erfassung der auf die Provokation folgenden Veränderungen zu garantieren.

Das Vorliegen von vier verschiedenen Reaktionstypen in der Spätphase, mit unterschiedlichem Ausmaß in Bezug auf Beginn, Intensität und Dauer, machte es sehr schwierig, Schlussfolgerungen aus Mittelwerten zu ziehen. Zusätzlich konnte man nicht davon ausgehen, dass die Nasenzyklen der Patienten zu den Messzeitpunkten synchron verliefen. Das macht es verständlich, dass keine Korrelationen zwischen den Rhinometriemittelwerten und den untersuchten Transmittern nachzuweisen waren.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die akustische Rhinometrie eine einfach durchzuführende und sensitive Methode darstellt, die Frühphase und Spätphase der allergischen Sofortreaktion bei Patienten mit saisonaler allergischer Rhinitis nachzuweisen. Es wurde in 100 % der Fälle eine Frühphase und in 92 % der Fälle eine Spätphase nachgewiesen. Außerdem bot die akustische Rhinometrie die Möglichkeit, das Patientengut nach Reaktionstypen in unterschiedliche Gruppen einzuteilen. Dabei war die alternierende Spätphase mit 69 % am häufigsten vertreten.

In Hinblick auf weitere Untersuchungen ließe sich eine seitengetrennte Sammlung der Nasensekretproben und eine Gruppierung auch der Nasensekretproben nach unterschiedlichen Reaktionstypen vorstellen.

4.2 Experimenteller Teil

4.2.1 Sekretvolumenfluss

Die erstaunliche Ähnlichkeit des Volumenflusses in der Früh- und Spätphase mit dem Verlauf der QoL-Kurven deutet auf einen kausalen Zusammenhang zwischen Sekretion und Wohlbefinden des Patienten hin.

Dies ließ sich allerdings nicht mit den Korrelationen für nicht parametrische Variablen nach Spearman untermauern. Setzte man allerdings gepaarte Stichproben voraus und bestimmte die Korrelationen nach Pearson, ließen sich jeweils nach 3 h ($P=0,034$) und 7 h ($P=0,003$) Korrelationen zwischen dem Symptom Nase laufen und dem Sekretvolumen nachweisen. Dabei entsprachen die Zeitpunkte der Korrelationen jeweils den Sekretionsabfällen.

Im Verlauf des Volumenflusses stachen des weiteren vor allem zwei Dinge ins Auge: einerseits das Verhältnis von Frühphasenanstieg zu Spätphasenanstieg von 3:1, und andererseits der Abfall der Sekretion auf Werte von 30-50 % unter den Ausgangswerten, jeweils im Anschluss an die Anstiege (Abb. 20).

Der Volumenfluss wird von zwei Komponenten beeinflusst: der Gefäßpermeabilität und der glandulären Sekretion. Die Gefäßpermeabilität wird vor allem durch die direkte Wirkung von Mediatoren auf das Gefäßendothel erhöht. Die glanduläre Sekretion dagegen unterliegt sowohl lokalen Einflüssen, als auch neurogenen Wirkungen.²¹⁷

Der Axonreflex hat nur wenig oder gar keinen Einfluss auf die Gefäßpermeabilität.^{184,187}

Frühphase

Der starke initiale Anstieg lässt sich mit dem Einfluss des in der Frühphase von Mastzellen und Basophilen ausgeschütteten Histamins erklären. Dabei wirkt Histamin einerseits direkt vasodilatatorisch und unterstützt die Plasmaexsudation und Extravasation von Proteinen, andererseits aber stimuliert es auch, zu einem geringeren Prozentsatz, die reflektorische Drüsensekretion. Diese Vorgänge sind bekannt und in Studien mit einseitigen Allergenprovokationen erforscht worden.^{131,155}

Spätphase

Weniger beschrieben sind dagegen die Vorgänge, die zum Anstieg der Sekretion in der Spätphase führen. Da in dieser Untersuchung kein Albumin zusätzlich bestimmt wurde, konnte keine Aussage darüber gemacht werden, ob die Sekretion eher glandulären Ursprungs war oder durch gesteigerte Gefäßpermeabilität zustande kam.

Auffällig war aber, dass das in unseren Sekretproben nachgewiesene LTC_4 auch zwischen der 5-6 h plötzlich stark anstieg. Die glanduläre Sekretion steigt unter dem Einfluss von LTC_4 .¹¹ LTC_4 wirkt aber auch auf glatte Muskulatur und führt zu Vasodilatation und erhöhter Gefäßpermeabilität.⁴⁸ LTC_4 wird von Mastzellen, Basophilen, aber auch von Eosinophilen produziert.

Da letztere in der Spätphase zu den dominanten Entzündungszellen gezählt werden, wäre ein eosinophiler Ursprung plausibel. Eosinophile produzieren in Gegenwart von IL-5 vermehrt LTC₄.⁸³ Die absoluten IL-5 Werte in den untersuchten Nasensekreten waren in der Spätphase deutlich erhöht. Zudem wird diskutiert, ob IL-5 die Freisetzung von LTC₄ aus eosinophilen Granulozyten beeinflusst.

Eine in ihrer Empfindlichkeit gesteigerte Mukosa, im Zustand der Hyperreagibilität, wirkt sich über neuronale Reflexe vor allem auf die Drüsensekretion aus. Dazu tragen auch die Cysteinyl-Leukotriene bei, in dem sie die Aktionspotentialfrequenz in den Nervenfasern erhöhen, woraufhin vermehrt Neuropeptide freigesetzt werden.²⁰⁰

Angenommen, die gesteigerte Sekretion in der Spätphase unterliege vor allem dem Einfluss von LTC₄, so ist, auf Grund seiner Wirkung auf Gefäßpermeabilität und Drüsensekretion, auch in der Spätphase von einem gemischten Ursprung der Sekretion auszugehen.

Von besonderem Interesse für zukünftige Untersuchungen ist die Aufdeckung derjenigen Mechanismen, die nach etwa 2 h zum Absinken der Sekretion unter die Ausgangswerte führten.

4.2.2 Gesamtprotein

Am biphasischen Anstieg der Absolutwerte des Gesamtproteins ließ sich sehr deutlich das Vorhandensein einer Früh- und auch Spätphasenreaktion erkennen. Dabei erwies sich die Spätphasenreaktion, in Bezug auf ihre maximalen Proteinwerte, ähnlich ausgeprägt wie die Frühphase. Bezüglich ihrer Dauer fiel sie sogar länger aus als die Frühphasenreaktion.

Da kein Albumin in den Proben bestimmt wurde, war es nicht möglich, genauere Aussagen über die Herkunft der Proteine zu machen. Ob sie eher Produkte von Plasmaextravasation im Rahmen einer erhöhten Gefäßpermeabilität oder aber glandulären Ursprungs sind, bleibt Gegenstand zukünftiger Untersuchungen. Die in Früh- und Spätphase ähnlich stark ausgeprägten Anstiege sprechen allerdings stark für den gleichen Mechanismus.

Im Vergleich der Spätphasenverläufe von Gesamtprotein und LTC₄ stach auch hier, wie schon beim Sekretvolumen, ein Synchronismus ins Auge. Das Gesamtprotein zeigte nach 4 h, ähnlich dem LTC₄, einen kleinen Gipfel, bevor es zum endgültigen Spätphasenanstieg nach 5-6 h kam. Darum sprechen auch die Korrelationen der Konzentrationen für LTC₄ und Gesamtprotein nach 4 h ($P=0,031$) und nach 6 h ($P=0,050$) für einen Einfluss des LTC₄ auf die Proteinsekretion.

4.2.3 ECP

Da ECP spezifisch für die Erfassung aktivierter Eosinophiler nachgewiesen wurde, spiegelten die erhöhten Werte in der Spätphase die zunehmende Einwanderung von eosinophilen Granulozyten an den Ort des Entzündungsgeschehens wider.

Erstaunlich war im Vergleich mit den QoL-Fragen vor allem, dass die steigenden ECP-Werte nach 3-4 h signifikant bis hoch signifikant mit der Besserung der QoL-Symptome korrelierten (Tab. 5). Je stärker die Eosinophilie zunahm, desto geringer waren die Symptome ausgeprägt.

Als die Symptome nach 5-6 h wieder minimal stärker wahrgenommen wurden, zeigte das ECP nach 6-7 h einen besonders starken Anstieg, worauf in der Folge die QoL-Werte noch weiter als vor dem Anstieg absanken.

Somit trug der Ausprägungsgrad der Eosinophilie, respektive die Freisetzung von ECP, anscheinend zur Besserung der Symptome bei.

Korrelationen mit IL-5 nach 4 h und 7 h deuten auf eine Beteiligung der Eosinophilen an der IL-5-Produktion hin (siehe auch 4.2.4).

Korrelationen mit Eotaxin nach 2-3 h und 7-8 h unterstrichen den eosinophilen Ursprung dieses Chemokins. Dies sprach für eine synchrone Freisetzung zusammen mit ECP aus eosinophilen Granula.

Beides, die Freisetzung von IL-5 und des Chemokins Eotaxin, deutete auf eine Autoregulation der Rekrutierung und Extravasation von Eosinophilen hin.

4.2.4 IL-5

Wie bereits in der Einleitung unter 1.5.4 ausführlich beschrieben, handelt es sich bei IL-5 um ein typisches T_H2+ Zytokin. ⁵¹ T_H2+ Zytokine dominieren das Bild in der allergischen Spätreaktion. Auch liegt IL-5 nicht in gespeicherter Form vor, sondern muss neu synthetisiert werden. ⁷² Beides kann als Erklärung für den hier erst in der Spätphase nachgewiesenen deutlichen Anstieg gewertet werden.

Der kontinuierliche Anstieg von ECP in der Spätphase sprach für den kontinuierlichen Influx von Eosinophilen in die Mukosa. Korrelationen mit ECP ($P < 0,05$; Tab. 6) waren allerdings nur nach 4 h und 7 h nachweisbar. Eosinophile sind selbst auch an der Produktion von IL-5 beteiligt ^{26,50}, aber offensichtlich nicht der Hauptproduktionsort von IL-5. Vermutlich stammte die Hauptmenge an IL-5 aus T_H2 -Zellen. IL-5 erfüllt Aufgaben bei der Proliferation, Differenzierung, Aktivierung und Rekrutierung von Eosinophilen im Entzündungsgeschehen. ¹⁰³ Es wirkt antiapoptotisch auf Eosinophile und führt zu ihrer Degranulation. ¹⁴¹

Die Korrelationen mit Eotaxin nach 4 h ($P < 0,05$ /Tab. 6) und 7 h ($P < 0,01$,/Tab. 6) reflektierten die synergistische Wirkung von IL-5 und Eotaxin. Collins et al. ⁴⁰ wiesen auf die synergistische Funktion von Eotaxin im Rahmen der Differenzierung und Reifung von Eosinophilen im Knochenmark hin (Abb.6). Onischi et al. ¹⁴¹ berichteten, dass IL-5 sowohl die ortsständigen als auch die neu eintreffenden Eosinophilen in der Mukosa aktiviere und eine Sekretion der präformierten Granula bewirke. Die Korrelationen in der Spätphase mit ECP, einem sekretorischen Produkt der eosinophilen Granula, bestätigten diesen Vorgang.

Mould et al. ¹³⁰ fanden an IL-5 „knockout Mäusen“ heraus, dass Eotaxin unabhängig von IL-5 die Freisetzung von Eosinophilen aus dem Knochenmark ins Blut unterstütze. Dies gelang IL-5 dagegen nur unter Beteiligung von Eotaxin. Bei der Extravasation der Eosinophilen aus den peripheren Blutgefäßen an den Ort der allergischen Entzündung verhielt es sich umgekehrt; hier benötigte Eotaxin die Anwesenheit von IL-5, um eine Extravasation zu bewirken. IL-5 dagegen konnte dies auch unabhängig von Eotaxin.

Der Anstieg von IL-5 bereits nach 1 h, also vor dem Eosinophilen-Produkt ECP, unterstrich die Aktivierung von T_H2+ Lymphozyten am Ort des Entzündungsgeschehens noch vor dem Eintreffen der Eosinophilen.

Die von Busse ³¹ vorgebrachte These, dass IL-5 auch die Freisetzung von LTC₄ aus eosinophilen Granulozyten verursache, war nicht mit unseren Ergebnissen in Übereinstimmung zu bringen. Der extrem starke Anstieg von LTC₄ nach 5-6 h erfolgte zu abrupt, als dass er mit dem langsam über Stunden ansteigenden IL-5 Werten in Verbindung gebracht werden könnte. Auch gab es über den gesamten Messzeitraum hinweg keinerlei Korrelationen zwischen LTC₄ und IL-5.

4.2.5 Chemokine

Vorangestellt soll darauf hingewiesen werden, dass alle in der vorliegenden Arbeit untersuchten Chemokine unter anderem auch von Eosinophilen produziert werden. Dies trifft zu für Eotaxin, MCP-1, MCP-3 und RANTES, aber auch für IL-8. ¹⁰⁸ Somit sind sie in Bezug auf die Eosinophilie in der allergischen Spätphase von großem Interesse.

IL-8/CXCL8

Scapini et al. ¹⁶⁷ beschrieben die extrazelluläre Freisetzung von IL-8 aus Neutrophilen nach Stimulation mit Lipopolysacchariden (LPS). Typischerweise setzt sie nach 1 h ein, steigert sich dann langsam für 5-6 h, um schließlich nach 18-24 h dramatisch anzusteigen. Die im Ergebnisteil (siehe 3.2.5) beschriebene Kinetik der IL-8 Freisetzung entspricht (zumindest im Messzeitraum) diesen Beobachtungen. Allerdings mit dem Unterschied, dass die vorliegenden Absolutwerte (Abb.24) eine IL-8 Freisetzung in der Frühphase (nach 10 min) belegen.

Wie bereits erwähnt (siehe 1.5.5/IL-8), wird IL-8 nicht nur von Neutrophilen, sondern auch von vielen anderen Zelltypen produziert. Somit scheint es plausibel, dass IL-8 zu verschiedenen Zeitpunkten der allergischen Reaktion aus unterschiedlichen Quellen stammt. Der initiale Maximalwert der IL-8 Absolutwerte nach 10 min in vorliegender Untersuchung deutete auf eine IL-8 Produktion von Mastzellen und Basophilen in der Frühphase hin. Mastzellen und Basophile werden direkt vom Allergen stimuliert. Dass auch in Mastzellen eine Produktion von IL-8 stattfindet, wurde bereits nachgewiesen. ¹²⁶

Aus Provokationsuntersuchungen an Asthmapatienten ging hervor, dass Neutrophile nach der Provokation als Erstes ins Gewebe eindringen. ¹⁹⁶ Anders als der später einsetzende Influx von Eosinophilen, ist dieser initiale Influx von Neutrophilen nur vorübergehender Natur. Für diesen vorübergehenden Influx der Neutrophilen könnte das in der Frühphase kurzzeitig erhöhte IL-8 verantwortlich sein.

Immunhistochemisch wurde IL-8 vor allem im Epithel von Biopsien aus der Nasenschleimhaut nachgewiesen. ²⁵ Das Epithel mag eine der Quellen von IL-8 in der Spätphase darstellen, denn in anderen Untersuchungen produzierten Epithelzellen IL-8 nach Stimulation mit Histamin oder TNF. ¹¹⁸ Cheng et al. ³³ wiesen allerdings nach, dass Eotaxin die Produktion von IL-8 in Endothelzellen drosselte. Somit spräche die Korrelation mit Eotaxin ab der 3. Stunde gegen einen endothelialen Ursprung von IL-8.

Demnach kann die Beteiligung anderer Zellen an der IL-8 Produktion in der allergischen Spätphase nicht ausgeschlossen werden.

Seit einigen Jahren bestehen Vermutungen, dass IL-8 auch an Eosinophilen Wirkungen zeigt.¹⁷¹ In einer nasalen Provokationsstudie mit IL-8 von Douglass et al.⁴⁶ wurde eine deutliche Zunahme der Eosinophilenzahlen im Nasensekret der allergischen Probanden nachgewiesen. Dieser Effekt war bei der Kontrollgruppe nicht allergischer Probanden nicht zu finden. Douglass folgerte, dass durch das vorherrschende Zytokinmuster ein Priming der Eosinophilen allergischer Probanden auf IL-8 stattgefunden haben musste. Im Gegensatz zu anderen Untersuchungen,⁹⁰ korrelierte in der vorliegenden Arbeit IL-8 nach 5-8 h signifikant bis hoch signifikant (Tab. 8) mit ECP. Dies spricht entweder für eine Beteiligung von IL-8 am Influx der Eosinophilen in der Spätphase, oder für eine Beteiligung der Eosinophilen an der IL-8-Produktion, oder für beides. Simon et al.¹⁷⁸ berichteten von der Fähigkeit Eosinophiler IL-8 zu produzieren und nach Aktivierung freizusetzen. Die vorliegenden Korrelationen mit ECP bestätigten diese Angaben. Es stellt sich die Frage, ob die typische Kinetik der Freisetzung von IL-8 aus Neutrophilen (siehe oben) nicht auch auf Eosinophile zutrifft.

Im Zusammenhang der oben erwähnten These von Douglass bezüglich eines Primings der Eosinophilen stach besonders die bereits nach 3 h bestehende Korrelation mit Eotaxin ins Auge (Tab. 8). Diesbezüglich lässt sich folgern, dass Eotaxin für das entsprechende Priming im Sinne einer Aktivierung der Eosinophilen verantwortlich sein könnte. Schließlich führen erhöhte Eotaxin-Werte zur Rekrutierung und Aktivierung von Eosinophilen.⁶² Dabei wäre es möglich, dass Eotaxin im Zusammenspiel mit IL-8 ähnliche synergistische Funktionen übernimmt wie mit IL-5 (siehe 4.2.4).

Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung, dass IL-8 sowohl an der Frühphase als auch an der Spätphase der allergischen Reaktion beteiligt war. Während in der Frühphase Mastzellen und Basophile als Hauptquellen von IL-8 in Frage kommen, scheinen in der Spätphase eher Eosinophile diese Aufgabe zu übernehmen. Es drängte sich die Vermutung auf, dass IL-8 vom jeweils aktivsten Zelltyp der jeweiligen Reaktionsphase produziert wurde.

MCP-1/ CCL2

Im Rahmen ihrer immunohistochemischen Untersuchungen zur allergischen Spätphase konnten Christodoulou et al.³⁶ bereits vor der Allergenprovokation eine konstitutive Expression von MCP-1 in Nasenschleimhautbiopsien nachweisen. 24 h nach der Provokation lag die MCP-1-Expression im gleichen Bereich. Sie folgerten daraus, dass MCP-1 bei der allergischen Spätphase keine Rolle zukomme.

Kuna et al.¹⁰⁵ berichteten dagegen von erhöhten MCP-1-Werten im Nasensekret während der Pollenflug-saison. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit maximal gesteigerten MCP-1-Werten nach 2 h ($P=0,046$), beziehungsweise 5-6 h ($P=0,018$), sprachen für eine Beteiligung von MCP-1 in der Spätphase der allergischen Reaktion nach Allergenprovokation.

Bischoff et al.¹⁷ berichteten von einer bedeutend verstärkten Produktion von LTC₄ in Basophilen und Eosinophilen nach Kontakt mit MCP-1, nachdem sie vorher mit nur sehr geringen Konzentrationen von IL-5

vorbehandelt worden waren (siehe auch 4.2.7). Eine Korrelation mit IL-5, vor allem nach 6 h (Tab. 6), könnte dahingehend gedeutet werden.

Die Ergebnisse von Bischoff sprechen für einen aktivierenden und modulierenden Einfluss von MCP-1 auf eosinophile Granulozyten in der Entzündungsreaktion. Im Zusammenhang mit der Korrelation mit ECP nach 3 h und 8 h und mit Eotaxin auch noch nach 6 h (Tabellen 3 und 7) in der vorliegenden Untersuchung muss in Betracht gezogen werden, dass zumindest ein Prozentsatz des nachgewiesenen MCP-1 auch eosinophilen Ursprungs war.

Rollins et al.¹⁵⁹ berichteten von einem Einfluss von IL-4 auf die Expression von MCP-1 in Endothelzellen. Gu et al.⁷⁴ beschrieben anders herum die stimulierende Wirkung von MCP-1 auf die IL-4-Produktion. Beides deutet darauf hin, dass MCP-1 ein typisches, im Zusammenhang mit der T_H2-Reaktion nachzuweisendes Chemokin ist.

MCP-3/CCL7

MCP-3 wurde erstmals in den Zellüberständen von Osteosarkomzellkulturen nachgewiesen.¹²³ Später stellte sich heraus, dass auch mit LPS oder TNF- α stimulierte Monozyten, Fibroblasten, glatte Muskelzellen und Endothelzellen MCP-3 produzieren können, wenn auch nur in sehr geringen Mengen. Da diese Zellen potentiell am allergischen Geschehen beteiligt sind, konnte dies als Hinweis auf eine eventuelle Beteiligung auch von MCP-3 gesehen werden.

Die stark chemotaktische Wirkung von MCP-3 auf Monozyten und T-Lymphozyten zeigte sich bereits in minimalsten Konzentrationen von 0,1 ng/ml.²⁰² Ab Konzentrationen von 30 ng/ml wirkte MCP-3 auch chemotaktisch auf Eosinophile und Basophile.²¹² Allerdings wurde die MCP-3 Produktion in Monozyten durch T_H2-Zytokine wie IL-4, IL-10 und IL-13 unterdrückt.¹⁴⁸

Der fehlende Nachweis von MCP-3, selbst in weitaus geringeren Konzentrationen (die Nachweisgrenze lag bei 31,2 pg/ml) als oben erwähnt, würde die These unterstützen, dass MCP-3 eher den im Rahmen einer T_H1-Antwort wirkenden Chemokinen zuzuordnen ist. Obwohl Christodoulopoulos et al.³⁶ immunhistochemisch eine vermehrte MCP-3-Expression in Epithelzellen nach Allergenprovokation feststellen konnten, sprechen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit eher dafür, dass MCP-3 in der allergischen Spätphase keine Rolle zu spielen scheint.

RANTES/CCL5

Wie bereits in der Einleitung angesprochen, besitzt RANTES chemotaktische und aktivierende Wirkungen auf Monozyten, T-Lymphozyten, Eosinophile und Basophile.^{18,107,163}

Aus nasalen Provokationsstudien mit RANTES nach Allergenkontakt von Kuna et al.¹⁰⁴ ging hervor, dass RANTES in der mit Allergen vorbehandelten Mukosa einen deutlich stärkeren Influx von Entzündungszellen provozierte. Damit wurde gezeigt, dass RANTES auch in vivo Wirkungen auf Entzündungszellen wie Eosinophile, Basophile und T-Lymphozyten entfaltet.

Ungeklärt blieb allerdings weiterhin die Frage, ob RANTES aber tatsächlich eine Hauptrolle im allergischen Geschehen zukommt.

Vereinzelte gingen mehr oder minder präzise Aussagen diesbezüglich ein. 1995 berichteten Sim et al.¹⁷⁷ mehr beiläufig von einer RANTES-Sekretion im Zusammenhang mit erhöhten Chemokinwerten im Nasensekret nach Allergenprovokation. Diese wurde in der Folge gerne zitiert, aber nicht experimentell bestätigt oder ergänzt.^{104,150}

Kuna¹⁰⁴ wies in der oben bereits erwähnten Provokationsstudie die Wirkung von RANTES *in vivo* nach, verwendete dabei aber extrem hohe RANTES-Mengen im µg-Bereich.

Mit Hilfe von *in situ* Hybridisierung gelang Rajakulasingam et al.¹⁵⁰ der Nachweis von vermehrter RANTES mRNA-Expression in Makrophagen, Eosinophilen und T-Lymphozyten in der allergischen Spätphase (nach 6 h). Auch zeigten fünf von sieben ihrer Probanden eine zeitlich stark variierende verstärkte Sekretion von RANTES nach 1-5 h. Diese waren allerdings nicht mit den mRNA-Expressionen zu korrelieren. Außerdem wurde von einer vorbestehenden Entzündung der Nasenschleimhaut bei vier der Probanden berichtet.

Die vorliegenden Ergebnisse sprechen dafür, dass RANTES auch in pg-Mengen (die Nachweisgrenze für RANTES lag bei 31,2 pg/ml) keine Rolle in den ersten acht Stunden der allergischen Reaktion spielt.

Die von Rajakulasingam et al.¹⁵⁰ nachgewiesene vermehrte Expression von mRNA könnte aber auch als Hinweis darauf gesehen werden, dass RANTES seine Wirkung erst zu einem späteren Zeitpunkt entfaltet. Diesbezüglich bestätigend wäre die Beobachtung von Song et al.¹⁸¹, die RANTES als eines der Produkte identifizierten, die von aktivierten T-Zellen erst nach einem Intervall von 3-5 Tagen freigesetzt werden.

Zwei weitere Veröffentlichungen sprechen gegen eine Rolle von RANTES in den ersten acht Stunden nach Allergenprovokation. Zum einen wiesen Terada et al.¹⁹⁵ nach, dass die Adhäsion Eosinophiler an nasale Epithelzellen deren RANTES-Produktion hemmten. In einem Tierversuch von Marleau et al.¹¹⁹ wirkte RANTES zum anderen antagonistisch an CCR3 und unterband erfolgreich die Rekrutierung von Eosinophilen an den Ort der allergischen Entzündung. Beides spricht eher für eine gegenseitig hemmende Wirkung. Also entweder Eosinophile oder RANTES, aber nicht beides zusammen.

Die revolutionären Ergebnisse aus der HIV-Forschung von Cocchi et al.³⁹ beschrieben T_H1-Lymphozyten als Hauptproduzenten von RANTES in seiner Wirkung auf die HIV-Replikation.

Diesen Erkenntnisse nach scheint RANTES eher eine Rolle bei T_H1-Reaktionen zuzufallen. Der fehlende Nachweis von RANTES im Rahmen dieser Arbeit war konsistent mit diesen Ergebnissen.

Eotaxin/CCL11

Studien am Tiermodell haben nachgewiesen, dass die Eotaxinproduktion am Ort allergischer Reaktionen mit der Rekrutierung von Eosinophilen korrelierte. Humbles et al.⁸⁵ zeigten in einem Modell mit Meer-schweinchen, dass die Eotaxinproduktion 6 h nach Allergenkontakt ihren Höhepunkt erreichte und nach 6-12 h wieder auf niedrigere Werte abfiel.

Mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass die Eotaxin-Produktion auch in der menschlichen Mukosa in der Spätphase der allergischen Reaktion nach 6-7 h einen Höhepunkt erreicht.

Yamada et al. ²¹⁸ berichteten von erhöhten Eotaxin-Werten im Sputum von Asthmatikern und deren Korrelationen mit gesteigerten Eosinophilen-Zahlen und ECP-Werten.

Auch von einer erhöhten Eotaxinproduktion ⁷³ im Zusammenhang mit allergischer Rhinitis wurde bereits berichtet.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit waren konsistent mit den Ergebnissen der oben beschriebenen Arbeiten. Anhand der Korrelationen von Eotaxin mit den anderen in dieser Arbeit nachgewiesenen Transmittern, ließen sich erstmals auf interessante Weise die unterschiedlichen Facetten der Wirkweise von Eotaxin an verschiedenen Punkten der allergischen Reaktion verfolgen.

Die Eotaxin-Werte im Nasensekret korrelierten in der Spätphase sowohl mit IL-5, ECP, sVCAM-1 aber auch mit MCP-1 und IL-8 (Tab.9).

Die Korrelation mit IL-5 wies auf die synergistische Funktion von Eotaxin im Rahmen der Differenzierung, Reifung und Aktivierung von Eosinophilen hin (wie schon unter 4.2.4 diskutiert).

Ob die Korrelationen mit sVCAM-1 allerdings auch für diese synergistische Funktion von Eotaxin mit IL-5 spricht, muss genauer betrachtet werden.

Bisher ging man davon aus, dass Eotaxin die Adhäsion Eosinophiler ⁹⁸ über vermehrte Expression des Integrins VLA-4 (siehe auch 1.5.6) auf Eosinophilen und von VCAM-1 auf Endothelzellen unterstütze. Die Einwanderung von Eosinophilen ist aber nicht nur abhängig von Adhäsion, sondern auch von einer Loslösung der eosinophilen Bindung vom endothelialen Adhäsionsmolekül.

Humbles et al. ⁸⁶ führten Untersuchungen an Mäusen durch, bei denen die CCR3-Expression durch Gen-Deletion unterdrückt wurde. Mit Hilfe von Eotaxin sollten Eosinophile ins Gewebe gelockt werden. Dies gelang ohne weiteres bei der Kontrollgruppe der „wild-type Mäuse“. Bei den CCR3 „knockout Mäusen“ jedoch zeigte sich, dass die Eosinophilen im Gefäß gefangen blieben. Sie akkumulierten interessanter Weise direkt unter den Endothelzellen.

Tachimoto et al. ¹⁸⁹ hypothetisierten eine Rolle der am CCR3 wirkenden Chemokine bei der Loslösung Eosinophiler vom endothelialen Adhäsionsmolekül VCAM-1. In ihren, in diesem Sinne durchgeführten Untersuchungen, wiesen sie nach, dass an CCR3 wirkende Chemokine, aber auch IL-5 und PAF, die Loslösung der Eosinophilen von VCAM-1 förderten. Dabei führten sie die Untersuchungen mit physiologischen Konzentrationen der Chemokine durch. Sie folgerten, dass an CCR3 wirkende Chemokine in verschiedenen Konzentrationen zum Teil gegensätzliche Wirkungen zeigen. Auch banden mit einem Antikörper gegen CCR3 vorbehandelte Eosinophile nicht mehr an VCAM-1 der Endothelzellen. ⁹⁸

Zieht man die Synthese aus diesen Untersuchungen, müssen die äußerst konsequenten, hoch signifikanten Korrelationen zwischen sVCAM-1 und Eotaxin in der frühen Spätphase aus vorliegender Untersuchung unter diesem Aspekt neu betrachtet werden. Offensichtlich sprechen diese Korrelationen für eine starke Beteiligung von Eotaxin an der Loslösung der Eosinophilen von den Endothelzellen. Somit käme Eotaxin bei der Einwanderung der Eosinophilen aus dem Gefäßsystem ins Gewebe eine Schlüsselrolle zu.

Für die Loslösung Eosinophiler aus ihrer Adhäsion an Endothelzellen kommen zumindest drei Möglichkeiten in Frage: entweder eine veränderte Zusammensetzung der exprimierten Oberflächenrezeptoren, eine verminderte Expression der Rezeptoren, oder aber eine veränderte Affinität zu den Rezeptoren.

Tachimoto et al. ¹⁸⁹ berichteten diesbezüglich von einer veränderten Nutzung der β_1 -Integrin Untereinheit von VLA4 mit VCAM-1 hin zu einer Nutzung von β_2 -Integrinen mit anderen Liganden. Das käme einer Affinitätsverminderung von VLA4 auf Eosinophilen gleich.

Ähnliches beschrieben Broide und Sriramarao ²⁹ im Zusammenhang von Bewegungsstudien an Eosinophilen durch die extrazelluläre Matrix. Dabei demonstrierten sie die Affinitätsverringerng von VLA4 für seinen Liganden CS-1 auf Fibronektin. Bei anderer Gelegenheit ¹⁸⁶ zeigten sie umgekehrt auch eine Affinitätssteigerung von VLA4. Dabei wurde durch GM-CSF die Affinität von VLA4 für seine Liganden CS-1 auf Fibronektin oder VCAM-1 auf Endothelzellen gesteigert. Eosinophile banden nun verstärkt an Endothelzellen.

Andererseits induziert Eotaxin an CCR3 ein Verminderung der Oberflächenexpression von CCR3 durch Endozytose des Rezeptors. ²²⁰

Diese Ergebnisse sprechen für eine äußerst komplexe Wirkweise von Eotaxin. Wahrscheinlich muss auf lange Sicht hin Abstand von der Vorstellung genommen werden, dass Eotaxin nach Rezeptorbindung auf eine bestimmte Weise wirke. Vielmehr muss die Sichtweise dahingehend modifiziert werden, dass zusätzlich andere Chemokine synergistisch mit Eotaxin wirken (wie bereits für IL-5 und GM-CSF beschrieben). Je nach Rezeptorexpression des jeweiligen Zelltyps kämen somit durchaus antagonistische Wirkungen an unterschiedlichen Orten in Betracht.

Ein Chemokin sollte daher stets im Zusammenhang mit dem jeweils vorherrschenden Chemokinmuster und dem vorherrschenden Rezeptormuster betrachtet werden.

4.2.6 sVCAM-1

Obwohl aus Zellkulturstudien hervorging, dass sVCAM-1 von aktivierten Endothelzellen ²¹⁴ sezerniert wird, bleibt bisher offen, wie es zu seiner Freisetzung kommt und ob nicht noch andere Zellen an seiner Sekretion beteiligt sind. Auch wurde seine Funktion in der allergischen Entzündungsreaktion bisher nicht geklärt. ¹⁴⁰

Der hier erfolgte Nachweis von sVCAM-1 im Nasensekret und sein von Zangrilli et al. ²¹⁹ nachgewiesenes Vorkommen im Bronchialsekret von allergischen Asthmatikern, spricht für seine Beteiligung bei der Rekrutierung und Aktivierung von Eosinophilen in der allergischen Früh- und Spätphase.

Wie bereits oben diskutiert (siehe 4.2.5/Eotaxin), sprachen die hochsignifikanten Korrelationen der sVCAM-1-Werte mit Eotaxin in der Spätphase einerseits für eine Einflussnahme der VCAM-1-Expression auf den Influx der Eosinophilen ins Gewebe, und andererseits für eine Beteiligung von Eotaxin an der Lösung der Eosinophilen aus ihrer Adhäsion an Endothelzellen.

Nakajima et al. ¹³⁷ berichteten von einer endogenen Produktion von Eotaxin auch in Eosinophilen. Das hieße, dass in der allergischen Spätphase Eosinophile auto-regulatorisch an ihrer Rekrutierung an den Ort der Entzündung beteiligt wären. Die Expression von Eotaxin durch Eosinophile könnte als Ausdruck eosinophiler Aktivierung gesehen werden. Es kann vermutet werden, dass die Bindung von VCAM-1 mit VLA4 für diese Aktivierung und Sekretion verantwortlich ist.

In diesem Zusammenhang ist es interessant, nochmals die Korrelation mit sVCAM-1 zu betrachten. Es lässt sich vermuten, dass aus Eosinophilen freigesetztes Eotaxin die Loslösung der Eosinophilen von VCAM-1 verursacht. Andererseits könnte auch Eotaxin endothelialen Ursprungs für die Loslösung von VCAM-1 von der Endothelzelle verantwortlich sein. Das Produkt aus dieser zweifachen Ablösung von VCAM-1 wäre dann sVCAM-1. Da für Ursprung und Entstehungsweise von sVCAM-1 bisher noch keine Erklärung gefunden wurde, wäre hiermit eine neue Hypothese für die Entstehung von sVCAM-1 geschaffen.

4.2.7 Leukotrien C₄

Mit seinem markanten Spätphasenanstieg und seinem im Vergleich dazu geringer ausgeprägten Frühphasenanstieg, gehört LTC₄ zu den Transmittern, die ihre Wirkung vor allem in der Spätphase entfalten. Dabei war der schnelle Anstieg in der Frühphase nach Allergenkontakt wahrscheinlich eine Folge der Degranulation von Mastzellen.¹⁷³

Underwood et al.²⁰¹ berichteten von einer direkten Proportionalität der LTC₄-Produktion zur Anzahl der rekrutierten eosinophilen Granulozyten in das entzündete Gewebe. Der deutliche LTC₄-Anstieg in der Spätphase würde demnach für den Influx von Eosinophilen ins Gewebe sprechen. Dies müsste sich allerdings durch den Eosinophilie-Marker ECP bestätigen lassen. Es ließen sich jedoch keine Korrelationen von ECP mit LTC₄ nachweisen. Das deutet darauf hin, dass Eosinophile nicht alleine als Quelle von LTC₄ in der Spätphase in Frage kommen.

Die Produktion und Freisetzung von LTC₄ aus Eosinophilen hängt von ihrem Aktivierungsgrad ab²¹³, das heißt von der Gegenwart anderer Zytokine. Aktivierend auf Eosinophile im Sinne einer erhöhten LTC₄-Produktion wirken IL-5, PAF und CCR3-Agonisten wie Eotaxin.¹⁰

Wie bereits bei der Diskussion der IL-5 Werte (siehe 4.2.4) besprochen, kann das kontinuierlich ab 2 h steigende IL-5 wahrscheinlich nicht als alleiniger Auslöser für die plötzliche LTC₄-Freisetzung nach 5-6 h angesehen werden. Daher stellt sich weiterhin die Frage nach dem Auslöser, der zur plötzlichen und im Vergleich zur Frühphase starken LTC₄-Freisetzung nach 5-6 h führte. Wahrscheinlich stammt das in der Spätphase nachgewiesene LTC₄ aus verschiedenen Zelltypen wie Mastzellen, Makrophagen, basophilen und eosinophilen Granulozyten.^{117,216} Vorstellbar wäre auch eine Beteiligung des autonomen Nervensystems und somit eine immuno-neurogene Interaktion als Ursache des plötzlichen LTC₄ Anstiegs.

Bischoff et al. berichteten von einem Priming Effekt von IL-5 auf Eosinophile und Basophile.^{16,191} Ihre Ergebnisse sprachen für eine bedeutend verstärkte Produktion von LTC₄ in Basophilen und Eosinophilen nach Kontakt mit MCP-1, nachdem sie vorher mit nur sehr geringen Konzentrationen (0.1-10 ng/ml) von IL-5 vorbehandelt worden waren.¹⁷ Genau in diesem niedrigen Konzentrationsbereich lag das in der vorliegenden Untersuchung nachgewiesene IL-5 (0,10-0,79ng/ml nach 3-8 h). Untersuchungen von Cowburn et al.⁴⁴ bestätigten den Einfluss von IL-5 auf die LTC₄-Produktion Eosinophiler. Dabei setzten die mit IL-5 vorbehandelten Eosinophilen bis zu vierfach erhöhte Mengen an LTC₄ frei. Außerdem wurde eine verstärkte intrazytoplasmatrische Synthese von LTC₄ nachgewiesen.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass IL-5 und MCP-1 gemeinsam an der Modulation der LTC₄-Produktion in der allergischen Spätphase beteiligt sind. Diese synergistische Wirkung scheint nicht nur auf Eosinophile, sondern auch auf andere Zelltypen wie Basophile zuzutreffen.

Die stark erhöhten LTC₄-Werte nach 6 h stimmten mit dem erneuten Anstieg der QoL-Symptome: Niesreiz, Nase läuft, Nase verstopft und Gesamtbefinden überein. Im Zusammenhang mit allergischen Erkrankungen sind Leukotriene bekannt für eine Steigerung der Gefäßpermeabilität.⁷⁷

Allerdings waren keinerlei Korrelationen mit den QoL-Symptomen in der Spätphase nachweisbar.

Allein das Gesamtprotein, das zu diesem Zeitpunkt seinen starken Spätphasengipfel zeigte, korrelierte nach 6 h mit LTC₄ ($P < 0,01$). Dies unterstützt die These, dass LTC₄ an der erneuten Sekretionssteigerung in der Spätphase beteiligt ist. Es spricht andererseits aber auch dafür, dass LTC₄ nicht alleiniger Auslöser der Spätphasensymptome ist.

Betrachtet man die Wirkungen von LTC₄ genauer, so erscheinen sie paradox. Einerseits führt es zur Kontraktion glatter Muskulatur in den unteren Atemwegen und damit zur Bronchokonstriktion¹², andererseits aber verursacht es auch Vasodilatation und gesteigerte Gefäßpermeabilität.⁴⁸ Vasodilatation ist aber Folge von Muskelrelaxation.

An pulmonalen Gefäßzellen wurde *in vitro* die Existenz von bisher zwei verschiedenen Leukotrienrezeptoren (CysLT) nachgewiesen.²⁰⁷ Der Typ und die Lokalisation der Rezeptoren beeinflusste demnach, ob es zu Kontraktion oder zu Relaxation des Gefäßes kam. Auch waren in unterschiedlichen Gefäßtypen die Rezeptoren unterschiedlich verteilt. In Lungenvenen wurden ein endothelständiger CysLT1 Rezeptor und ein CysLT2 Rezeptor sowohl am Endothel als auch auf den glatten Muskelzellen nachgewiesen. Bei Lungenarterien dagegen wurde noch kein Rezeptor auf glatten Muskelzellen nachgewiesen. Der endotheliale CysLT1 Rezeptor verursachte Kontraktion glatter Muskulatur. Der endotheliale CysLT2 Rezeptor relaxierte glatte Muskulatur. Aktivierung des CysLT2 Rezeptors auf glatter Muskulatur von Lungenvenen dagegen führte ebenfalls zu Vasokonstriktion.

Das Vorhandensein einer ähnlichen Verteilung der Leukotrienrezeptoren auf den venösen Sinusoiden der Nasenschleimhaut wurde bisher noch nicht nachgewiesen, erscheint aber durchaus wahrscheinlich.

Die Relaxation glatter Muskulatur über den CysLT2 Rezeptor geschieht einerseits über die Bildung von NO, andererseits aber auch über Produkte der Cyclooxygenase.²⁰⁷

Wie bereits unter 1.5.7 beschrieben, steuert LTC₄ über eine Steigerung der Aktionspotentialfrequenz die Sekretion von Neurotransmittern. Damit leistet es einen Beitrag zur Hyperreagibilität der Mukosa.

Es wurde deutlich, dass LTC₄ das allergische Geschehen auf äußerst komplexe Art und Weise moduliert.

Zukünftige Untersuchungen sollten den konzentrationsabhängigen Wirkungen von LTC₄ an den unterschiedlichen Rezeptortypen gelten. Vorstellbar ist eine unterschiedliche Affinität der Rezeptoren je nach Konzentration. Damit würde LTC₄ in unterschiedlichen Konzentration zu unterschiedlichen Zeitpunkten der allergischen Reaktion antagonistische Wirkungen an den gleichen Endorganen verursachen. Damit könnte geklärt werden, warum trotz des Vorliegens wesentlich höherer LTC₄-Werte in der Spätphase, Sekretion und Vasodilatation in der Spätphase doch deutlich geringer ausfallen als in der Frühphase.

5. Zusammenfassung

Mit ihrer in Deutschland pro Jahrzehnt stetig um 3,5 % ansteigenden Prävalenz⁷ und ihrem Anteil von 45 % am Gros der atopischen Erkrankungen¹⁰², ist die allergische Rhinitis ein nicht zu vernachlässigender Morbiditätsfaktor der heutigen Gesellschaft. Die Erforschung und Aufklärung der Pathogenese der allergischen Rhinitis sind wichtige Schritte zur Auffindung neuer therapeutischer Methoden und Ansätze zu Prophylaxe, Heilung, Behandlung oder aber zumindest zur Prävention ihrer schwerwiegenden Folgekrankheiten wie etwa der asthmatischen Diathese.

Eine bedeutende Rolle bei Aufrechterhaltung und Chronifizierung der allergischen Entzündung kommt der Spätphase der allergischen Reaktion zu. Die Aufdeckung der immunologischen Vorgänge und Veränderungen auf molekularer und zellulärer Ebene, die zur allergischen Spätphase führen, zeigt sich von vornehmlicher Bedeutung bei dem Unterfangen, den Circulus vitiosus des allergischen Geschehens zu unterbrechen. Die vorliegende Arbeit zur allergischen Rhinitis bedient sich der nasalen Allergenprovokation unter Studienbedingungen als etabliertem Modell zur kontrollierten Allergenexposition. Untersucht wurden 13 Patienten mit nachgewiesener saisonaler allergischer Rhinitis. Die Untersuchung fand außerhalb der Allergiesaison statt. Daten aus einem klinischen und einem experimentellen Teil wurden in Bezug auf das Vorhandensein einer allergischen Früh- und Spätphase statistisch analysiert.

Nach Allergenprovokation wurden über einen Zeitraum von acht Stunden klinische Untersuchungen in Form von Fragebögen zur Lebensqualität und rhinometrische Messungen durchgeführt. Außerdem wurde Nasensekret gewonnen und auf freigesetzte Mediatoren untersucht.

Die Analyse der 10 Fragen zur Lebensqualität ergab, dass sich Niesreiz, Rhinorrhoe und Gesamtbefinden zur Erfassung von Früh- und Spätphase der allergischen Reaktion am besten eignen. Der die Spätphase einleitende Niesreiz unterstreicht die Beteiligung einer neurogenen Komponente an der Entwicklung der Spätphasenreaktion. Dies kann als Hinweis auf eine Aktivierung des autonomen Nervensystems gesehen werden. Das eingeschränkte Gesamtbefinden war das am längsten vorhandene Symptom und spiegelte damit das Vorhandensein pathologischer Vorgänge wider. Es korrelierte am besten mit der nasalen Obstruktion. Das Symptom Obstruktion dagegen belegte im Stärkevergleich der Frühphase nur einen sechsten Platz und wurde in der Spätphase kaum noch subjektiv von den Patienten wahrgenommen. Auch wurde die nasale Obstruktion von den Patienten in Früh- und Spätphase erst deutlich später wahrgenommen als die anderen Symptome. Allerdings sprach gerade die hoch signifikante Korrelation (Tab. 2) der Obstruktion mit den Rhinometriewerten in Früh- und Spätphase für eine hohe Sensitivität der visuellen Analogskala zur Darstellung geringster Veränderungen des subjektiven Empfindens.

Die akustische Rhinometrie erwies sich als einfach durchzuführende und sensitive Methode, die Frühphase und Spätphase der allergischen Sofortreaktion nachzuweisen. Bei individueller Beurteilung des Verlaufs der Rhinometriewerte zeigte sich bei 100 % der Patienten eine starke Frühphasenobstruktion und bei 92 % eine weniger ausgeprägte Spätphase. Es konnten vier Reaktionstypen unterschieden werden: keine Spätphase (8 %), eine einseitige Spätphase (8 %), eine zweiseitige Spätphase (15 %), und eine alternierende Spätphase (69 %).

Der dominierende alternierende Reaktionstyp ähnelte dabei einem Nasenzyklus, zeigte allerdings ein stärker ausgeprägtes Verhältnis von jeweils offener zu geschlossener Seite (3:1), als das bei einem normalen Nasenzyklus der Fall wäre (das normale Verhältnis entspricht 2:1). Dies kann als Zeichen einer physiologischen Hyperreagibilität der Mukosa in der Spätphase gewertet werden, die auch unter Allergenexposition noch eine ausreichende Ventilation garantiert.

Die Analyse der Nasensekretproben auf Zytokine und Chemokine der allergischen Früh- und Spätphase erfolgte unter besonderer Berücksichtigung ihrer Wirkung auf eosinophile Granulozyten.

Die Frühphase zeigte sich nach 10 min besonders ausgeprägt in der Zunahme des Sekretvolumens ($P=0,005$) und des Gesamtproteins ($P=0,013$). Weniger ausgeprägt und nicht signifikant waren die initialen Anstiege von IL-8, LTC₄ und sVCAM-1. Der schnelle Anstieg von IL-8 kann im Zusammenhang mit einer die Entzündungsreaktion einleitenden, kurzfristigen Margination neutrophiler Granulozyten gesehen werden.

Auch in der Spätphase nach 5-7 h kam es zu einer erneuten Zunahme des Sekretvolumens (nicht signifikant). Vor allem aber der Anstieg im Gesamtprotein ($P=0,021$) war ähnlich hoch ausgeprägt wie in der Frühphase, hielt aber etwa drei mal so lange an (2-3 h statt 45 min).

In der Spätphase zeigte sich zunächst ein stetiger Anstieg des typischen T_H2-Zytokins IL-5, das nach 6 h Maximalwerte erreichte ($P=0,008$). Sein zeitlicher Vorsprung vor den ersten erhöhten ECP-Werten reflektierte die dem Influx von Eosinophilen vorausgehende Aktivierung von T_H2-Lymphozyten. IL-5 korrelierte in der Spätphase am besten mit den QoL-Symptomen (Tab. 7). Der typische Eosinophilenmarker ECP stieg nach 2 h stetig an und erreichte nach 8 h Maximalwerte ($P=0,028$). Er stand für den Influx der Eosinophilen an den Ort der Entzündung. Erstaunlich war die Feststellung, dass sich das subjektive Empfinden in den QoL-Symptomen mit zunehmender Eosinophilie besserte und sogar Werte unterhalb der Ausgangswerte erreichte. Die Anstiege von Eotaxin ($P=0,018$ nach 8 h) liefen weitgehend parallel zu denen von IL-5. Die Korrelationen dieser beiden Transmitter (Tab.9) ab der zweiten Stunde unterstreichen die synergistische Funktion von IL-5 und Eotaxin in der Differenzierung, Rekrutierung und Aktivierung von Eosinophilen. Korrelationen von Eotaxin (Tab. 9) mit ECP und vor allem sVCAM-1 (Anstiege in der Spätphase, aber nicht signifikant) über viele Stunden hinweg, können als Hinweis auf eine Beteiligung von Eotaxin bei der Loslösung Eosinophiler aus ihrer Adhäsion an Endothelzellen interpretiert werden. Somit kommt Eotaxin bei der Immigration Eosinophiler eine bedeutende Rolle zu. Korrelationen (Tab.8) von ECP und Eotaxin auch mit dem in der Spätphase mäßig ansteigenden IL-8 ($P=0,028$ nach 5 h) sprechen für eine Beteiligung auch von IL-8 an der Rekrutierung Eosinophiler, die auf einer Affinitätssteigerung Eosinophiler für IL-8 nach Eotaxin-Kontakt (Priming) beruhen könnte.

Maximale Anstiege des CC-Chemokins MCP-1 nach 6 h ($P=0,018$) sprechen für eine modulierende Rolle von MCP-1 in der allergischen Spätphase. Korrelationen mit ECP (Tab. 4) und Eotaxin (Tab. 9) weisen auf eine aktivierende Wirkung auf Eosinophile hin. Korrelationen mit IL-5 (Tab. 6) deuten an, dass es sich bei MCP-1 um ein typisches T_H2-Zytokin handeln könnte.

Die CC-Chemokine RANTES und MCP-3 waren dagegen nicht nachzuweisen. Ihnen fällt in den ersten 8 h der allergischen Reaktion in diesem Modell keine Rolle zu. Sie sind wahrscheinlich eher den Vorgängen im Rahmen von T_H1-Zytokin dominierten Reaktionen zuzuordnen.

Während die Degranulation von Mastzellen und Basophilen vermutlich für den geringen LTC₄ Anstieg in der Frühphase verantwortlich waren, bleibt die Frage nach dem Ursprung des wesentlich stärker ausgeprägten, plötzlichen LTC₄ Anstiegs (nicht signifikant) nach 5-6 h noch zu klären. Höchstwahrscheinlich stammt das nachgewiesene LTC₄ nicht alleine aus Eosinophilen, da keinerlei Korrelationen mit ECP nachzuweisen waren. Ein Zusammenspiel von neurogenen und immunologischen Vorgängen lässt sich hier nur vermuten. Abschließend lässt sich sagen, dass alle drei verwendeten Methoden das Vorhandensein der allergischen Früh- und Spätphase jede für sich bestätigten und aus verschiedenen Blickwinkeln beleuchteten. Erst aber ihre Kombination miteinander bot die Möglichkeit zu einem umfassenden Überblick über die komplexen Vorgänge im Rahmen des allergischen Geschehens.

6. Literaturverzeichnis

- (1) **Alam R, Stafford S, Forsythe P, Harrison R.** RANTES is a chemotactic and activating factor for human eosinophils. *J Immunol.* 1993;150:3442-3448.
- (2) **Altman LC, Ayars GH, Baker C, Luchtel DL.** Cytokines and eosinophil-derived cationic proteins upregulate intercellular adhesion molecule-1 on human nasal epithelial cells. *J Allergy Clin Immunol.* 1993;92:527-536.
- (3) **Amerio P, Frezzolini A, Feliciani C, Verdolini R.** Eotaxins and CCR3 receptor in inflammatory and allergic skin diseases: therapeutic implications. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2003;2:81-94.
- (4) **Appay V, Rowland-Jones SL.** RANTES: a versatile and controversial chemokine. *Trends Immunol.* 2001;22:83-87.
- (5) **Bachert C.** Histamine-a major role in allergy? *Clin Exp Allergy.* 1998;28 Suppl 6:15-19.
- (6) **Bachert C.** Allergic inflammation in the nose: mediators and adhesion molecules. *Allergy.* 1999;54 Suppl 56:21-22.
- (7) **Bachert C, Behrendt H, Diepgen T, Fuchs T.** Weißbuch - Allergie in Deutschland 2000. München: Urban und Vogel Medien- und Medizin-Verl.-Ges.; 2000.
- (8) **Bacon KB, Premack BA, Gardner P, Schall TJ.** Activation of dual T cell signaling pathways by the chemokine RANTES. *Science.* 1995;269:1727-1730.
- (9) **Baggiolini M.** Chemokines and leukocyte traffic. *Nature.* 1998;392:565-568.
- (10) **Bandeira-Melo C, Bozza PT, Weller PF.** The cellular biology of eosinophil eicosanoid formation and function. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;109:393-400.
- (11) **Baraniuk JN.** Pathogenesis of allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 1997;99 Suppl 2:S763-S772.
- (12) **Barnes NC, Piper PJ, Costello JF.** Comparative actions of inhaled leukotriene C4, leukotriene D4 and histamine in normal human subjects. *Thorax.* 1984;39:500-504.
- (13) **Bascom R, Wachs M, Naclerio RM, Pipkorn U.** Basophil influx occurs after nasal antigen challenge: effects of topical corticosteroid pretreatment. *J Allergy Clin Immunol.* 1988;81:580-589.
- (14) **Belperio JA, Keane MP, Arenberg DA, Addison CL.** CXC chemokines in angiogenesis. *J Leukoc Biol.* 2000;68:1-8.
- (15) **Bentley AM, Jacobson MR, Cumberworth V, Barkans JR.** Immunohistology of the nasal mucosa in seasonal allergic rhinitis: increases in activated eosinophils and epithelial mast cells. *J Allergy Clin Immunol.* 1992;89:877-883.
- (16) **Bischoff SC, Brunner T, De Weck AL, Dahinden CA.** Interleukin 5 modifies histamine release and leukotriene generation by human basophils in response to diverse agonists. *J Exp Med.* 1990;172:1577-1582.
- (17) **Bischoff SC, Krieger M, Brunner T, Dahinden CA.** Monocyte chemotactic protein 1 is a potent activator of human basophils. *J Exp Med.* 1992;175:1271-1275.
- (18) **Bischoff SC, Krieger M, Brunner T, Rot A.** RANTES and related chemokines activate human basophil granulocytes through different G protein-coupled receptors. *Eur J Immunol.* 1993;23:761-767.
- (19) **Bochner BS, Klunk DA, Sterbinsky SA, Coffman RL, Schleimer RP.** IL-13 selectively induces vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *J Immunol.* 1995;154:799-803.
- (20) **Bochner BS, Schleimer RP.** The role of adhesion molecules in human eosinophil and basophil recruitment. *J Allergy Clin Immunol.* 1994;94:427-438.

- (21) **Boniface S, Magnan A.** [Pathophysiology of the IgE-dependent reaction in respiratory allergy]. *Rev Pneumol Clin.* 2003;59:77-83.
- (22) **Borish L.** The role of leukotrienes in upper and lower airway inflammation and the implications for treatment. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002;88 Suppl 1:16-22.
- (23) **Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltaev N.** Allergic rhinitis and its impact on asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;108 Suppl 5:S147-S334.
- (24) **Bousquet J, Vignola AM, Campbell AM, Michel FB.** Pathophysiology of allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol.* 1996;110:207-218.
- (25) **Bradding P, Feather IH, Wilson S, Bardin PG.** Immunolocalization of cytokines in the nasal mucosa of normal and perennial rhinitic subjects. The mast cell as a source of IL-4, IL-5, and IL-6 in human allergic mucosal inflammation. *J Immunol.* 1993;151:3853-3865.
- (26) **Bradding P, Roberts JA, Britten KM, Montefort S.** Interleukin-4, -5, and -6 and tumor necrosis factor- α in normal and asthmatic airways: evidence for the human mast cell as a source of these cytokines. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1994;10:471-480.
- (27) **Braun RK, Franchini M, Erard F, Rihs S.** Human peripheral blood eosinophils produce and release interleukin-8 on stimulation with calcium ionophore. *Eur J Immunol.* 1993;23:956-960.
- (28) **Brocklehurst WE.** The release of histamine and formation of a slow-reacting substance (SRS-A) during anaphylactic shock. *J Physiol.* 1960;416-435.
- (29) **Broide D, Sriramarao P.** Eosinophil trafficking to sites of allergic inflammation. *Immunol Rev.* 2001;179:163-172.
- (30) **Broide DH.** Molecular and cellular mechanisms of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;108 Suppl 2:S65-S71.
- (31) **Busse WW.** Leukotrienes and inflammation. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157 Suppl:S210-S213.
- (32) **Canonica GW.** Adhesion molecules in allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 1997;7:274-276.
- (33) **Cheng SS, Lukacs NW, Kunkel SL.** Eotaxin/CCL11 suppresses IL-8/CXCL8 secretion from human dermal microvascular endothelial cells. *J Immunol.* 2002;168:2887-2894.
- (34) **Chihara J, Urayama O, Tsuda A, Kakazu T.** Eosinophil cationic protein induces insulin-like growth factor I receptor expression on bronchial epithelial cells. *Int Arch Allergy Immunol.* 1996;111 Suppl 1:43-45.
- (35) **Chihara J, Yamamoto T, Kayaba H, Kakazu T.** Degranulation of eosinophils mediated by intercellular adhesion molecule-1 and its ligands is involved in adhesion molecule expression on endothelial cells-selective induction of VCAM-1. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103 Suppl 5:S452-S456.
- (36) **Christodoulopoulos P, Wright E, Frenkiel S, Luster A, Hamid Q.** Monocyte chemotactic proteins in allergen-induced inflammation in the nasal mucosa: effect of topical corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103:1036-1044.
- (37) **Clement PA.** Committee report on standardization of rhinomanometry. *Rhinology.* 1984;22:151-155.
- (38) **Clement PA.** Rhinomanometry. *Allergy.* 1997;52:26-27.
- (39) **Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Arya SK.** Identification of RANTES, MIP-1 α , and MIP-1 β as the major HIV-suppressive factors produced by CD8⁺ T cells. *Science.* 1995;270:1811-1815.
- (40) **Collins PD, Marleau S, Griffiths-Johnson DA, Jose PJ, Williams TJ.** Cooperation between interleukin-5 and the chemokine eotaxin to induce eosinophil accumulation in vivo. *J Exp Med.* 1995;182:1169-1174.

- (41) **Connell JT.** Quantitative intranasal pollen challenges. 3. The priming effect in allergic rhinitis. *J Allergy*. 1969;43:33-44.
- (42) **Corrado OJ, Ollier S, Phillips MJ, Thomas JM, Davies RJ.** Histamine and allergen induced changes in nasal airways resistance measured by anterior rhinomanometry: reproducibility of the technique and the effect of topically administered antihistaminic and anti-allergic drugs. *Br J Clin Pharmacol*. 1987;24:283-292.
- (43) **Corrigan CJ, Haczku A, Gemou-Engesaeth V, Doi S.** CD4 T-lymphocyte activation in asthma is accompanied by increased serum concentrations of interleukin-5. Effect of glucocorticoid therapy. *Am Rev Respir Dis*. 1993;147:540-547.
- (44) **Cowburn AS, Holgate ST, Sampson AP.** IL-5 increases expression of 5-lipoxygenase-activating protein and translocates 5-lipoxygenase to the nucleus in human blood eosinophils. *J Immunol*. 1999;163:456-65.
- (45) **de Graaf-in't V, Koenders S, Garrelds IM, Gerth vW.** The relationships between nasal hyperreactivity, quality of life, and nasal symptoms in patients with perennial allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;98:508-513.
- (46) **Douglass JA, Dhimi D, Gurr CE, Bulpitt M.** Influence of interleukin-8 challenge in the nasal mucosa in atopic and nonatopic subjects. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;150:1108-1113.
- (47) **Drazen JM, Arm JP, Austen KF.** Sorting out the cytokines of asthma. *J Exp Med*. 1996;183:1-5.
- (48) **Drazen JM, Austen KF, Lewis RA, Clark DA.** Comparative airway and vascular activities of leukotrienes C-1 and D in vivo and in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1980;77:4354-4358.
- (49) **Drettner B.** Physiologie und Pathophysiologie der Nase. In: Naumann H, Helms J, Herberhold C, Kastenbauer E, eds. *Oto-Rhino-Laryngologie in Klinik und Praxis*. Bd.2. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1992:40-48.
- (50) **Dubucquoi S, Desreumaux P, Janin A, Klein O.** Interleukin 5 synthesis by eosinophils: association with granules and immunoglobulin-dependent secretion. *J Exp Med*. 1994;179:703-708.
- (51) **Durham SR.** The inflammatory nature of allergic disease. *Clin Exp Allergy*. 1998;28 Suppl 6:20-24.
- (52) **Dvoracek JE, Yunginger JW, Kern EB, Hyatt RE, Gleich GJ.** Induction of nasal late-phase reactions by insufflation of ragweed-pollen extract. *J Allergy Clin Immunol*. 1984;73:363-368.
- (53) **Eccles R.** Sympathetic control of nasal erectile tissue. *Eur Respir J*. 1983;64:150f.
- (54) **Eccles R.** Plasma exudation in rhinitis. *Clin Exp Allergy*. 1992;22:319-320.
- (55) **Eccles R.** Pathophysiology of nasal symptoms. *Am J Rhinol*. 2000;14:335-338.
- (56) **Eccles R, Reilly M, Eccles KS.** Changes in the amplitude of the nasal cycle associated with symptoms of acute upper respiratory tract infection. *Acta Otolaryngol*. 1996;116:77-81.
- (57) **Eccles RB.** The nasal cycle in respiratory defence. *Acta Otorhinolaryngol Belg*. 2000;54:281-286.
- (58) **Eichner H.** [A new method to get pure nasal secretions (author's transl)]. *Laryngol Rhinol Otol (Stuttg)*. 1979;58:269-275.
- (59) **Ellis AK, Day JH, Lundie MJ.** Impact on quality of life during an allergen challenge research trial. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1999;83:33-39.
- (60) **Ellis JL, Udem BJ.** Role of peptidoleukotrienes in capsaicin-sensitive sensory fibre-mediated responses in guinea-pig airways. *J Physiol*. 1991;436:469-84:469-484.
- (61) **Forssmann U, Magert HJ, Adermann K, Escher SE, Forssmann WG.** Hemofiltrate CC chemokines with unique biochemical properties: HCC-1/CCL14a and HCC-2/CCL15. *J Leukoc Biol*. 2001;70:357-366.

- (62) **Fujisawa T, Kato Y, Nagase H, Atsuta J.** Chemokines induce eosinophil degranulation through CCR-3. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;106:507-513.
- (63) **Gangur V, Oppenheim JJ.** Are chemokines essential or secondary participants in allergic responses? *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2000;84:569-579.
- (64) **Garcia-Zepeda EA, Combadiere C, Rothenberg ME, Sarafi MN.** Human monocyte chemoattractant protein (MCP)-4 is a novel CC chemokine with activities on monocytes, eosinophils, and basophils induced in allergic and nonallergic inflammation that signals through the CC chemokine receptors (CCR)-2 and -3. *J Immunol.* 1996;157:5613-5626.
- (65) **Garcia-Zepeda EA, Rothenberg ME, Ownbey RT, Celestin J.** Human eotaxin is a specific chemoattractant for eosinophil cells and provides a new mechanism to explain tissue eosinophilia. *Nat Med.* 1996;2:449-456.
- (66) **Gell PGH, Coombs RRH.** The classification of allergic reactions and underlying disease. *Clinical Aspects of Immunology.* Davis, Philadelphia: 1963:317.
- (67) **Gibson PG, Manning PJ, O'Byrne PM, Girgis-Gabardo A.** Allergen-induced asthmatic responses. Relationship between increases in airway responsiveness and increases in circulating eosinophils, basophils, and their progenitors. *Am Rev Respir Dis.* 1991;143:331-335.
- (68) **Gleeson MJ, Youlten LJ, Shelton DM, Siodlak MZ.** Assessment of nasal airway patency: a comparison of four methods. *Clin Otolaryngol.* 1986;11:99-107.
- (69) **Gomez E, Corrado OJ, Baldwin DL, Swanston AR, Davies RJ.** Direct in vivo evidence for mast cell degranulation during allergen-induced reactions in man. *J Allergy Clin Immunol.* 1986;78:637-645.
- (70) **Gonzalo JA, Lloyd CM, Kremer L, Finger E.** Eosinophil recruitment to the lung in a murine model of allergic inflammation. The role of T cells, chemokines, and adhesion receptors. *J Clin Invest.* 1996;98:2332-2345.
- (71) **Gonzalo JA, Lloyd CM, Wen D, Albar JP.** The coordinated action of CC chemokines in the lung orchestrates allergic inflammation and airway hyperresponsiveness. *J Exp Med.* 1998;188:157-167.
- (72) **Greenfeder S, Umland SP, Cuss FM, Chapman RW, Egan RW.** Th2 cytokines and asthma. The role of interleukin-5 in allergic eosinophilic disease. *Respir Res.* 2001;2 (2):71-79.
- (73) **Greiff L, Petersen H, Mattsson E, Andersson M.** Mucosal output of eotaxin in allergic rhinitis and its attenuation by topical glucocorticosteroid treatment. *Clin Exp Allergy.* 2001;31:1321-1327.
- (74) **Gu L, Tseng S, Horner RM, Tam C.** Control of TH2 polarization by the chemokine monocyte chemoattractant protein-1. *Nature.* 2000;404:407-411.
- (75) **Gutierrez-Ramos JC, Lloyd C, Gonzalo JA.** Eotaxin: from an eosinophilic chemokine to a major regulator of allergic reactions. *Immunol Today.* 1999;20:500-504.
- (76) **Handzel ZT, Busse WW, Sedgwick JB, Vrtis R.** Eosinophils bind rhinovirus and activate virus-specific T cells. *J Immunol.* 1998;160:1279-1284.
- (77) **Henderson WRJ, Lewis DB, Albert RK, Zhang Y.** The importance of leukotrienes in airway inflammation in a mouse model of asthma. *J Exp Med.* 1996;184:1483-1494.
- (78) **Hilberg O, Jackson AC, Swift DL, Pedersen OF.** Acoustic rhinometry: evaluation of nasal cavity geometry by acoustic reflection. *J Appl Physiol.* 1989;66:295-303.
- (79) **Hilberg O, Jensen FT, Pedersen OF.** Nasal airway geometry: comparison between acoustic reflections and magnetic resonance scanning. *J Appl Physiol.* 1993;75:2811-2819.
- (80) Holgate ST, Church M. *Allergologie.* Wiesbaden: Ullstein Mosby; 1996:193-202.
- (81) **Holmberg K, Bake B, Pipkorn U.** Mucosal blood flow in the human nose following local challenge with histamine. *Allergy.* 1989;44:45-51.

- (82) **Horikawa K, Kaku H, Nakajima H, Davey HW.** Essential role of Stat5 for IL-5-dependent IgH switch recombination in mouse B cells. *J Immunol.* 2001;167:5018-5026.
- (83) **Howarth PH.** Leukotrienes in rhinitis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161(2 Pt 2):S133-S136.
- (84) **Howarth PH, Salagean M, Dokic D.** Allergic rhinitis: not purely a histamine-related disease. *Allergy.* 2000;55 Suppl 64:7-16.
- (85) **Humbles AA, Conroy DM, Marleau S, Rankin SM.** Kinetics of eotaxin generation and its relationship to eosinophil accumulation in allergic airways disease: analysis in a guinea pig model in vivo. *J Exp Med.* 1997;186:601-612.
- (86) **Humbles AA, Lu B, Friend DS, Okinaga S.** The murine CCR3 receptor regulates both the role of eosinophils and mast cells in allergen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:1479-1484.
- (87) **Iliopoulos O, Proud D, Adkinson NF, Norman PS.** Relationship between the early and late, and rechallenge reaction to nasal challenge with antigen: observations on the role of inflammatory mediators and cells. *J Allergy Clin Immunol.* 1990;86:851-61.
- (88) **Izumi S, Hirai K, Miyamasu M, Takahashi Y.** Expression and regulation of monocyte chemoattractant protein-1 by human eosinophils. *Eur J Immunol.* 1997;27:816-824.
- (89) **Jackson AC, Butler JP, Millet EJ, Hoppin FGJ, Dawson SV.** Airway geometry by analysis of acoustic pulse response measurements. *J Appl Physiol.* 1977;43:523-536.
- (90) **Jacobi HH, Poulsen LK, Reimert CM, Skov PS.** IL-8 and the Activation of Eosinophils and Neutrophils following Nasal Allergen Challenge. *Int Arch Allergy Immunol.* 1998;116:53-59.
- (91) **Jahnsen FL, Haraldsen G, Aanesen JP, Haye R, Brandtzaeg P.** Eosinophil infiltration is related to increased expression of vascular cell adhesion molecule-1 in nasal polyps. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1995;12:624-632.
- (92) **Juniper EF.** Measuring health-related quality of life in rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 1997;99:S742-S749.
- (93) **Juniper EF.** Rhinitis management: the patient's perspective. *Clin Exp Allergy.* 1998;28 Suppl 6:34-38.
- (94) **Juniper EF, Guyatt GH.** Development and testing of a new measure of health status for clinical trials in rhinoconjunctivitis. *Clin Exp Allergy.* 1991;21:77-83.
- (95) **Juniper EF, Thompson AK, Ferrie PJ, Roberts JN.** Development and validation of the mini Rhinoconjunctivitis Quality of Life Questionnaire. *Clin Exp Allergy.* 2000;30:132-140.
- (96) **Kaplan AP.** Chemokines, chemokine receptors and allergy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2001;124:423-431.
- (97) **Kenney JS, Baker C, Welch MR, Altman LC.** Synthesis of interleukin-1 alpha, interleukin-6, and interleukin-8 by cultured human nasal epithelial cells. *J Allergy Clin Immunol.* 1994;93:1060-1067.
- (98) **Kitayama J, Mackay CR, Ponath PD, Springer TA.** The C-C chemokine receptor CCR3 participates in stimulation of eosinophil arrest on inflammatory endothelium in shear flow. *J Clin Invest.* 1998;101:2017-2024.
- (99) **Klimek L, Reske-Kunz AB.** Die allergische Reaktion vom Soforttyp. *Spezifische Immuntherapie - Hypo-sensibilisierung.* Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1999:17-23.
- (100) **Kobayashi H, Gleich GJ, Butterfield JH, Kita H.** Human eosinophils produce neurotrophins and secrete nerve growth factor on immunologic stimuli. *Blood.* 2002;99:2214-2220.
- (101) **Koch AE, Polverini PJ, Kunkel SL, Harlow LA.** Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis. *Science.* 1992;258:1798-1801.

- (102) **Kramer MF, Ostertag P, Pfrogner E, Rasp G.** Nasal interleukin-5, immunoglobulin E, eosinophilic cationic protein, and soluble intercellular adhesion molecule-1 in chronic sinusitis, allergic rhinitis, and nasal polyposis. *Laryngoscope*. 2000;110:1056-1062.
- (103) **Kramer MF, Rasp G.** Nasal polyposis: eosinophils and interleukin-5. *Allergy*. 1999;54:669-680.
- (104) **Kuna P, Alam R, Ruta U, Gorski P.** RANTES induces nasal mucosal inflammation rich in eosinophils, basophils, and lymphocytes in vivo. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157:873-879.
- (105) **Kuna P, Lazarovich M, Kaplan AP.** Chemokines in seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;97:104-112.
- (106) **Kuna P, Reddigari SR, Rucinski D, Oppenheim JJ, Kaplan AP.** Monocyte chemotactic and activating factor is a potent histamine-releasing factor for human basophils. *J Exp Med*. 1992;175:484-493.
- (107) **Kuna P, Reddigari SR, Schall TJ, Rucinski D.** RANTES, a monocyte and T lymphocyte chemotactic cytokine releases histamin form human basophils. *J Immunol*. 1992;149:636-642.
- (108) **Lacy P, Moqbel R.** Immune effector functions of eosinophils in allergic airway inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2001;1:79-84.
- (109) **Lane AP, Zweiman B, Lanza DC, Swift D.** Acoustic rhinometry in the study of the acute nasal allergic response. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1996;105:811-818.
- (110) **Laterveer L, Lindley IJ, Hamilton MS, Willemze R, Fibbe WE.** Interleukin-8 induces rapid mobilization of hematopoietic stem cells with radioprotective capacity and long-term myelolymphoid repopulating ability. *Blood*. 1995;85:2269-2275.
- (111) **Lebel B, Bousquet J, Morel A, Chanal I.** Correlation between the symptoms and the threshold for release of mediators in nasal secretions during nasal challenge with grass-pollen grains. *J Allergy Clin Immunol*. 1988;869-877.
- (112) **Lee BJ, Naclerio RM, Bochner BS, Taylor RM.** Nasal challenge with allergen upregulates the local expression of vascular endothelial adhesion molecules. *J Allergy Clin Immunol*. 1994;94:1006-1016.
- (113) **Lukacs NW.** Migration of helper T-lymphocyte subsets into inflamed tissues. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;106 Suppl. 5:S264-S269.
- (114) **Lund VJ.** Nasal physiology: neurochemical receptors, nasal cycle, and ciliary action. *Allergy Asthma Proc*. 1996;17:179-184.
- (115) **Lundblad L, Lundberg JM, Brodin E, Anggard A.** Origin and distribution of capsaicin-sensitive substance P-immunoreactive nerves in the nasal mucosa. *Acta Otolaryngol*. 1983;96:485-493.
- (116) **Luscinskas FW, Kiely JM, Ding H, Obin MS.** In vitro inhibitory effect of IL-8 and other chemoattractants on neutrophil-endothelial adhesive interactions. *J Immunol*. 1992;149:2163-2171.
- (117) **MacGlashan DWJ, Schleimer RP, Peters SP, Schulman ES.** Generation of leukotrienes by purified human lung mast cells. *J Clin Invest*. 1982;70:747-751.
- (118) **Marini M, Vittori E, Hollemborg J, Mattoli S.** Expression of the potent inflammatory cytokines, granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor and interleukin-6 and interleukin-8, in bronchial epithelial cells of patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1992;89:1001-1009.
- (119) **Marleau S, Griffiths-Johnson DA, Collins PD, Bakhle YS.** Human RANTES acts as a receptor antagonist for guinea pig eotaxin in vitro and in vivo. *J Immunol*. 1996;157:4141-4146.
- (120) **Marom Z, Shelhamer JH, Bach MK, Morton DR, Kaliner M.** Slow-reacting substances, leukotrienes C4 and D4, increase the release of mucus from human airways in vitro. *Am Rev Respir Dis*. 1982;126:449-451.
- (121) **Mayhew TM, O'Flynn P.** Validation of acoustic rhinometry by using the Cavalieri principle to estimate nasal cavity volume in cadavers. *Clin Otolaryngol*. 1993;18:220-225.

- (122) **McAlexander MA, Myers AC, Undem BJ.** Inhibition of 5-lipoxygenase diminishes neurally evoked tachykinergic contraction of guinea pig isolated airway. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;285:602-607.
- (123) **Menten P, Wuyts A, Van Damme J.** Monocyte chemotactic protein-3. *Eur Cytokine Netw.* 2001;12:554-560.
- (124) **Minamitake Y, Kodama S, Katayama T, Adachi H.** Structure of recombinant human interleukin 5 produced by Chinese hamster ovary cells. *J Biochem (Tokyo).* 1990;107:292-297.
- (125) **Minshall EM, Cameron L, Lavigne F, Leung DY.** Eotaxin mRNA and protein expression in chronic sinusitis and allergen-induced nasal responses in seasonal allergic rhinitis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1997;17:683-690.
- (126) **Moller A, Lippert U, Lessmann D, Kolde G.** Human mast cells produce IL-8. *J Immunol.* 1993;151:3261-3266.
- (127) **Mori S, Fujieda S, Kimura Y, Takahashi N, Saito H.** Nasal challenge activates the mucociliary transport system on not only the ipsilateral but also the contralateral side of the nose in patients with perennial allergic rhinitis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 2000;62:303-306.
- (128) **Morohashi H, Miyawaki T, Nomura H, Kuno K.** Expression of both types of human interleukin-8 receptors on mature neutrophils, monocytes, and natural killer cells. *J Leukoc Biol.* 1995;57:180-187.
- (129) **Mosmann TR, Coffman RL.** TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol.* 1989;7:145-173.
- (130) **Mould AW, Matthaei KI, Young IG, Foster PS.** Relationship between interleukin-5 and eotaxin in regulating blood and tissue eosinophilia in mice. *J Clin Invest.* 1997;99:1064-1071.
- (131) **Mullol J, Raphael GD, Lundgren JD, Baraniuk JN.** Comparison of human nasal mucosal secretion in vivo and in vitro. *J Allergy Clin Immunol.* 1992;89:584-592.
- (132) **Murphy PM, Baggiolini M, Charo IF.** International Union of Pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol Rev.* 2000;52:145-176.
- (133) **Naclerio RM.** Pathophysiology of perennial allergic rhinitis. *Allergy.* 1997;52:7-13.
- (134) **Naclerio RM, Baroody FM.** Observations on the response of the nasal mucosa to allergens. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1994;111:355-363.
- (135) **Naclerio RM, Meier HL, Kagey-Sobotka A, Adkinson NFJ.** Mediator release after nasal airway challenge with allergen. *Am Rev Respir Dis.* 1983;128:597-602.
- (136) **Naclerio RM, Proud D, Togias AG, Adkinson NFJ.** Inflammatory mediators in late antigen-induced rhinitis. *N Engl J Med.* 1985;313:65-70.
- (137) **Nakajima T, Yamada H, Iikura M, Miyamasu M.** Intracellular localization and release of eotaxin from normal eosinophils. *FEBS Lett.* 1998;434:226-230.
- (138) **Nonaka M, Nonaka R, Jordana M, Dolovich J.** GM-CSF, IL-8, IL-1R, TNF-alpha R, and HLA-DR in nasal epithelial cells in allergic rhinitis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;153:1675-1681.
- (139) **Numata T, Konno A, Terada N, Hanazawa T.** Role of vascular reflex in nasal mucosal swelling in nasal allergy. *Laryngoscope.* 2000;110 (2.Pt.1):297-302.
- (140) **Ohashi Y, Nakai Y, Tanaka A, Kakinoki Y.** Soluble vascular cell adhesion molecule-1 in perennial allergic rhinitis. *Acta Otolaryngol.* 1998;118:105-109.
- (141) **Ohnishi T, Sur S, Collins DS, Fish JE.** Eosinophil survival activity identified as interleukin-5 is associated with eosinophil recruitment and degranulation and lung injury twenty-four hours after segmental antigen lung challenge. *J Allergy Clin Immunol.* 1993;92:607-615.

- (142) **Parikh SA, Cho SH, Oh CK.** Preformed enzymes in mast cell granules and their potential role in allergic rhinitis. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2003;3:266-272.
- (143) **Passalacqua G, Montagna P, Pesce G, Canonica GW, Bagnasco M.** Adhesion molecules in allergy. *Allerg Immunol (Paris).* 1996;28:34-38.
- (144) **Patella V, de Crescenzo G, Marino I, Genovese A.** Eosinophil granule proteins activate human heart mast cells. *J Immunol.* 1996;157:1219-1225.
- (145) **Pelikan Z.** Late and delayed responses of the nasal mucosa to allergen challenge. *Ann Allergy.* 1978;41:37-47.
- (146) **Pipkorn U.** Hay fever: In the laboratory and at natural allergen exposure. *Allergy.* 1988;8:41-44.
- (147) **Pirquet C.** Allergie. *Münch med Wochschr.* 1906.
- (148) **Polentarutti N, Introna M, Sozzani S, Mancinelli R.** Expression of monocyte chemotactic protein-3 in human monocytes and endothel cells. *Eur Cytokine Netw.* 1997;8:271-274.
- (149) **Ponath PD, Qin S, Ringler DJ, Clark-Lewis I.** Cloning of the human eosinophil chemoattractant, eotaxin. Expression, receptor binding, and functional properties suggest a mechanism for the selective recruitment of eosinophils. *J Clin Invest.* 1996;97:604-612.
- (150) **Rajakulasingam K, Hamid Q, O'Brien F, Shotman E.** RANTES in human allergen-induced rhinitis: cellular source and relation to tissue eosinophilia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;155:696-703.
- (151) **Raphael GD, Baraniuk JN, Kaliner MA.** How and why the nose runs. *J Allergy Clin Immunol.* 1991;87:457-467.
- (152) **Raphael GD, Druce HM, Baraniuk JN, Kaliner MA.** Pathophysiology of rhinitis. 1. Assessment of the sources of protein in methacholine-induced nasal secretions. *Am Rev Respir Dis.* 1988;138:413-420.
- (153) **Raphael GD, Igarashi Y, White MV, Kaliner MA.** The pathophysiology of rhinitis. V. Sources of protein in allergen-induced nasal secretions. *J Allergy Clin Immunol.* 1991;88:33-42.
- (154) **Raphael GD, Jeney EV, Baraniuk JN, Kim I.** Pathophysiology of rhinitis. Lactoferrin and lysozyme in nasal secretions. *J Clin Invest.* 1989;84:1528-1535.
- (155) **Raphael GD, Meredith SD, Baraniuk JN, Druce HM.** The pathophysiology of rhinitis. II. Assessment of the sources of protein in histamine-induced nasal secretions. *Am Rev Respir Dis.* 1989;139:791-800.
- (156) **Rasp G.** Akustische Rhinometrie: Messung der Früh- und Spätphase der allergischen Sofortreaktion bei der allergischen Rhinitis. *Laryngorhinootologie.* 1993;72:125-130.
- (157) **Richerson HB, Rajtora DW, Penick GD, Dick FR.** Cutaneous and nasal allergic responses in ragweed hay fever: lack of clinical and histopathologic correlations with late phase reactions. *J Allergy Clin Immunol.* 1979;64:67-77.
- (158) **Riechelmann H, Epple B, Gropper G.** Comparison of conjunctival and nasal provocation test in allergic rhinitis to house dust mite. *Int Arch Allergy Immunol.* 2003;130:51-59.
- (159) **Rollins BJ, Pober JS.** Interleukin-4 induces the synthesis and secretion of MCP-1/JE by human endothelial cells. *Am J Pathol.* 1991;138:1315-1319.
- (160) **Romagnani S.** The role of lymphocytes in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;105:399-408.
- (161) **Romagnani S.** Cytokines and chemoattractants in allergic inflammation. *Mol Immunol.* 2002;38:881-885.
- (162) **Rosenberg HF, Domachowske JB.** Eosinophils, eosinophil ribonucleases, and their role in host defense against respiratory virus pathogens. *J Leukoc Biol.* 2001;70:691-698.

- (163) **Rot A, Krieger M, Brunner T, Bischoff SC.** RANTES and macrophage inflammatory protein 1 alpha induce the migration and activation of normal human eosinophil granulocytes. *J Exp Med.* 1992;176:1489-1495.
- (164) **Sallusto F, Mackay CR, Lanzavecchia A.** Selective expression of the eotaxin receptor CCR3 by human T helper 2 cells. *Science.* 1997;277:2005-2007.
- (165) **Sandham A.** Rhinomanometric method error in the assessment of nasal respiratory resistance. *Rhinology.* 1988;26:191-202.
- (166) **Sanico AM, Koliatsos VE, Stanisz AM, Bienenstock J, Togias A.** Neural hyperresponsiveness and nerve growth factor in allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol.* 1999;118:154-158.
- (167) **Scapini P, Lapinet-Vera JA, Gasperini S, Calzetti F.** The neutrophil as a cellular source of chemokines. *Immunol Rev.* 2000;177:195-203.
- (168) **Schleimer RP, Bochner BS.** The role of adhesion molecules in allergic inflammation and their suitability as targets of antiallergic therapy. *Clin Exp Allergy.* 1998;28 Suppl 3:15-23.
- (169) **Schleimer RP, Sterbinsky SA, Kaiser J, Bickel CA.** IL-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium. Association with expression of VCAM-1. *J Immunol.* 1992;148:1086-1092.
- (170) **Schumacher MJ, Pain MC.** Nasal challenge testing in grass pollen hay fever. *J Allergy Clin Immunol.* 1979;64:202-208.
- (171) **Schweizer RC, Welmers BA, Raaijmakers JA, Zanen P.** RANTES- and interleukin-8-induced responses in normal human eosinophils: Effects of priming with interleukin-5. *Blood.* 1994;83:3697-3704.
- (172) **Scott RB, Tan DT, Miampamba M, Sharkey KA.** Anaphylaxis-induced alterations in intestinal motility: role of extrinsic neural pathways. *Am J Physiol.* 1998;275:G812-G821.
- (173) **Sedgwick JB, Calhoun WJ, Gleich GJ, Kita H.** Immediate and late airway response of allergic rhinitis patients to segmental antigen challenge. Characterization of eosinophil and mast cell mediators. *Am Rev Respir Dis.* 1991;144:1274-1281.
- (174) **Sehmi R, Cromwell O, Wardlaw AJ, Moqbel R, Kay AB.** Interleukin-8 is a chemo-attractant for eosinophils purified from subjects with a blood eosinophilia but not from normal healthy subjects. *Clin Exp Allergy.* 1993;23:1027-1036.
- (175) **Shalit M, Sekhsaria S, Malech HL.** Modulation of growth and differentiation of eosinophils from human peripheral blood CD34+ cells by IL5 and other growth factors. *Cell Immunol.* 1995;160:50-57.
- (176) **Shyy YJ, Hsieh HJ, Usami S, Chien S.** Fluid shear stress induces a biphasic response of human monocyte chemoattractant protein 1 gene expression in vascular endothelium. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91:4678-4682.
- (177) **Sim TC, Reece LM, Hilsmeier KA, Grant JA, Alam R.** Secretion of chemokines and other cytokines in allergen-induced nasal responses: inhibition by topical steroid treatment. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152:927-933.
- (178) **Simon HU, Yousefi S, Weber M, Simon D.** Human peripheral blood eosinophils express and release interleukin-8. *Int Arch Allergy Immunol.* 1995;107:124-126.
- (179) **Smith WB, Gamble JR, Clark-Lewis I, Vadas MA.** Interleukin-8 induces neutrophil transendothelial migration. *Immunology.* 1991;72:65-72.
- (180) **Soane RJ, Carney AS, Jones NS, Frier M.** The effect of the nasal cycle on mucociliary clearance. *Clin Otolaryngol.* 2001;26:9-15.
- (181) **Song A, Nikolcheva T, Krensky AM.** Transcriptional regulation of RANTES expression in T lymphocytes. *Immunol Rev.* 2000;177:236-245.

- (182) **Stadler BM.** Allergie. Immunologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1997:235-250.
- (183) **Stellato C, Beck LA, Gorgone GA, Proud D.** Expression of the chemokine RANTES by a human bronchial epithelial cell line. Modulation by cytokines and glucocorticoids. *J Immunol.* 1995;155:410-418.
- (184) **Stjarne P, Lacroix JS, Anggard A, Lundberg JM.** Compartment analysis of vascular effects of neuropeptides and capsaicin in the pig nasal mucosa. *Acta Physiol Scand.* 1991;141:335-342.
- (185) **Storms WW.** Rethinking our approach to allergic rhinitis management. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002;88 (4.Suppl.1.):30-35.
- (186) **Sung KL, Li Y, Elices M, Gang J.** Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor regulates the functional adhesive state of very late antigen-4 expressed by eosinophils. *J Immunol.* 1997;158:919-927.
- (187) **Svensson C, Andersson M, Greiff L, Alkner U, Persson CG.** Exudative hyperresponsiveness of the airway microcirculation in seasonal allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy.* 1995;25:942-950.
- (188) **Symon FA, McNulty CA, Wardlaw AJ.** P- and L-selectin mediate binding of T cells to chronically inflamed human airway endothelium. *Eur J Immunol.* 1999;29:1324-1333.
- (189) **Tachimoto H, Burdick MM, Hudson SA, Kikuchi M.** CCR3-active chemokines promote rapid detachment of eosinophils from VCAM-1 in vitro. *J Immunol.* 2000;165:2748-2754.
- (190) **Tai CF, Baraniuk JN.** Upper airway neurogenic mechanisms. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002 Feb;2 (1):11 -9.2:11-19.
- (191) **Takafuji S, Bischoff SC, De Weck AL, Dahinden CA.** IL-3 and IL-5 prime normal human eosinophils to produce leukotriene C4 in response to soluble agonists. *J Immunol.* 1991;147:3855-3861.
- (192) **Tavernier J, Devos R, Cornelis S, Tuypens T.** A human high affinity interleukin-5 receptor (IL5R) is composed of an IL5-specific alpha chain and a beta chain shared with the receptor for GM-CSF. *Cell.* 1991;66:1175-1184.
- (193) **Terada N, Konno A, Natori T, Tada H, Togawa K.** Interleukin-5 preferentially recruits eosinophils from vessels in nasal mucosa. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1993;506:57-60.
- (194) **Terada N, Konno A, Togawa K.** Biochemical properties of eosinophils and their preferential accumulation mechanism in nasal allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 1994;94:629-642.
- (195) **Terada N, Maesako K, Hamano N, Houki G.** Eosinophil adhesion regulates RANTES production in nasal epithelial cells. *J Immunol.* 1997;158:5464-5470.
- (196) **Teran LM, Carroll M, Frew AJ, Montefort S.** Neutrophil influx and interleukin-8 release after segmental allergen or saline challenge in asthmatics. *Int Arch Allergy Immunol.* 1995;107:374-375.
- (197) **Teran LM, Davies DE.** The chemokines: their potential role in allergic inflammation. *Clin Exp Allergy.* 1996;26:1005-1019.
- (198) **Terheyden H, Maune S, Mertens J, Hilberg O.** Acoustic rhinometry: validation by three-dimensionally reconstructed computer tomographic scans. *J Appl Physiol* 2000 Sep;89 (3):1013 -21.89:1013-1021.
- (199) **Togias A.** Unique mechanistic features of allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;105:S599-S604.
- (200) **Undem BJ, Kajekar R, Hunter DD, Myers AC.** Neural integration and allergic disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;106:S213-S220.
- (201) **Underwood DC, Osborn RR, Newsholme SJ, Torphy TJ, Hay DW.** Persistent airway eosinophilia after leukotriene (LT) D4 administration in the guinea pig: modulation by the LTD4 receptor antagonist, pranlukast, or an interleukin-5 monoclonal antibody. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;154:850-857.
- (202) **Van Coillie E, Van Damme J, Opdenakker G.** The MCP/eotaxin subfamily of CC chemokines. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1999;10:61-86.

- (203) **Van Damme J, Proost P, Put W, Arens S.** Induction of monocyte chemotactic proteins MCP-1 and MCP-2 in human fibroblasts and leukocytes by cytokines and cytokine inducers. Chemical synthesis of MCP-2 and development of a specific RIA. *J Immunol.* 1994;152:5495-5502.
- (204) **Varney VA, Jacobson MR, Sudderick RM, Robinson DS.** Immunohistology of the nasal mucosa following allergen-induced rhinitis. Identification of activated T lymphocytes, eosinophils, and neutrophils. *Am Rev Respir Dis.* 1992;146:170-176.
- (205) **Venge P.** Soluble markers of allergic inflammation. *Allergy.* 1994;49:1-8.
- (206) **Venge P, Bystrom J, Carlson M, Hakansson L.** Eosinophil cationic protein (ECP): molecular and biological properties and the use of ECP as a marker of eosinophil activation in disease. *Clin Exp Allergy.* 1999;29:1172-1186.
- (207) **Walch L, Norel X, Gascard JP, Brink C.** Functional studies of leukotriene receptors in vascular tissues. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161:S107-S111.
- (208) **Walker C, Virchow JC, Jr., Bruijnzeel PL, Blaser K.** T cell subsets and their soluble products regulate eosinophilia in allergic and nonallergic asthma. *J Immunol.* 1991;146:1829-1835.
- (209) **Wang D, Clement P.** Assessment of early- and late-phase nasal obstruction in atopic patients after nasal allergen challenge. *Clin Otolaryngol.* 1995;20:368-373.
- (210) **Ware JE, Sherbourne CD.** The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Med Care.* 1992;30:473-483.
- (211) **Watson WT, Becker AB, Simons FE.** Treatment of allergic rhinitis with intranasal corticosteroids in patients with mild asthma: effect on lower airway responsiveness. *J Allergy Clin Immunol.* 1993;91:97-101.
- (212) **Weber M, Uguccioni M, Ochensberger B, Baggiolini M.** Monocyte chemotactic protein MCP-2 activates human basophil and eosinophil leukocytes similar to MCP-3. *J Immunol.* 1995;154:4166-4172.
- (213) **Weller PF, Lee CW, Foster DW, Corey EJ.** Generation and metabolism of 5-lipoxygenase pathway leukotrienes by human eosinophils: predominant production of leukotriene C4. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1983;80:7626-7630.
- (214) **Wellicome SM, Kapahi P, Mason JC, Lebranchu Y.** Detection of a circulating form of vascular cell adhesion molecule-1: raised levels in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol.* 1993;92:412-418.
- (215) **Weng Y, Siciliano SJ, Waldburger KE, Sirotina-Meisher A.** Binding and functional properties of recombinant and endogenous CXCR3 chemokine receptors. *J Biol Chem.* 1998;273:18288-18291.
- (216) **Williams JD, Czop JK, Austen KF.** Release of leukotrienes by human monocytes on stimulation of their phagocytic receptor for particulate activators. *J Immunol.* 1984;132:3034-3040.
- (217) **Wilson SJ, Lau L, Howarth PH.** Inflammatory mediators in naturally occurring rhinitis. *Clin Exp Allergy.* 1998;28:220-227.
- (218) **Yamada H, Yamaguchi M, Yamamoto K, Nakajima T.** Eotaxin in induced sputum of asthmatics: relationship with eosinophils and eosinophil cationic protein in sputum. *Allergy.* 2000;55:392-397.
- (219) **Zangrilli JG, Shaver JR, Cirelli RA, Cho SK.** sVCAM-1 levels after segmental antigen challenge correlate with eosinophil influx, IL-4 and IL-5 production, and the late phase response. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;151:1346-1353.
- (220) **Zimmermann N, Conkright JJ, Rothenberg ME.** CC chemokine receptor-3 undergoes prolonged ligand-induced internalization. *J Biol Chem.* 1999;274:12611-12618.
- (221) **Zweiman B, Getsy J, Kalenian M, Lane A.** Nasal airway changes assessed by acoustic rhinometry and mediator release during immediate and late reactions to allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol.* 1997;100:624-631.

7. Anhang

7.1 Fragebogen zu Beschwerden unter Allergenprovokation

Sehr verehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

Sie nehmen an einer intranasalen Provokation mit Allergenen teil. Dies ist der „Goldene Standard“ der Allergiediagnostik, um zu beweisen oder zu widerlegen, ob Sie an einer Rhinitis allergica (Heuschnupfen) leiden. Wie Ihnen bereits erklärt wurde, wird über die nächsten Stunden in regelmäßigen Abständen Nasensekret gewonnen. Um die dabei im Nasensekret zu untersuchenden Parameter mit Ihren Symptomen zu korrelieren, möchten wir Sie bitten diesen Fragebogen zu jeder Abnahmezeit sorgfältig auszufüllen.

Name, Vorname:

Geburtsdatum:

Untersuchungsdatum:

Untersuchungszeitpunkt:

Bitte tragen Sie für jede Frage auf der unten dargestellten Skala (angefangen von „nicht beeinträchtigt“ bis „extrem beeinträchtigt“) durch einen senkrechten Strich ein, wo Sie Ihr Befinden zum jeweiligen Zeitpunkt einordnen würden.

1. GESAMTBEFINDEN

Nicht Beeinträchtigt			Extrem Beeinträchtigt
--------------------------------	--	--	---------------------------------

2. NASE VERSTOPFT

Nicht Beeinträchtigt			Extrem Beeinträchtigt
--------------------------------	--	--	---------------------------------

3. NASE LÄUFT

Nicht Beeinträchtigt			Extrem Beeinträchtigt
--------------------------------	--	--	---------------------------------

4. NIESREIZ

Nicht Beeinträchtigt		Extrem Beeinträchtigt
--------------------------------	--	---------------------------------

5. JUCKREIZ DER NASE

Nicht Beeinträchtigt		Extrem Beeinträchtigt
--------------------------------	--	---------------------------------

6. BRENNEN IN DER NASE

Nicht Beeinträchtigt		Extrem Beeinträchtigt
--------------------------------	--	---------------------------------

7. BESCHWERDEN DER AUGEN WIE JUCKEN, BRENNEN, TRÄNENFLUß ETC.

Nicht Beeinträchtigt		Extrem Beeinträchtigt
--------------------------------	--	---------------------------------

8. KRIBBELN IM HALS

Nicht Beeinträchtigt		Extrem Beeinträchtigt
--------------------------------	--	---------------------------------

9. SCHWELLUNG DER LIPPEN / SCHWELLUNG IM MUND

Nicht Beeinträchtigt		Extrem Beeinträchtigt
--------------------------------	--	---------------------------------

10. ATEMBESCHWERDEN

Nicht Beeinträchtigt		Extrem Beeinträchtigt
--------------------------------	--	---------------------------------

7.2 Einzelergebnisse der Rhinometriemessungen

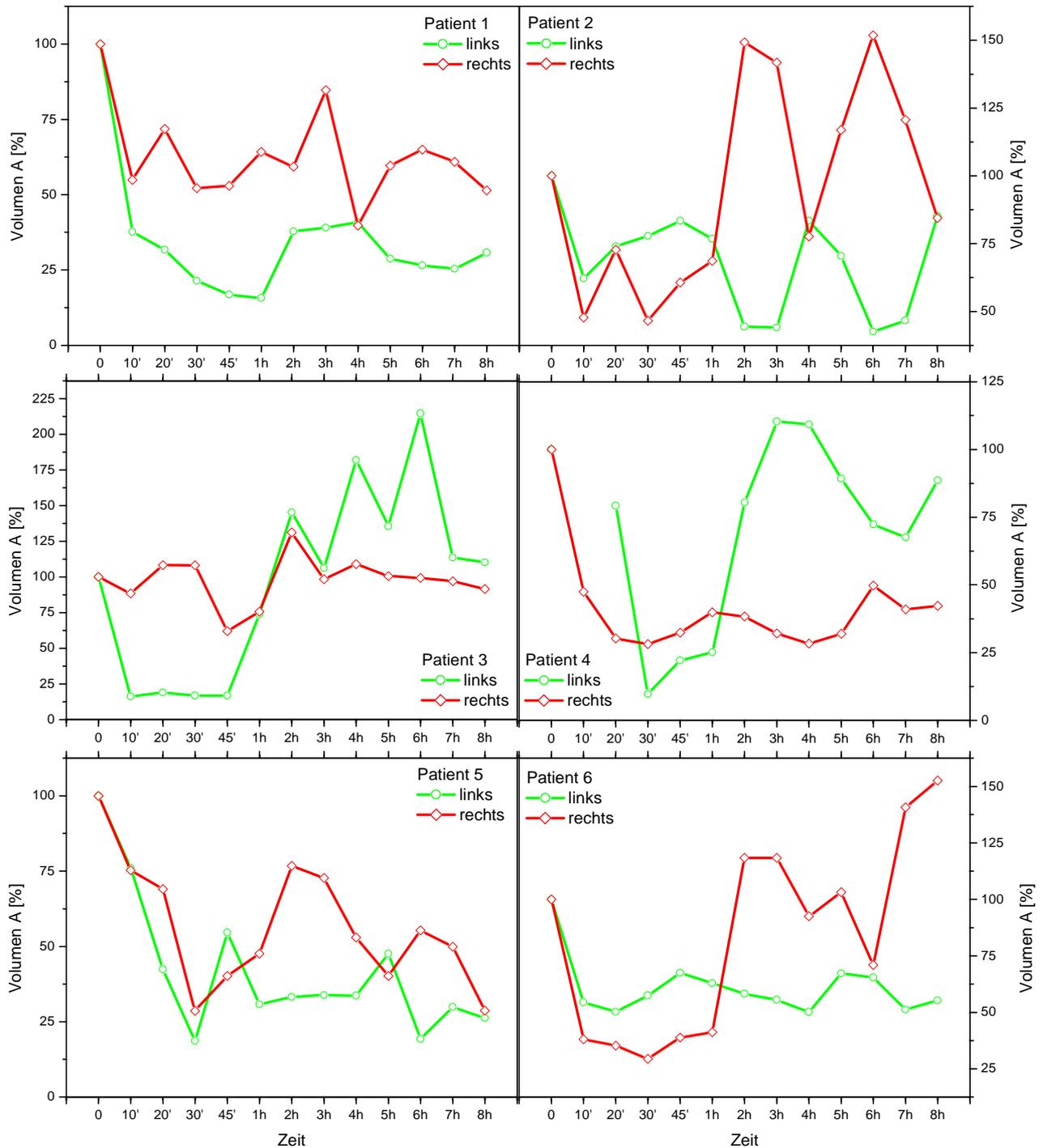
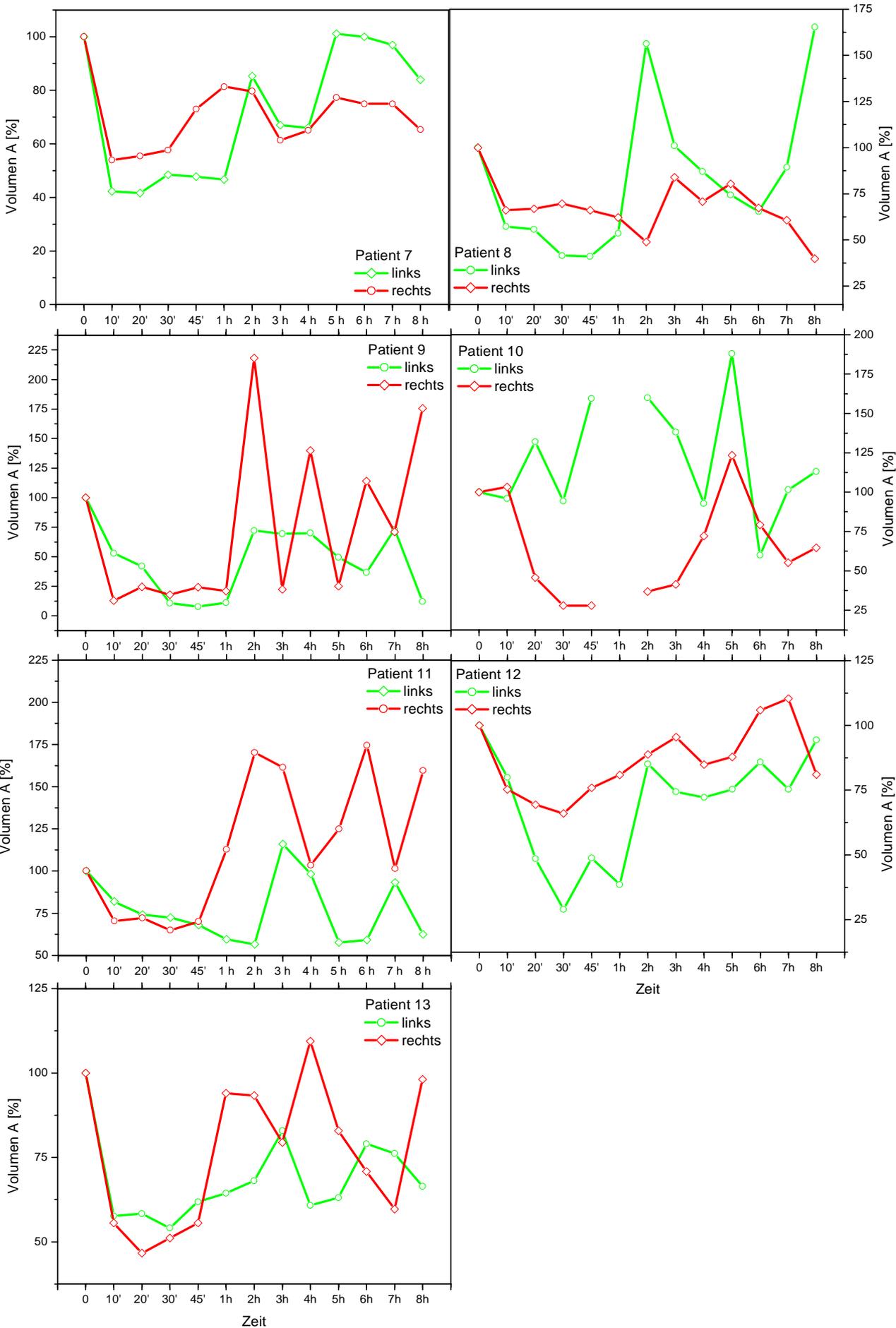


Abb. 29a: Einzelergebnisse der akustischen Rhinometriemessungen prozentual bezogen auf den Ausgangswert am Beispiel des Volumens über der unteren Nasenmuschel (Volumenwert A). Patienten 1-6 (diese Seite).

Abb. 29b: Patienten 7-13 (nächste Seite).



8. Abkürzungsverzeichnis

A.	= Arteria
AAR	= Aktive anteriore Rhinomanometrie
ACh	= Acetylcholin
AR	= Akustischen Rhinometrie
ARIA	= Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma
BCA	= Bicinchoninic Acid
BSA	= Bovines Serum Albumin
C5a	= Aktivierter Komplementfaktor 5
CCR	= CC-Chemokinrezeptor
CGRP	= Calcitonin Gene-Related Peptide
CXCR	= CXC-chemokine Receptor
CysLT	= Cysteinyl Leukotrienrezeptor
ECP	= Eosinophil Cationic Protein
EDN	= Eosinophil Derived Neurotoxin
ELISA	= Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay
GRP	= Gastrin Releasing Peptide
GM-CSF	= Granulozyten und Monozyten - Kolonie stimulierender Faktor
HIV-1	= Human Immunodeficiency Virus 1
HRQoL	= Health Related Quality of Life
ICAM-1	= InterCellular Adhesion Molecule-1
Ig	= Immunglobulin
IGF-1	= Insulin like Growth Factor-1
IL	= Interleukin
LPS	= Lipopolysaccharid
LTB ₄ , C ₄ , D ₄ , E ₄	= Leukotrien B ₄ , C ₄ , D ₄ , E ₄
MBP	= Major Basic Protein
MCP	= Monocyte Chemotactic Protein
NGF	= Nerve Growth Factor
NO	= Stickstoffmonoxid
PAF	= Platelet Activating Factor
PAR	= Passive Anteriore Rhinometrie
PGD ₂	= Prostaglandin D ₂
QoL	= Quality of Life
RANTES	= Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and presumably Secreted
RQLQ	= Rhinitis Quality of Life Questionnaire
SIP	= Sickness Impact Profile
SRS-A	= Slow-Reacting Substance of Anaphylaxis

SF-36	= Medical Outcomes Study 36-Item Short Form Health Survey
sVCAM-1	= Soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1
TNF- α	= Tumor Nekrose Faktor alpha
VCAM-1	= Vascular Cell Adhesion Molecule-1
VIP	= Vasoaktives Intestinales Peptid
VLA-4	= Very Late Antigen-4
ZNS	= Zentralnervensystem

9. Danksagung

An erster Stelle gilt mein herzlicher Dank Herrn Priv.-Doz. Dr. med. G. Rasp für die Betreuung und die kritische Auseinandersetzung mit diesem Thema. Besonders beeindruckt hat mich seine Bereitschaft, sich immer sofort die nötige Zeit zu nehmen noch offene Fragen zu diskutieren und Unklarheiten zu beseitigen. Somit ermöglichte er ein produktives Arbeitsklima und das zügige Entstehen dieser Dissertation.

Herrn Dr. med. Matthias Kramer danke ich zunächst vor allem für seine nicht unerhebliche Beteiligung an der Vergabe dieses Dissertationsthemas im Herbst 2000. Für seine fachliche Mitbetreuung in allen Phasen dieser Arbeit, seine Geduld und seinen unermüdlichen Beistand sei ihm herzlich gedankt.

Frau Elisabeth Pfrogner gebührt großer Dank für die präzise Einführung in die verschiedenen Methoden dieser Arbeit. Außerdem danke ich ihr herzlich für ihre freundliche und menschliche Unterstützung. Ohne ihr persönliches Engagement wäre vieles nicht vorangegangen.

Gedankt sei Herrn Prof. Dr. med. A. Berghaus für die Bereitstellung von Material und Arbeitsplatz in seiner Klinik.

Außerdem danke ich den Mitarbeitern der HNO-Poliklinik und der HNO-Forschung für ihre Geduld und Unterstützung .

Auch den Patienten, die sich für die Untersuchungen dieser Arbeit viel Zeit genommen haben, sei gedankt.

Frau Nada Stankovic danke ich für ihre Geduld und wertvolle begleitende Unterstützung.

Danke auch den Lektoren für ihren Beitrag.

Meiner Mutter Sigrid Jordan danke ich herzlich für ihre Unterstützung.

10. Lebenslauf

- 19.11.1970 Geboren in Schloss Neuhaus als Sohn von Dipl. Volkswirt Jost Jordan und seiner Ehefrau Sigrid Jordan, geb. Breuer.
- 1977-1988 Besuch der Grundschule in Worpswede bei Bremen und in Ebersberg, Oberbayern, dann des neusprachlich-naturwissenschaftlichen orientierten Zweigs des Gymnasium Grafing, Oberbayern.
- 1988-89 Stipendiat des Parlamentarischen Patenschafts Programms des Deutschen Bundestags; Aufenthalt an der Acalanes High School, Lafayette, CA (American High School Diploma).
- 1991 Abitur am Gymnasium Grafing (Gesamtnote 1,5)
- 1991-1996 Studium der Bildenden Kunst an der Ecole Nationale Supérieure des Beaux-Art in Paris (Abschluss mit dem Diplom der Akademie und der Auszeichnung Félicitations à l'unanimité du jury).
- 1997 Immatrikulation für das Fach der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München.
- 1999 Ärztliche Vorprüfung
- 08.2000 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung (Note 2)
- 03.2003.1 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung (Note 2)
- 2002-2004 Stipendiat der Heinrich-Böll-Studienstiftung
- 2003-04 Praktisches Jahr: Innere Medizin, Chirurgie und Wahlfach Neurologie
- 2004 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung (Note 1)