

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkranke
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. Jan Helms

Nachweis von allergenspezifischem Immunglobulin E im Speichel

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät

der

Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Beatrice Albrecht

aus Würzburg

Würzburg, August 2002

Referent: Prof. Dr. med. J. Helms

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. R. Dieler

Dekan: Prof. Dr. med. V. ter Meulen

Tag der mündlichen Prüfung: 4.2.2003

Die Promovendin ist Ärztin.

1.	Einleitung	1
1.1.	Ziel der Studie	1
1.2.	Geschichte der Allergologie	2
1.3.	Allergien nach Coombs und Gell	2
1.4.	Allergene	3
1.4.1.	Milben	4
1.4.2.	Gräser- und Getreidepollen	4
1.5.	Allergieteste	5
1.5.1.	Hauttest	5
1.5.1.1.	Pricktest	5
1.5.1.2.	Intrakutantest	5
1.5.1.3.	Epikutantest	6
1.5.2.	Provokationstest	6
1.5.2.1.	Nasaler Provokationstest	6
1.5.2.2.	Bronchialer Provokationstest	7
1.6.	Immunologische Grundlagen der allergischen Sofortreaktion	8
1.6.1.	T-Zellen	8
1.6.2.	Zytokine des Immunsystems	10
1.6.3.	Immunglobuline	12
1.6.4.	Immunglobulin E	15
2.	Methoden	17
2.1.	Patientenauswahl	17
2.2.	Entnahme des Speichels	17
2.3.	Aufbereiten des Speichels	18
2.3.1.	Ultrazentrifugation	18
2.3.2.	Enzymimmunoassay zur semiquantitativen Bestimmung von allergenspezifischem IgE	19
2.3.3.	Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Gesamt-IgE	20
2.3.4.	Gesamtprotein	21
2.4.	Statistik	21

3.	Ergebnisse	22
3.1.	Alter und Geschlecht	22
3.2.	Anamnese	24
3.3.	Ergebnisse der Speicheluntersuchungen, verglichen mit Negativkontrolle und Nichtallergikergruppe	25
3.4.	Spezifisches IgE Im Speichel und Serum	25
3.4.1.	“Positives” Speichel-IgE	28
3.4.2.	Ergebnisse bezogen auf Einzelallergene	29
3.4.2.1.	Gräserpollenmix	30
3.4.2.2.	Roggenpollen	31
3.4.2.3.	Dermatophagoides farinae	32
3.4.2.4.	Dermatophagoides pteronyssinus	33
3.5.	Verhältnis zwischen spezifischem IgE und Gesamtprotein im Speichel	36
3.6.	Gesamt-IgE im Serum	37
3.7.	Spezifisches IgE im Speichel in Abhängigkeit der Beschwerdesymptomatik	37
4.	Diskussion	39
5.	Zusammenfassung	44
6.	Literaturverzeichnis	46

1. Einleitung

1.1. Ziel der Studie

Ziel dieser Studie ist die Entwicklung einer Methode, die es ermöglicht, bei Kindern mit auffälliger Anamnese auf nichtinvasivem Weg die Diagnose einer Allergie zu untermauern. Im Rahmen der Sprechstunde wird immer wieder bei rezidivierenden Atemwegserkrankungen bzw. Infektneigung mit rezidivierenden Paukenergüssen (auch nach Adenotomie und Paukendrainage) der Verdacht einer Allergie geäußert. [Bachert, 1989; Bellanti, 1996; Bernstein, 1994; Hildmann, 1991; Terrahe, 1986]

Bei Kindern ist jedoch erst ab dem 4. Lebensjahr eine ausreichend sichere Aussage des Hauttestes (Pricktest) gegeben. [Leupold, 1997] Außerdem tolerieren Kleinkinder die unangenehmen Intracutantestungen und Blutentnahmen meistens nur sehr ungern. Dagegen sind Speichelproben leicht zu gewinnen [Haeckel, 1988], sodass ein Allergietest im Speichel vorteilhaft wäre.

Bisherige Veröffentlichungen über Immunglobulin E (IgE) Spiegel in verschiedenen Körperflüssigkeiten beziehen sich meist auf das Gesamt-IgE im Nasen- und Paukenergusssekret, in der bronchoalveolären Lavage und nur selten auf Speichel. [Ballow, 1984; Bachert, 1990; Deuschl, 1997; Leonhardt 1998]

Das Gesamt-IgE im Serum unterliegt jedoch bei gesunden Kontrollpersonen und Atopikern großen individuellen Schwankungen. Daher empfiehlt sich bei entsprechenden anamnestischen Hinweisen die Suche nach allergie-spezifischem IgE. Dieses wird bisher nur im Serum routinemäßig getestet.

Die Methode des Antikörpernachweises im Speichel sollte an Erwachsenen validiert werden, bei denen durch Anamnese und entsprechende in-vivo (Prick- und Intracutantest) bzw. in-vitro (Gesamt-IgE und allergenspezifisches IgE im Serum) Untersuchungen die Diagnose einer Allergie gesichert wurde. Falls sich dieses Verfahren in unserer Studie bewähren sollte, so wären weitere Prüfungen angezeigt, in welche auch Kinder einzubeziehen wären.

1.2. Geschichte der Allergologie

Unter Allergie wird heute eine "spezifische Änderung der Immunitätslage im Sinne einer krankmachenden Überempfindlichkeit" definiert. Diese Definition hat sich über einen langen Zeitraum entwickelt.

Der Begriff "Allergie" wurde vom Wiener Pädiater *Clement von Pirquet* 1906 geprägt. Er unterteilte die veränderte Reaktionsfähigkeit des Organismus in nutzbringende und schadhafte Immunität. Die Anaphylaxie als akut auftretende (schädliche) Überempfindlichkeit wurde bereits von *Richet* und *Portier* 1902 beschrieben. Einen Meilenstein in der Erforschung der Typ-I-Allergie stellte die Identifikation des Histamins durch *Dale* und *Laidlaw* im Jahre 1910 dar. Viele Erscheinungsformen der Anaphylaxie waren durch die Wirkung des Histamins zu erklären. Die Identifikation des IgE-Moleküls gelang 1966 und 1967 den Arbeitsgruppen um *Ishizaka* und *Johannson*. Ihm wurde bereits frühzeitig Bedeutung für die Sofort-Überempfindlichkeitsreaktion zugeschrieben. 1967 führte *Wide* den Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST) zum Nachweis des spezifischen IgE ein. Und 1972 publizierten *Engvall* und *Perlmann* den Enzyme-linked Immunosorbent Test (ELISA), der ebenfalls zum IgE-Nachweis dient, jedoch ohne radioaktive Markierungen auskommt. [Schopf, 1997]

1.3. Allergien nach Coombs und Gell

1963 schufen Coombs und Gell eine weithin akzeptierte Klassifizierung der allergischen Reaktionen, die auch heute noch ein gültiges Schema darstellt. Allerdings ist eine scharfe Abtrennung der unterschiedlichen Typen oft nicht möglich. In vivo können diese nebeneinander bzw. synergistisch ablaufen. [Kownatzki, 1997; Ring, 1992; Wütherich, 1990]

Als **Typ-1**-Reaktion haben sie die allergische Reaktion vom Soforttyp definiert. Sie ist IgE vermittelt. Die allergische Rhinitis stellt eine typische Typ-1-Reaktion dar. Nach Allergenkontakt auf der Oberfläche sensibilisierter Mastzellen und

basophiler Leukozyten kommt es zum Freisetzen von Histamin und weiteren vasoaktiven Mediatoren.

Die **Typ-2**-Reaktion wird auch als Allergie vom zytotoxischen Typ bezeichnet. Man unterscheidet zwei alternative Prozesse. Im ersten wird durch Reaktion des Antikörpers mit dem Antigen auf der Zelloberfläche das Komplementsystem aktiviert. Nachfolgend kommt es zur Zytolyse. Der zweite Weg führt über eine Reaktion von Antikörpern, die an $F(ab)_2$ -Fragmente gebunden sind und deren freies Fc-Stück mit Phagozyten und Killerzellen reagiert. Dieser Vorgang wird auch als antibody dependend cellular cytotoxicity (ADCC) bezeichnet. Im nächsten Schritt wird das Komplementsystem aktiviert, und dies führt letztlich zur Abwehrreaktion und Zytolyse. [Schopf, 1997]

Auslöser der **Typ-3**-Reaktionen sind zirkulierende Antigen-Antikörper-Komplexe, welche ebenfalls über das Komplementsystem die Abwehr stimulieren. Diese Allergieform wird auch als Allergie vom Immunkomplextyp bezeichnet. [Wütherich, 1990]

Typ-4-Reaktionen, auch Spätreaktionen genannt, stellen eine allergische Reaktion vom zellulären Typ dar. Sie werden durch Reaktionen des Allergens mit spezifisch sensibilisierten Effektor-T-Lymphozyten ausgelöst. Diese tragen das Oberflächenantigen CD4. Nach Allergenkontakt werden sensibilisierte T-Zellen aktiviert, die daraufhin Lymphokine produzieren. Am Ort der Reaktion sammeln sich dann wenige Tage nach Allergenkontakt monozytäre Lymphozyten an und es zeigen sich die bekannten lokalen Entzündungsreaktionen. [Schopf, 1997]

1.4. Allergene

Im Rahmen der Arbeit wurden die IgE-Konzentrationen für 4 Allergene im Speichel im Vergleich zum Serum untersucht. Die Allergene werden im Folgenden im Einzelnen beschrieben.

1.4.1. Milben

Milben gehören zur Familie der Spinnentiere (Arachnida). Sie kommen ubiquitär vor, ausgenommen arktisches und alpines Klima.

Von besonderem allergologischen Interesse sind die beiden Hausstaubmilben *Dermatophagoides farinae* (Milbe 1) und *Dermatophagoides pteronyssinus* (Milbe 2). In den Betten der Menschen finden die Milben ein ideales Biotop vor. Die menschlichen Hautschuppen stellen eine nie versiegende Nahrungsquelle dar. Außerdem begünstigen die relativ hohe Luftfeuchtigkeit (70-90%) und Temperaturen um 20-25°C eine rasche Vermehrung der Milben. Maximale Milbenkonzentrationen werden im Spätsommer bis Herbst gemessen, in den Wintermonaten schadet die trockene Heizungsluft den Milben. Das relevante Majorallergen findet sich in den Kotballen. [Bessot, 1988; Klimek, 1997; v. Bronswijk, 1988; Wütherich, 1980]

1.4.2. Gräser- und Getreidepollen

Die zahlenmäßig häufigsten Allergene sind die Pollen windbestäubender Pflanzen (anemogame Fortpflanzung). Das relativ ineffektive, ungerichtete Freisetzen der Pollen wird durch die Produktion großer Mengen ausgeglichen. Unter den europäischen Gräsern zählen die Roggenpollen zu den aggressivsten Allergenträgern (16 Allergene, davon 5 Majorallergene). Eine einzelne solche Roggenpflanze produziert die ungeheure Menge von 20 Millionen Pollenkörnern. In Mitteleuropa werden ca. 80% der Heuschnupfenfälle durch Süßgräserpollen verursacht. In diesem Zusammenhang ist hervorzuheben, dass es innerhalb der Gruppe der Gräserpollen zu erheblichen Kreuzreaktionen kommen kann.

Der Polleninhalte besteht aus einer Außen- (Exine) und Innenschicht (Intine). Die allergene Substanz stammt aus dem Zytoplasma und wird bei Kontakt mit einer feuchten Unterlage (Blütennarbe, Schleimhaut) freigesetzt. [Klimek, 1997; Schopf, 1997]

1.5. Allergieteste

1.5.1. Hauttest

Wenn eine Allergie diagnostiziert wird, so gilt es im nächsten Schritt die Zahl der in Frage kommenden Allergene einzugrenzen.

Dazu werden nach ausführlicher Anamnese verschiedene Allergieteste durchgeführt. Zum Nachweis von Typ-I-Allergien wird der Prick- und Intrakutantest angewandt, bei Verdacht auf Typ-IV-Allergien wird epikutan getestet.

1.5.1.1. Pricktest

Beim Pricktest wird jeweils ein Tropfen der zu prüfenden Allergentestlösung sowie eine Negativ- (Kochsalzlösung) und Positivkontrolle (Histaminlösung) in einer Doppelreihe auf die Haut aufgetropft. Mit einer Blut Lanzette oder Pricknadel wird durch den Tropfen hindurch im spitzen Winkel flach in die Haut eingestochen ("Einpricken"). Dadurch kann ein kleiner Teil der Allergenlösung die Epithelbarriere durchdringen und mit reaktionsbereiten Mastzellen mit spezifischem IgE in Kontakt treten. Als Testort wird bevorzugt die Volarseite der Unterarme verwendet. Das "Ablesen" erfolgt nach 10 und 20 Minuten. Bewertet werden die Reaktionen der Allergenlösungen durch Vergleich mit der Größe der Histaminreaktion. Es werden Quaddel (blassgelbliches Ödem) und Erythem (umgebender roter Hof) nach Größe und Intensität beurteilt. [Mösges, 1997; Albegger, 1991]

1.5.1.2. Intrakutantest

Dieser Test wird insbesondere bei der Diagnostik ganzjähriger Allergien angewandt. Die applizierte Allergenmenge ist höher als beim Pricktest. Daraus resultieren höhere Sensitivität und geringere Spezifität. Testort ist bevorzugt der Rücken. Unter Zuhilfenahme einer Tuberkulinspritze werden streng intrakutan

ca. 0,04 ml verdünnter Allergenextrakte injiziert. Die individuelle Reagibilität wird, wie beim Pricktest, anhand einer Negativ- und Positivkontrolle bestimmt. Das Ablesen und Bewerten gleicht dem des Pricktests. Da die Hautreagibilität in der Nähe der Wirbelsäule erhöht ist, sollte ein ca. 4 cm breites, wirbelsäulennahes Areal ausgenommen werden. [Ganzer, 1997]

1.5.1.3. Epikutantest

Der Epikutantest dient dem Nachweis von Typ-4-Allergien. Er wird beispielsweise bei Verdacht auf Kontaktdermatitis, Arzneimittelexanthem, Kontakturtikaria oder photoallergischen Dermatitiden eingesetzt.

Auf einem Testpflaster befinden sich die zu untersuchenden Substanzen in einer Vaseline- oder Wassergrundlage. Das Pflaster wird einen Tag auf der Haut belassen. Das Ablesen der Reaktion erfolgt nach 24 , 48 , 72 und 96 Stunden. Die Reaktion wird nach Ausprägung der Erytheme, Bläschen, Papeln und Vesikeln in 4 Klassen eingeteilt. [Baur, 1993]

1.5.2. Provokationstest

1.5.2.1. Nasaler Provokationstest

Die Provokation ermöglicht eine Aussage über die tatsächliche Relevanz eines Allergens. Sie ist indiziert, wenn eine Hyposensibilisierung geplant ist oder Diskrepanzen zwischen Anamnese und Ergebnis von Hauttest oder in-vitro-Test bestehen. Insbesondere wird dieser Test zur Diagnostik ganzjähriger Allergien angewandt. Das zu untersuchende Allergen wird auf den unteren Muschelkopf aufgetropft. Bei positiver Reaktion können Lokalsymptome (u.a. Niesreiz, Obstruktion, Sekretion) und / oder Fernsymptome beobachtet werden. Objektive Daten gewinnt man durch eine zusätzlich durchgeführte rhinomanometrische Kontrolle vor und nach Allergenapplikation. Als positiv gilt die Abnahme des nasalen Flows um mindestens 20 % des Ausgangswertes. [Ganzer, 1997; Mösges, 1997]

1.5.2.2. Bronchialer Provokationstest

Beim bronchialen Provokationstest können unspezifische Reaktionen auf den Aerosolreiz auftreten. Damit diese erkannt werden können, wird zunächst physiologische Kochsalzlösung inhaliert. Gleichzeitig wird dadurch ein Ausgangswert erhalten. Danach werden spezifische Allergene in steigender Konzentration getestet.

Bei hochsensiblen Patienten sollte mit einer Verdünnung von 1:10.000 begonnen werden. Die Konzentration kann in 10er Schritten gesteigert werden bis erste klinische Symptome auftreten. Der Inhalationstest wird als positiv gewertet, wenn sich Veränderungen der Lungenfunktionsparameter zeigen. Bewährt hat sich die Bestimmung der Einsekundenkapazität (FEV1). Ein Abfall der FEV1 um 20 % wird als positive pulmonale Provokation gewertet. Falls die individuelle Schwellendosis erreicht oder überschritten wurde, kann es nach 5-15 Minuten zu ersten asthmatischen Reaktionen kommen. Verzögerte Reaktionen treten 4-12 Stunden nach Provokation auf. [Baur, 1993; Kersten, 1980] Wegen des erhöhten Risikos einer Komplikation sollte dieser Test bei einem erfahrenen Pulmologen erfolgen.

1.6. Immunologische Grundlagen der allergischen Sofortreaktion

1.6.1. T-Zellen

T-Lymphozyten (T-Zellen) realisieren im Prozess der Immunabwehr die zelluläre Immunität. T-Zellen werden nach der Nomenklatur für Oberflächenmarker (Cluster of differentiation) in CD4⁺ T-Helferzellen und CD8⁺ Suppressorzellen (zytotoxisch) unterschieden.

Eine neuere Klassifikation unterscheidet nach der Zytokinproduktion der T-Zellen. Ausgangspunkt sind so genannte nicht determinierte CD4⁺ T-Helferzellen, welche auch als T_{HO}-Zellen bezeichnet werden. Diese differenzieren zu unterschiedlichen Anteilen in T_{H1}-Zellen und T_{H2}-Zellen. T_{H1}-Zellen unterstützen die zelluläre Immunantwort (Entzündungsreaktion). T_{H2}-Zellen führen zur B-Zell-Aktivierung (humorale Abwehr) und damit zur Immunglobulinbildung. Bei Atopikern sind die T_{H2}-Zellen erhöht, was zu einer Immunglobulinüberproduktion führt.

Welche der beiden Zellarten, ob T_{H1}- bzw. T_{H2}-Zellen gebildet werden, wird durch die vorherrschende Antigenkonzentration, die Präsenz bestimmter Zytokine und durch die unterschiedlichen Signale antigenpräsentierender Zellen bestimmt. Beide Zelltypen produzieren ihre eigenen Wachstumsfaktoren und hemmen dadurch gleichzeitig die Produktion der jeweils anderen T_H-Klasse. Es entsteht ein System mit positivem und negativem 'feedback' (Abb.1).

Die T_{H1}-Zellen produzieren u.a. Interferon- γ (IFN- γ), Tumornekrosefaktor- β (TNF- β) und Interleukin-2 (IL-2), die T_{H2}-Zellen IL-4, das ähnlich wirkende IL-13 sowie IL-10. Beide Zelltypen sezernieren TNF- α und Granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF). Von T_{H1}-Zellen ausgeschüttetes IFN- γ aktiviert Makrophagen und startet damit die Reaktion in Richtung Entzündung. Interleukin-10, von den T_{H2}-Zellen produziert, hemmt die Makrophagenaktivierung. Gleichzeitig ausgeschüttetes Interleukin-4 wirkt stimulierend auf die Proliferation und Differenzierung von B-Lymphozyten zu Plasmazellen, die dann ihrerseits Immunglobuline bilden. Weiterhin bewirkt Interleukin-4 den Immunglobulinwechsel von IgM zu IgE über eine Änderung der Transkription

der schweren Kette des Immunglobulins. [Kapp, 1997; Klimek, 1997; Klinke, 2000; Rothe, 1992]

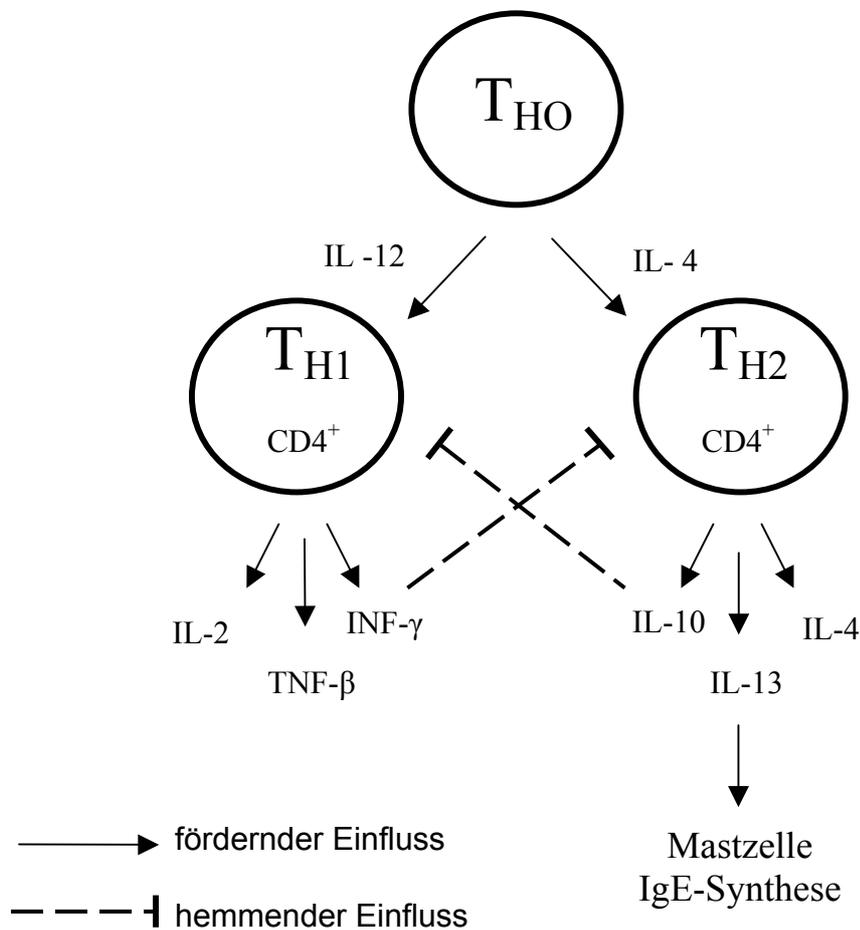


Abb.1: *T_{HO}-Zellen differenzieren sich interleukingesteuert, das führt zur zellulären oder inflammatorischen (T_{H1}) bzw. humoralen (T_{H2}) Immunabwehr.*

Nach Sensibilisierung führt eine erneute Exposition des Allergens zu einer Mastzelldegranulation. Durch die freigesetzten Mediatoren (z.B. Histamin, Prostaglandin, Zytokine) kommt es innerhalb weniger Minuten zur örtlichen Sofortreaktion mit Ödem und Erythem oder zur systemischen anaphylaktischen Reaktion. Außerdem können die freigesetzten Mediatoren auch Spätreaktionen initiieren. [Okuda, 1986; König, 1994; Schmutzler, 1997]

1.6.2. Zytokine des Immunsystems

Immunologische Prozesse, einschließlich allergischer Reaktionen, werden durch eine Vielzahl miteinander interagierender Zytokine beeinflusst. Zytokine sind eine Gruppe von Proteinen und Glycoproteinen, die als Botenstoffe fungieren und für die Zell-Zell-Interaktionen eine bedeutsame Rolle spielen. [Kapp, 1991]

Tab. I: Zusammenstellung der wichtigsten Zytokine und deren Funktion. [Kapp, 1991; König, 1994; Ring, 1992]

Zytokin	Bildungsort	Funktion
IL - 2	T-Zellen (T _{H1})	Aktivierung von Immunzellen, im Besonderen zytotoxische T-Lymphozyten Wachstumsfaktor für aktivierte T-Zellen
IL - 3	Mastzellen T-Zellen (T _{H2})	Teilung und Proliferation hämatopoetischer Stammzellen, Priming Voraktivierung von Basophilen Mastzellteilung
IL - 4	T-Zellen (T _{H2})	Wachstumsfaktor für aktivierte B-Zellen und Mastzellen Förderung v. T _{H2} -Zellen sowie IgE- u. IgG ₄ -Produktion Hemmung von T _{H1} -Zellen
IL - 10	T-Zellen	Hemmung von Makrophagen Hemmung von T _{H1} -Zellen und Natural-Killer-Zellen Aktivierung von B-Zellen inkl. Förderung der IgG-Produktion

IL - 12	Phagozyten Antigen- präsentierende Zellen	Förderung der T _{H1} -Entwicklung Hemmung der IgE-Produktion Förderung der Zytotoxizität von Natural-Killer- Zellen (NKZ) und Lymphokin-aktivierender Killer- Zellen Wachstumsfaktor für aktivierte T-Zellen und NKZ Antagonisierung von Anergie und Suppression
IL - 13	T-Zellen (T _{H2})	Hemmung der Makrophagenfunktion Induktion / Förderung von IgE- sowie IgG- und IgM-Produktion
TNF- β	T-Zellen Makrophagen	Zytotoxizität gegen Tumorzellen Wachstumsfaktor für Fibroblasten
IFN - γ	T-Zellen NK-Zellen	Förderung der Zytotoxizität (NKZ, T-Zellen) Aktivierung von Monozyten / Makrophagen Förderung von T _{H1} -Zellen Hemmung der T _{H2} -Zellen und der IgE-Produktion Proinflammatorischer Effekt
GM - CSF	T-Zellen Makrophagen Fibroblasten Endothelzellen	Förderung der Entwicklung von Monozyten u. Granulozyten Förderung der antigenrepräsentierenden Funktion von Makrophagen

1.6.3. Immunglobuline

Immunglobuline (Ig), auch als Antikörper bezeichnet, werden von Lymphozyten und Plasmazellen gebildet. Den Immunglobulinen gemeinsam ist der Aufbau aus jeweils zwei leichten (L) und zwei schweren (H) Ketten. Die Ketten besitzen unterschiedliche Aminosäuresequenzen. Dies führt zu einer Einteilung der Immunglobuline in fünf Klassen: IgA (α -Kette), IgD (δ -Kette), IgE (ϵ -Kette), IgG (γ -Kette) und IgM (μ -Kette).

Jede Kette besteht aus mehreren Domänen. Durch proteolytische Spaltung mit Papain erhält man ein antigenbindendes Fragment (Fab) und ein Fragment, welches leicht kristallisiert (Fc). Der distale Abschnitt des Fab-Fragmentes ist variabel. Die restliche Struktur ist innerhalb der einzelnen Ig-Klassen und Subklassen konstant (C-Region). Das "Fc-Fragment" bindet an die Fc-Rezeptoren der Zielzellen. Dadurch werden beispielsweise Komplementfixation, Monozytenbindung oder plazentarer Übergang vermittelt. Abb. 2 zeigt am Beispiel von IgG einen schematischen Überblick der molekularen Struktur der Immunglobuline.

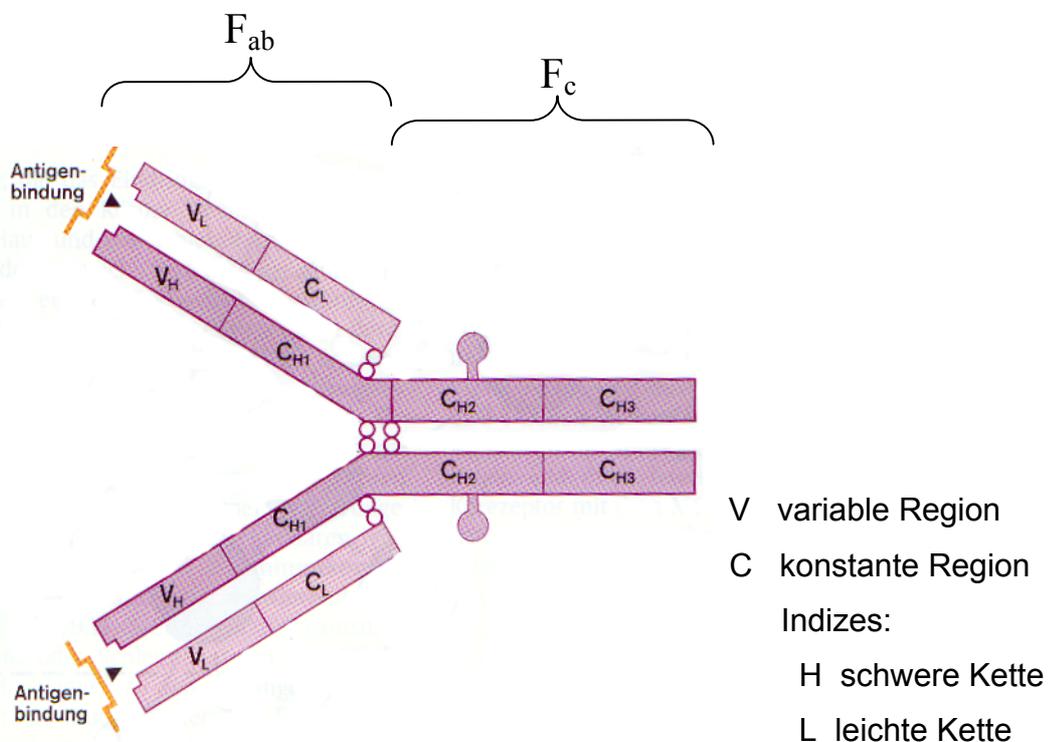


Abb. 2: Antikörpermolekül nach Klinke.
[Klinke, 2000]

IgA ist das vorherrschende Immunglobulin der Körpersekrete. Im Serum liegt es als Monomer vor, in seromukösen Sekreten in dimerer Form. Durch ein zusätzliches Protein, die so genannte sekretorische Komponente, ist es vor Proteolyse geschützt.

IgG stellt das Hauptimmunglobulin des Blutes dar. Es wird hauptsächlich bei Antigenreexposition gebildet (Sekundärantwort). Man unterscheidet vier Subklassen je nach Anzahl und Lokalisation der Disulfidbrücken. Durch einen aktiven Transportmechanismus kann es als einziges Immunglobulin in den fetalen Kreislauf gelangen.

IgM hat eine kreisförmige (pentamere) Struktur. Diese Antikörper werden als frühe Immunantwort gebildet. Ihnen wird eine starke bakteriolytische Eigenschaft zugeschrieben.

IgD findet sich hauptsächlich an den Membranen von B-Zellen. Es scheint einen Einfluss auf die B-Zell-Differenzierung zu haben.

IgE bindet an Rezeptoren von Mastzellen und Basophilen. Es ist bei allergischen Erkrankungen, die Typ-I-vermittelt ablaufen, immunopathologisch bedeutend. Die Konzentration im Normalserum ist mit ca. 30 ng/ml sehr niedrig.

Tab. II: Einteilung der Immunglobuline in Klassen, entsprechend der Zusammensetzung des schweren Kettenteils. [Ring, 1992]

	IgA	IgD	IgE	IgG	IgM
% Anteil	15 %	< 1 %	< 1 %	70 - 75 %	10 %
Erscheinungsform	monomer / dimer	monomer	monomer	monomer	pentamer
Molekulargewicht (kDa)	160	185	196	150	900
schwere Ketten	$\alpha 1, \alpha 2$	δ	ϵ	$\gamma 1, \gamma 2, \gamma 3, \gamma 4$	$\mu 1, \mu 2$
leichte Ketten	κ oder λ	κ oder λ	κ oder λ	κ oder λ	κ oder λ

1.6.4. Immunglobulin E

Beim Immunglobulin E müssen zwei Klassen unterschieden werden: Das Gesamt-IgE und das allergenspezifische, gegen ein bestimmtes Allergen gerichtete IgE.

Bei allergischer Reaktion kommt es über den Fc-Anteil des IgE-Antikörpers zur Bindung an Rezeptoren auf der Oberfläche von Mastzellen und basophilen Leukozyten. Nach weiterer Stimulation durch spezifische Allergene binden sich diese zell-gebundenen IgE-Moleküle über das Fab-Fragment an das Allergen. Der so entstandene Komplex stimuliert seinerseits Mastzellen und basophile Leukozyten. Daraufhin werden verschiedene vasoaktive Amine ins Blut freigesetzt. Dazu gehören Histamin, Serotonin und Kinine. Histamin bewirkt unter anderem eine gesteigerte Gefäßpermeabilität, Vasodilatation und vermehrte Produktion von Sekreten meist hoher Viskosität (beispielsweise in der Bronchialschleimhaut). Somit kann es zu Symptomen wie Urtikaria, Rhinitis, Entzündungen, Asthma oder der Maximalvariante, dem anaphylaktischen Schock kommen.

Die Menge aller messbaren Immunglobuline E wird durch den **Gesamt-IgE-Spiegel** erfasst, ohne die Allergenspezifität zu berücksichtigen. Der Gesamt-IgE-Spiegel wird häufig als orientierende Methode zur Allergiediagnostik eingesetzt. Werte $< 0,35$ kU/ml sprechen gegen eine Atopie, für eine Allergie sprechen Werte >100 kU/ml. Diese Werte können jedoch individuell stark schwanken. Der Gesamt-IgE-Spiegel kann auch bei allergischen Erkrankungen im Einzelfall noch im Normbereich liegen. Beispielsweise finden sich erhöhte IgE-Werte bei viralen Infekten, infektiöser Mononukleose, Parasitosen oder nichtatopischen Dermatosen. Ca. 33% der Patienten mit nicht-allergischem Asthma weisen ebenfalls erhöhte IgE-Gesamt-Spiegel auf. Andererseits werden bei Hypogammaglobulinämie sehr niedrige IgE-Gesamt-Spiegel gemessen. Der Gesamt-IgE-Wert hat sich daher nicht, wie anfänglich erhofft, als sicheres Unterscheidungsmerkmal erwiesen. [Baur, 1993; Debelic, 1996; Leupold, 1997; Rothe, 1992]

Das **spezifische IgE** informiert darüber, ob und in welchem Ausmaß IgE-Antikörper gegen ein bestimmtes Allergen vorhanden sind. Allerdings muss eine messbare Sensibilisierung nicht notwendigerweise mit einem klinischen Krankheitsbild korrelieren. Damit eine Allergie als gesichert gilt, müssen entsprechende anamnestische Angaben und gegebenenfalls ein positiver Provokationstest vorliegen. Unter längerer Allergenkenz, nur kurzzeitiger Allergenexposition oder schwacher Sensibilisierung können spezifische Antikörper fehlen. Auch bei Hyposensibilisierung oder Immuntherapie kann durch Konkurrenz um die Bindungsstellen zwischen spezifischen IgG-Antikörpern und spezifischem IgE ein niedrigerer Werte von IgE vorgetäuscht werden.

Für den Nachweis von spezifischem IgE hat die Fa. Pharmacia ein Referenzsystem entwickelt. Es arbeitet mit den so genannten Pharmacia-RAST-Units (PRU). Die daraus resultierenden RAST-Klassen können aus Tab. III abgelesen werden. Auch neuentwickelte Nachweismethoden orientieren sich an den Klassengrenzen des PRU-Systems, sodass die Untersuchungsergebnisse der unterschiedlichen Methoden vergleichbar bleiben. [Allergopharma, 1997; Klimek, 1997]

Tab. III: Standardwerte für RAST-Klassen für spezifisches IgE.

RAST-Klasse	PRU (Pharmacia RAST Units)
0	< 0,35
1	0,35 - 0,69
2	0,7 - 3,49
3	3,5 - 17,49
4	> 17,5

2. Methoden

2.1. Patientenauswahl

In die Studie wurden Patienten mit bekannter und sicher diagnostizierter Allergie aufgenommen. Als Einschlusskriterium galt eine positive allergische Anamnese, ein positiver Hauttest (kutaner und intrakutaner Test) sowie eine positive in-vitro-Diagnostik mit hohem spezifischen Antikörperspiegel im Serum (RAST-Klassen 3 und 4). Aus der Gruppe der saisonalen Allergien wurden solche auf Roggen- sowie Gräserpollen eingeschlossen. Der Gräsermix enthielt Antigenbestandteile der Pollen von Honiggras, Knäuelgras, Raygras, Wiesenlieschgras, Wiesenrispengras und Wiesenschwingel. Als Vertreter der ganzjährigen Allergie wurden Patienten mit Allergien auf die beiden Hausstaubmilben *Dermatophagoides pteronyssinus* und *Dermatophagoides farinae* in die Studie aufgenommen.

Die Kontrollgruppe setzte sich aus Patienten zusammen, in deren Krankengeschichte sich kein Hinweis auf ein allergisches Geschehen fand. Trotzdem wurde zusätzlich bei jedem einzelnen Probanden eine Allergie im Prick- und Intrakutantest und mit dem RAST-Test im Serum ausgeschlossen.

2.2. Entnahme des Speichels

Speichel ist ein leicht und ohne Belastung des Patienten zu gewinnendes Material. In dieser Studie wurde Mischspeichel verwendet. Der Speichel setzte sich hauptsächlich aus Sekretanteilen der paarigen Glandula parotis, Glandula submandibularis sowie Glandula sublingualis zusammen. Im Mundboden sammelt sich auch ohne Stimulation nach wenigen Sekunden ein Speichelsee an, den wir mit einer Einmalpipette aufnahmen. Die Speichelproben wurden zunächst bei -20°C eingefroren. Nach dem Auftauen wurden die Proben zentrifugiert und der wasserklare Überstand abpipettiert. [Haeckel, 1988]

2.3. Aufbereiten des Speichels

Dem Ziel dieser Arbeit folgend sollte durch die Analyse von Speichelproben eine allergische Erkrankung nachgewiesen werden. Aussichtsreich erschien hierfür die Bestimmung des Immunglobulins E (IgE). Bei Bestimmungen im Blut hatte sich eine Korrelation zwischen der Höhe der Konzentration des spezifischen IgE und dem klinischen Krankheitsbild ergeben. Aus diesem Grund wurden, wie im Weiteren beschrieben, in dieser Untersuchung des Speichels die Konzentration des spezifischen IgE gemessen.

2.3.1. Ultrazentrifugation

Die Konzentration des IgE im Speichel ist niedriger als im Blut. Deshalb schien eine Anreicherung des IgE im Speichel vorteilhaft. 500 µl Speichelüberstand wurde in Ultrafiltrations-Cups (Centrex UF Fa. Schleicher & Schuell) pipettiert. Diese enthielten als Filter eine hydrophile Zellulosemembran der Porengröße von 100 kDa. Es wurde 120 Minuten bei 3facher Erdbeschleunigung zentrifugiert (2K15 Ultrazentrifuge Fa. Sigma). Durch die Filtration wurden Wasser, Salze und kleinere Proteine abgetrennt. Auf der Filtermembran blieben die größeren Bestandteile zurück, darunter auch das gesuchte IgE mit einem Molekulargewicht von 200 kDa. [Debelic, 1996] Das Ultrazentrifugat wurde mit 120 µl TBS aufgenommen. Der TBS-Puffer enthielt in H₂O gelöste 68 mmol NaCl und 20 mmol Trisma-Base. Die Ultrazentrifugation ermöglichte eine 4fache Konzentrierung des Speichels. Das erhaltene Konzentrat diente als Ausgangsmaterial für die spezifische IgE-Bestimmung.

2.3.2. Enzymimmunoassay zur semiquantitativen Bestimmung von allergenspezifischem IgE

Die Menge des spezifischen IgE pro μl wurde sowohl im Blut als auch im Speichel bestimmt. Für diese Untersuchung wurde ein nichtkompetitiver Enzymimmunoassay eingesetzt. Eine chemisch aktivierte Papierscheibe mit kovalent gebundenen Allergenen stellte die Festphase dar. Hierauf wurde das zu untersuchende Substrat pipettiert, woraufhin das allergenspezifische IgE an das in der Festphase vorhandene Allergen band. Das überschüssige Substrat wurde anschließend ausgewaschen. Jetzt erfolgte die Zugabe von enzymmarkiertem Anti-Human-IgE, welches sich an das festphasegebundene spezifische IgE band. Wieder wurde ein Waschschrift zwischengeschaltet, um das überschüssige Anti-Human-IgE zu entfernen. Abschließend wurde die Menge des gebundenen, markierten Anti-Human-IgE bei 405 nm photometrisch bestimmt.

Der photometrisch bestimmte Wert (Extinktionswert) steht für alle Proben in einem festen Verhältnis zu dem im Untersuchungssubstrat enthaltenen spezifischen IgE. Kommerziell erhältliche Referenzseren enthielten eine definierte Menge spezifischer Antikörper (kU/ml). Die Konzentrationen der Referenzseren entsprachen den Standardwerten für das spezifische IgE in Tab. III auf Seite 14. Aus den Extinktionswerten der Referenzseren bildeten wir bei jeder der insgesamt 31 vorgenommenen Bestimmungen eine Eichkurve. [Allergopharma, 1997]

Eichkurve (7.12.99)

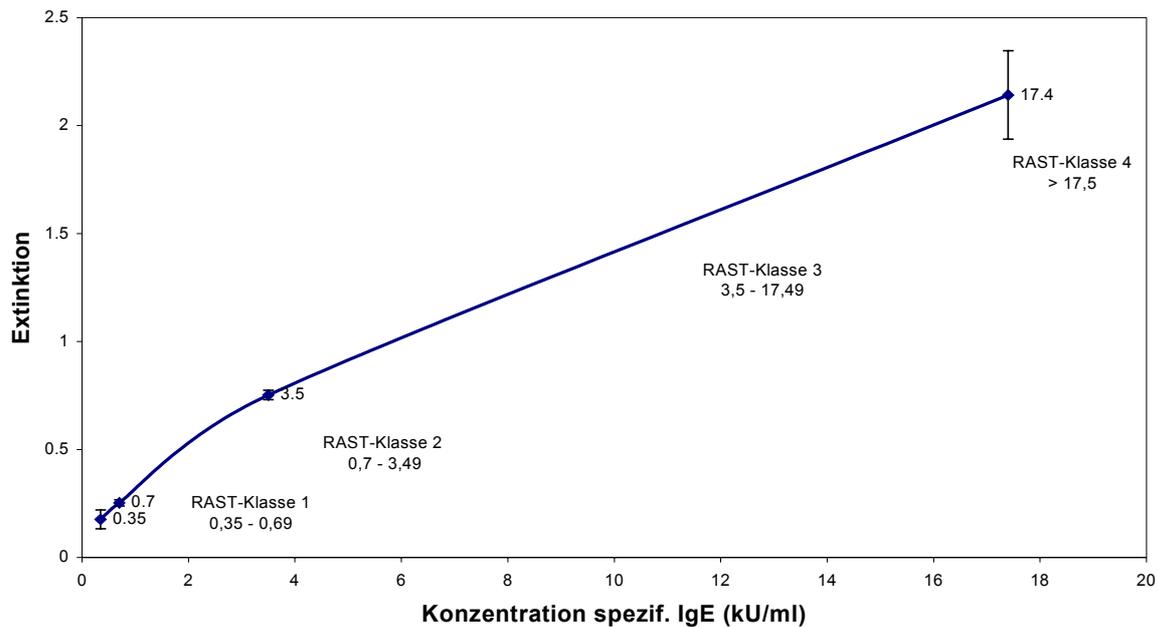


Abb. 3: Eichkurve für die Bestimmung des allergenspezifischen IgE.

2.3.3. Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Gesamt-IgE

Das Gesamt-IgE im Blut wurde mit einem Sandwich-Assay bestimmt. Zunächst wurde die Probe mit einem Antikörper-Enzym-Konjugat versetzt. Dieses Konjugat bindet sich an das Gesamt-IgE in der Probe und an den Antikörper auf dem Substrat. Nach einer Inkubationszeit von 2 Stunden verblieb nach dem Waschen ein Sandwichkomplex aus dem Gesamt-IgE der Probe und dem Anti-IgE an der Oberfläche der festen Phase. Das Antikörper-Enzym-Konjugat enthielt auch eine alkalische Phosphatase. Durch Zusatz von PNPP (p-Nitrophenylphosphat) konnte die alkalische Phosphatase in jenen Komplexen, an die Gesamt-IgE gebunden hatte, in einen gelben Farbstoff umgewandelt werden. Die Reaktion wurde mit Natronlauge gestoppt. Die Intensität des Farbstoffes wurde bei 405 nm photometrisch bestimmt. Auch hier wurde anhand von kommerziell hergestellten Standardseren eine Eichkurve ermittelt, mit deren Hilfe die photometrischen Werte in Konzentrationswerte (kU/ml) umgerechnet wurden. Die Gesamt-IgE-Konzentrationen der untersuchten Proben konnten direkt am Photometer abgelesen werden. [Allergopharma, 1998]

2.3.4. Gesamtprotein

Speichel enthält eine Reihe von Proteinen, dazu gehören neben Immunglobulinen Mucine, Enzyme und Wachstumsfaktoren. Um den relativen Anteil des spezifischen IgE darstellen zu können, erfolgte die Bestimmung des Gesamtproteins. Diese zusätzliche Messung war notwendig, um unsere Daten mit denen der Literatur vergleichen zu können.

Die Gesamtproteinkonzentration wurde nach der **Methode von LOWRY** bestimmt. Sie eignet sich besonders zum Nachweis geringer Proteinmengen. Im unstimulierten Gesamtspeichel beträgt die zu erwartende Proteinmenge circa 1,4-6,4 g/l. [Hochstrasser, 1992] In einem ersten Schritt wurde in alkalischer Lösung ein Kupfer-Proteinkomplex gebildet. Dieser Komplex reduzierte das Folin-Ciocalteus-Phenol-Reagenz (Fa.Merck). Der behandelte Speichel färbte sich dadurch intensiv blau. Die Konzentration des Farbstoffs wurde photometrisch bei 750 nm bestimmt. Um eine höhere Genauigkeit zu erzielen, wurden in allen Proben die Werte jeweils doppelt bestimmt. Auch hier wurde anhand der Extinktionswerte von Standardproben eine Eichkurve erstellt, aus der der Proteingehalt der unbekanntenen Proben abgelesen werden konnte. Als Eichkurve hatte sich ein annähernd linearer Verlauf ergeben. [Cooper, 1980; Lowry, 1957]

2.4. Statistik

Die Daten wurden mit dem Statistikprogramm SigmaStat (Jandel Corp.) und dem Tabellenkalkulationsprogramm Excel ausgewertet. Die einzelnen Gruppen wurden mit dem Test nach Mann-Whitney und Wilcoxon oder dem T-Testes verglichen. Als signifikant galten Differenzen von $P < 0,05$.

3. Ergebnisse

3.1. Alter und Geschlecht

115 Patienten wurden in die Studie einbezogen. Die Gruppe der Allergiker bestand aus 107 Patienten, 44 Männern und 63 Frauen. Das Durchschnittsalter betrug 30 Jahre, die Spannweite reichte von 7 – 63 Jahren. Die Gruppe der Nichtallergiker setzte sich aus 3 Männern und 5 Frauen zusammen. Das durchschnittliche Alter lag bei 40 Jahren (19 – 66 Jahre).

Die Altersverteilung der Allergiker zeigte vor allem bei den Frauen einen Gipfel im 3. Lebensjahrzehnt (Abb.4). Das Alter bei Erstmanifestation der Allergie lag bei 20 - 30 Jahren (Abb.5).

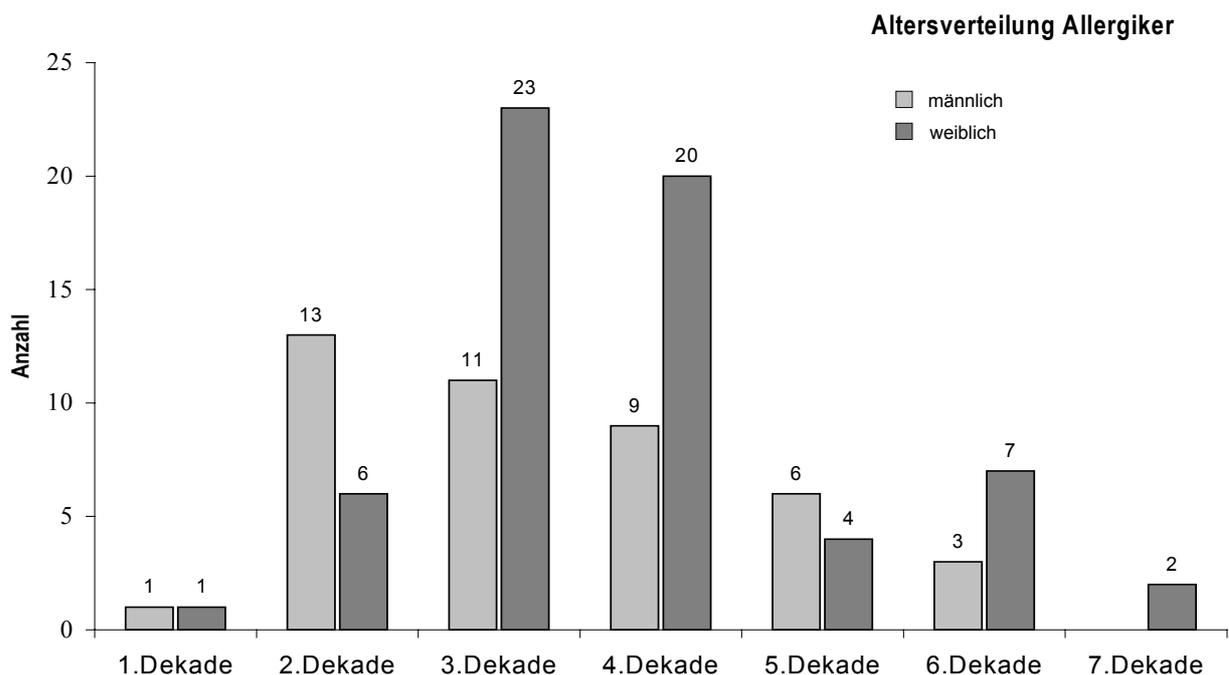


Abb. 4: Altersverteilung der Allergikergruppe.

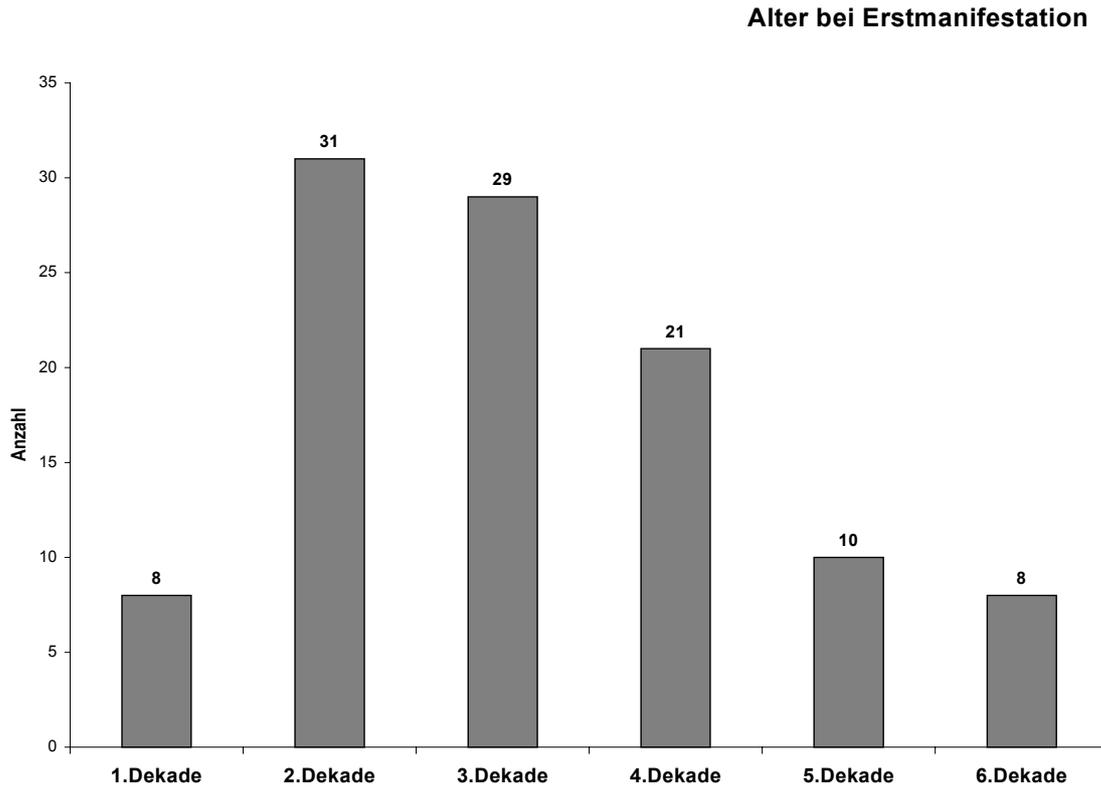


Abb. 5: Altersverteilung bei Erstmanifestation der Allergie.

Unser Kollektiv wurde entsprechend den bekannten Allergien in 4 Hauptgruppen unterteilt. Abb. 6 zeigt die Häufigkeitsverteilung dieser Gruppen. Bei den 107 Allergikern wurde insgesamt 154-mal der spezifische Antikörperspiegel bestimmt.

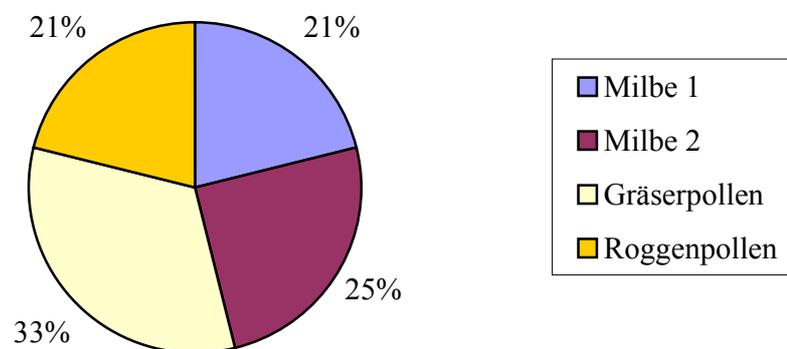


Abb. 6: Verteilungsmuster der Allergengruppen.

3.2. Anamnese

Anamnestisch gaben die befragten Allergiker an, seit etwa 4 Jahren und 4 Monaten unter der Allergie zu leiden. Dabei lag das Alter bei Erstmanifestation der Allergie bei 26 Jahren \pm 1 Jahr und 3 Monaten (3 – 57 Jahre).

Bei 83 Patienten (77 %) fielen in der Anamnese und Diagnostik weitere aerogene Allergien auf. Zusätzlich gaben 50 der Befragten (46 %) eine Allergie auf Nahrungsmittel an. Insgesamt waren 81 % (87 / 107) der Allergiepatienten von einem multiallergischen Geschehen betroffen und nur 19 % (20 / 107) hatten eine monovalente Manifestation. Bei 20 Patienten (19 %) wurde bereits eine spezifische Immuntherapie (Hyposensibilisierung) eingeleitet. Zum Zeitpunkt der Anamnese und Untersuchung befanden 50 der Studienteilnehmer (46 %), sie wären in ihrem Wohlbefinden durch allergisch bedingte Symptome beeinträchtigt. Nur bei 4 Patienten (4 %) fiel in der HNO-ärztlichen Untersuchung eine Polyposis nasi auf. Unter allergischem Asthma bronchiale litten 6 Patienten (6 %). (Abb.7)

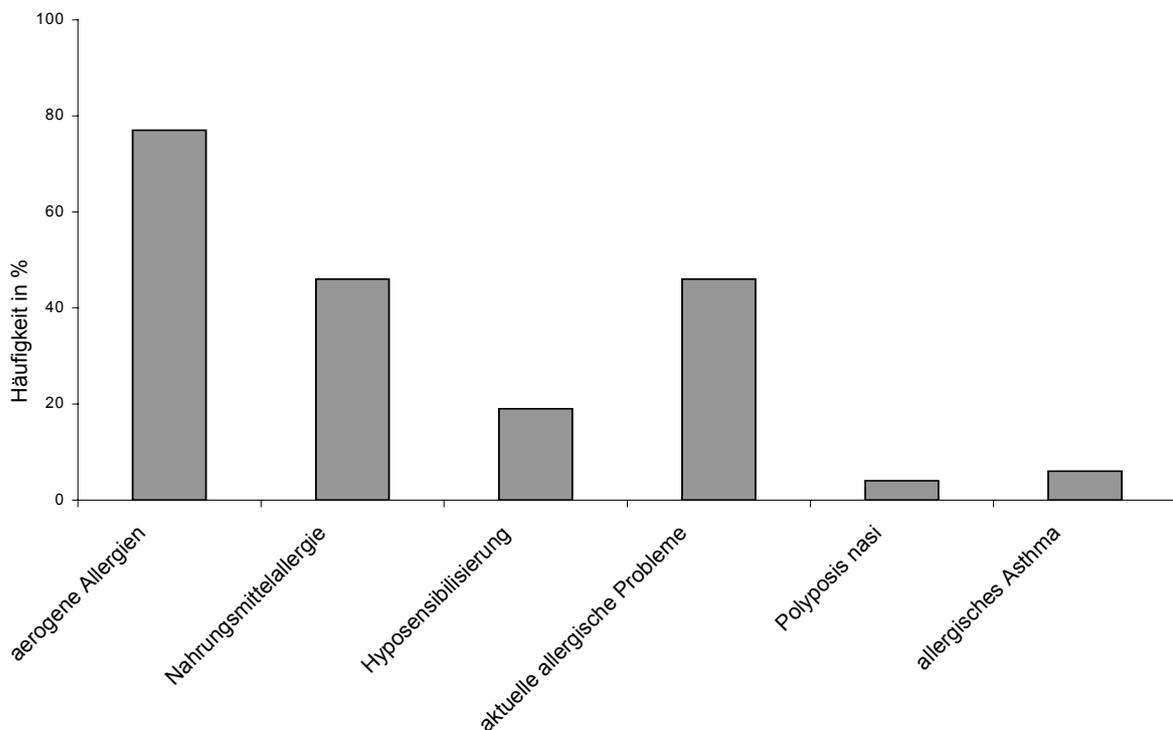


Abb. 7: Anamnese und Diagnostik.

3.3. Ergebnisse der Speicheluntersuchung, verglichen mit Negativkontrolle und Nichtallergikergruppe

Als Negativkontrolle wurde der EAST-Wert (Enzym-Allergo-Sorbent-Test) einer Kontrolllösung bestimmt. Diese entsprach der TBS-Lösung (68 mmol NaCl, 20 mmol Tris-Base), mit der das Speichelkonzentrat nach Ultrazentrifugation aufgenommen wurde. Der Mittelwert aus 16 Messungen lag bei $0,012 \pm 0,005$ kU/ml.

Bei den 8 Nichtallergikern wurde insgesamt 24-mal das spezifische IgE bestimmt, dabei ergab sich ein Mittelwert von $0,032 \pm 0,014$ kU/ml.

Die Werte unserer Negativkontrolle und der Nichtallergikergruppe unterschieden sich nicht signifikant.

Für die Allergiker (107 Patienten) lag der Mittelwert des spezifischen IgE im Speichel bei $0,3 \pm 0,09$ kU/ml. Damit unterschied er sich signifikant sowohl von den Werten der Negativkontrolle als auch von denen der Nichtallergikergruppe ($P=0,0113$).

3.4. Spezifisches IgE im Speichel und Serum

Bei den Allergikern lag die Konzentration des spezifischen IgE im Speichel im Mittel mit $0,3 \pm 0,09$ kU/ml deutlich niedriger als im Serum im Mittel mit $11,52 \pm 0,46$ kU/ml. Die Mittelwerte wurden auf die Allergene bezogen in Abb.8 graphisch dargestellt. In den einzelnen Gruppen ergab sich folgende Verteilung:

	Derm. farinae	Derm. pter.	Gräsermix	Roggenpollen
Serum-IgE (kU/ml)	$11,17 \pm 0,98$	$10,44 \pm 0,92$	$12,6 \pm 0,84$	$11,39 \pm 0,95$
Speichel-IgE (kU/ml)	$0,52 \pm 0,34$	$0,1 \pm 0,02$	$0,23 \pm 0,06$	$0,45 \pm 0,27$

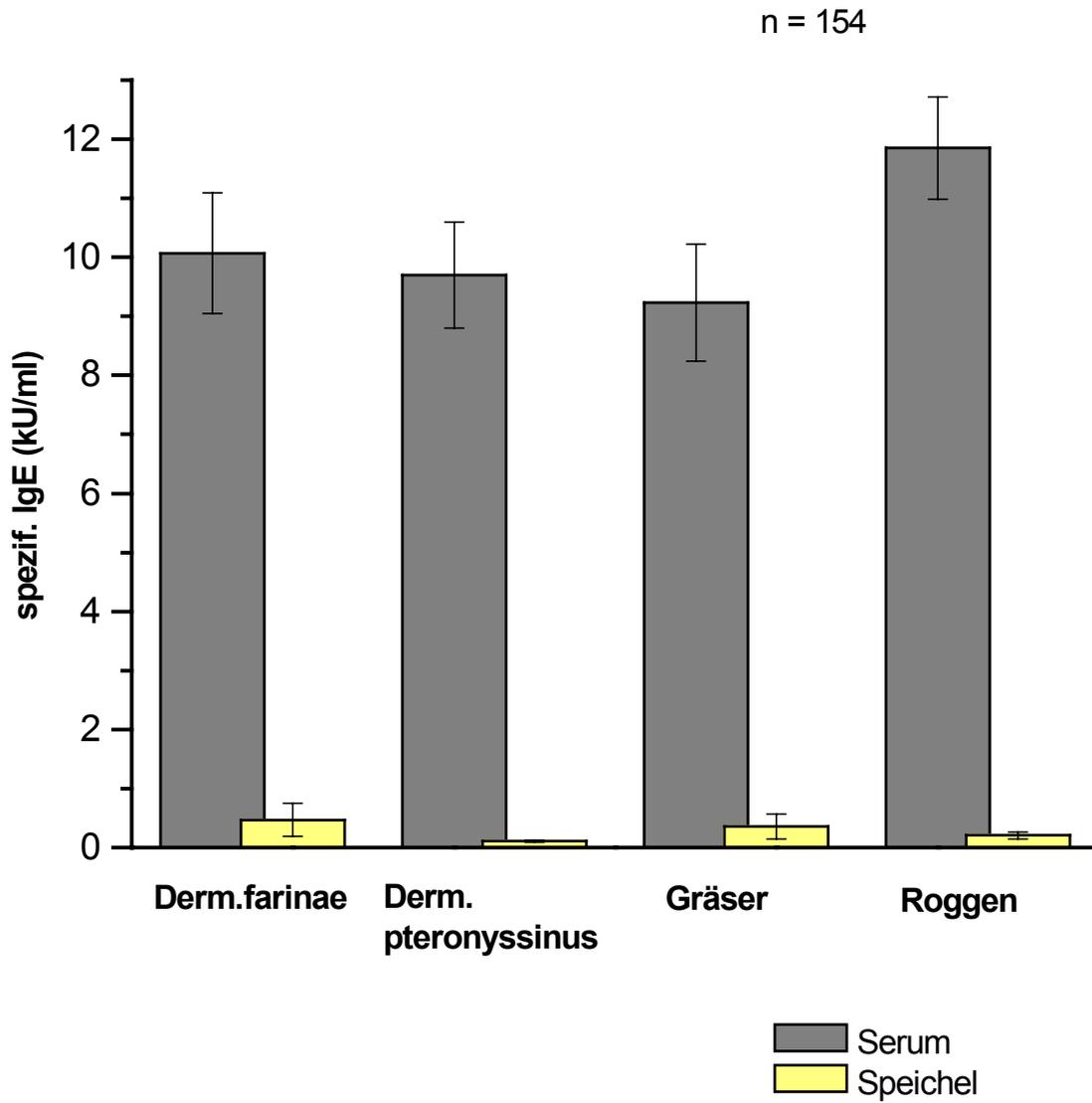


Abb.8: Darstellung der spezifischen IgE-Konzentrationen für die 107 Allergiker. Insgesamt wurde 154-mal das spezifische IgE im Speichel als auch im Serum bestimmt.

In der Vergleichsgruppe waren die Messwerte für das spezifische IgE aufgrund der nichtvorhandenen Allergie erwartungsgemäß deutlich geringer ($0,032 \pm 0,014$ kU/ml im Serum vs. $0,018 \pm 0,007$ kU/ml im Speichel). (Abb. 9)

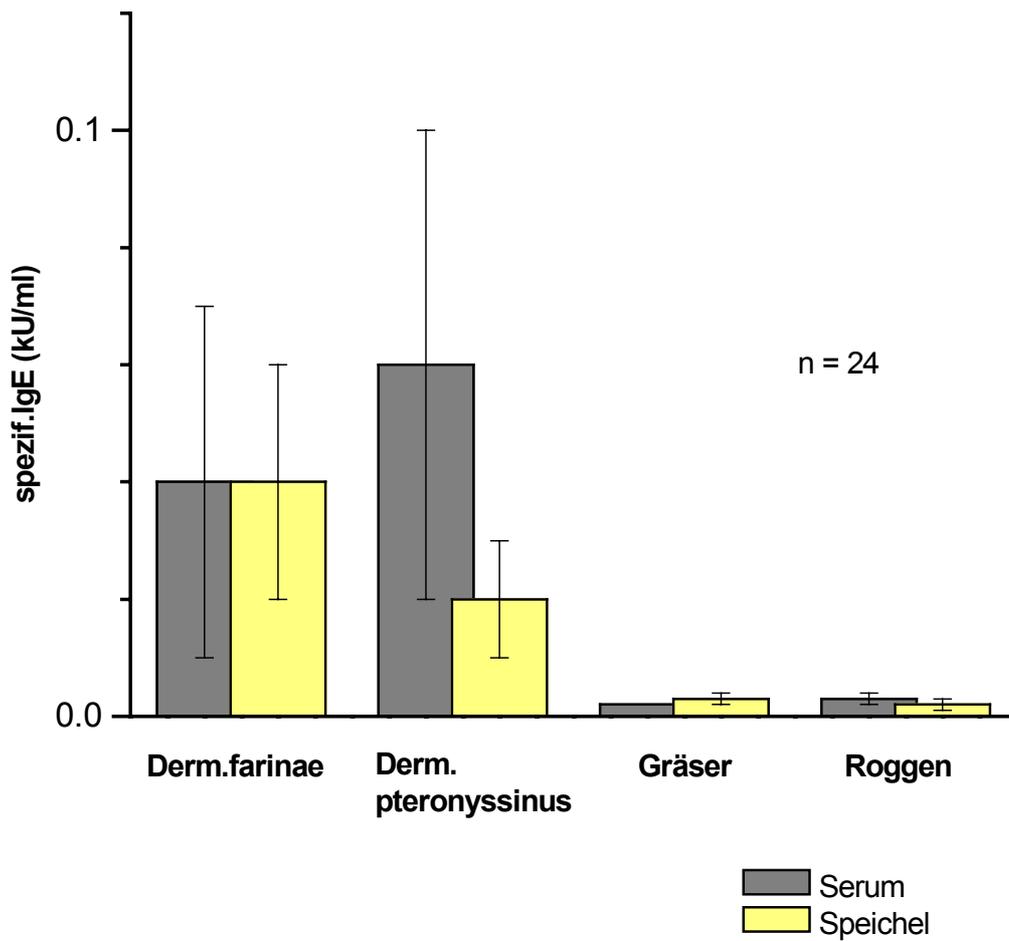


Abb. 9: Darstellung der spezifischen IgE-Konzentrationen innerhalb der 8 Nichtallergiker, aufgeschlüsselt nach Serum und Speichel. Das spezifische IgE wurde 24-mal bestimmt.

3.4.1. "Positives" Speichel-IgE

Ähnlich wie bei den Untersuchungen des IgE im Blut konnte auch im Speichel nicht bei jedem Allergiker ein erhöhter spezifischer IgE-Spiegel nachgewiesen werden. Angelehnt an die Literatur wurden daher auch in dieser Studie zwei Gruppen gebildet. Proben mit IgE-Konzentrationen $\geq 0,05$ kU/ml galten als erhöht, als positiv und Proben mit kleineren Werten als negativ. [Rasp, 1990; Vernejoux, 1994]

Tab. IV: Anteil der als "positiv" gewerteten spezifischen IgE im Speichel.

	"positiver" Speichel-Test (IgE > 0,05 kU/ml)	
	Absoluter Anteil	Prozentualer Anteil
Gräserpollen	20 / 33	61 %
Roggenpollen	32 / 51	63 %
Derm. farinae	23 / 32	72 %
Derm. pteronyssinus	21 / 38	55 %
Insgesamt	96 / 154	62 %

Die Gruppe mit positivem spezifischen IgE-Nachweis wurde entsprechend den durch die Serumuntersuchung festgestellten RAST-Klassen weiter unterteilt. Es zeigte sich tendenziell, dass höhere RAST-Klassen auch den höheren Trefferanteil an positiven Speichelwerten aufwiesen.

Die einzelnen Ergebnisse der als positiv zu wertenden Daten sind für die Milbengruppe und Pollenallergikergruppe in Abb. 10 zusammengestellt.

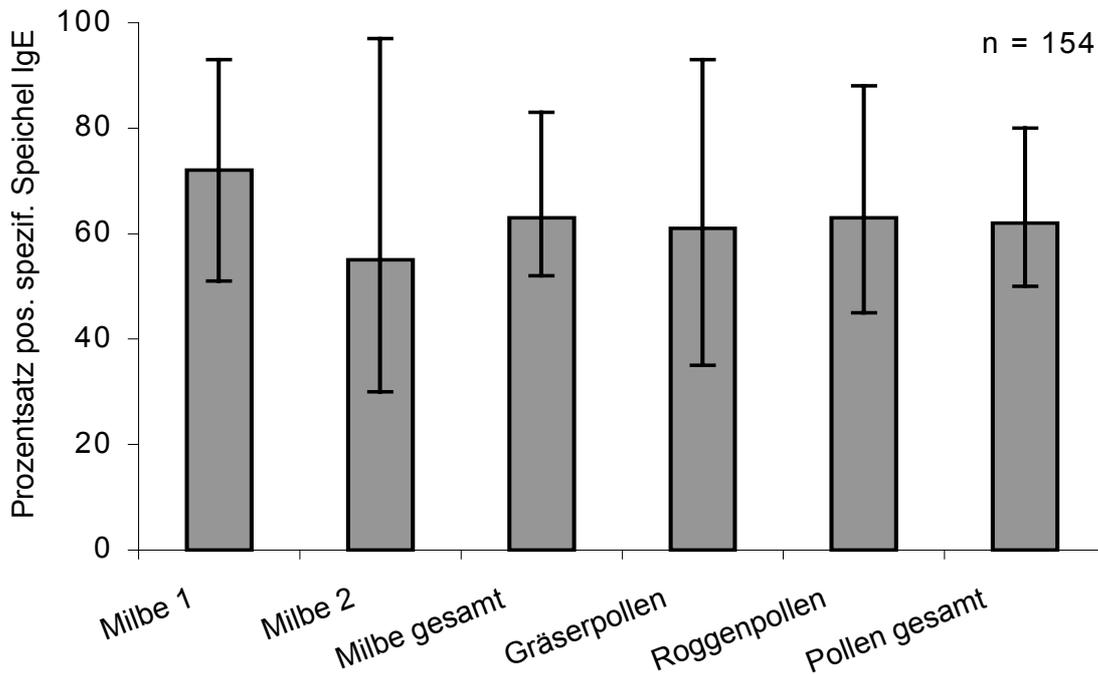


Abb. 10: *Prozentsatz der als positiv gewerteten Speicheluntersuchungen für die Gruppe der Milbenallergien und Pollenallergien.*

Die Gruppe der Nichtallergiker, die als Kontrolle dienten, wurde in gleicher Weise ausgewertet. Auch hier wurden Konzentrationen des spezifischen IgE-Wertes über 0,05 kU/ml als positiv gewertet. Da die Kontrolle gerade daraufhin selektiert wurde, dass im Blut kein erhöhtes spezifisches IgE nachweisbar war, handelte es sich jetzt um falsch positive Ergebnisse. In der Gruppe der Pollen wurde in 10 Proben kein falsch positives Ergebnis gefunden, in der Gruppe der Milben bei 2 von 14.

3.4.2. Ergebnisse bezogen auf Einzelallergene

Nachfolgend werden die einzelnen Messwerte des spezifischen Speichel-IgE ausgewertet.

3.4.2.1. Gräserpollenmix

Bei den Gräserallergikern (n=51) konnten signifikante Unterschiede in der Konzentration des spezifischen IgE zwischen den Speichelwerten der Allergiker und der Nichtallergiker gemessen werden. Die Unterschiede waren auch innerhalb der einzelnen RAST-Klassen signifikant (Tab. V und VI).

Tab V: Spezifisches IgE für Gräser (kU/ml), n=51.

	Serum	Speichel
Allergiker	12,63 ± 0,84	0,23 ± 0,06
Nichtallergiker	0,003 ± 0,007	0,002 ± 0,0004

Tab. VI: Ergebnisse spezif. IgE für Gräserpollen im Speichel (U-Test), n=51.

	RAST 3	RAST 4	RAST insg.
P (Wahrscheinlichkeit des α -Fehlers)	0,0022	0,0009	0,0007
Z (Variable der Gauß-Verteilung)	3,06	3,29	3,36
U (Prüfgröße des Tests nach Wilcoxon)	8	2	10
	sign.	sign.	sign.

3.4.2.2. Roggenpollen

Auch in der Gruppe der Roggenpollenallergien (n=33) zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Speichelwerten (spezifisches IgE) der Allergiker gegenüber den Speichelwerten der Nichtallergiker.

Tab. VII: Spezifisches IgE für Roggenpollen (kU/ml), n=31.

	Serum	Speichel
Allergiker	11,39 ± 0,95	0,45 ± 0,27
Nichtallergiker	0,002 ± 0	0,003 ± 0,0004

Tab. VIII: Ergebnisse spezif. IgE für Roggenpollen im Speichel (U-Test), n=31.

	RAST 3	RAST 4	RAST insg.
P (Wahrscheinlichkeit des α -Fehlers)	0,0051	0,0319	0,0045
Z (Variable der Gauß-Verteilung)	2,80	2,14	2,84
U (Prüfgröße des Tests nach Wilcoxon)	16	5	21
	sign.	sign.	sign.

3.4.2.3. Dermatophagoides farinae

Die spezifischen IgE-Werte bei den Milbe 1–Allergikern (n=32) zeigten keinen statistisch signifikanten Unterschied zu den Nichtallergikern (Tab. IX und X).

Tab. IX: Spezifisches IgE für Milbe 1 (kU/ml), n=32.

	Serum	Speichel
Allergiker	11,17 ± 0,98	0,52 ± 0,34
Nichtallergiker	0,003 ± 0,007	0,002 ± 0,0004

Tab. X: Ergebnisse spezif. IgE für Milbe 1 im Speichel (U-Test), n=32.

	RAST 3	RAST 4	RAST insg.
P (Wahrscheinlichkeit des α -Fehlers)	0,0921	0,2678	0,0993
Z (Variable der Gauß-Verteilung)	1,68	1,11	1,65
U (Prüfgröße des Tests nach Wilcoxon)	36,5	16,5	53
	n.s.	n.s.	n.s.

3.4.2.4. Dermatophagoides pteronyssinus

In der Gruppe der Allergie auf Hausstaubmilbe 2 (n=38) wurde wieder ein signifikanter Unterschied für das spezifische IgE zwischen Allergikern und Nichtallergikern ermittelt (Tab. XI und XII).

Tab. XI: Spezifisches IgE für Milbe 2 (kU/ml), n=38.

	Serum	Speichel
Allergiker	10,44 ± 0,92	0,104 ± 0,018
Nichtallergiker	0,061 ± 0,04	0,021 ± 0,012

Tab. XII: Ergebnisse spezif. IgE für Milbe 2 im Speichel (U-Test), n=38.

	RAST 3	RAST 4	RAST insg.
P (Wahrscheinlichkeit des α -Fehlers)	0,0135	0,0338	0,0095
Z (Variable der Gauß-Verteilung)	2,47	2,12	2,59
U (Prüfgröße des Tests nach Wilcoxon)	44,5	10	54,5
	sign.	sign.	sign.

Die Verteilung des spezifischen IgE wird in den Abb. 11–14 veranschaulicht. Die gemessenen Konzentrationen wurden auf ganze Zahlen gerundet.

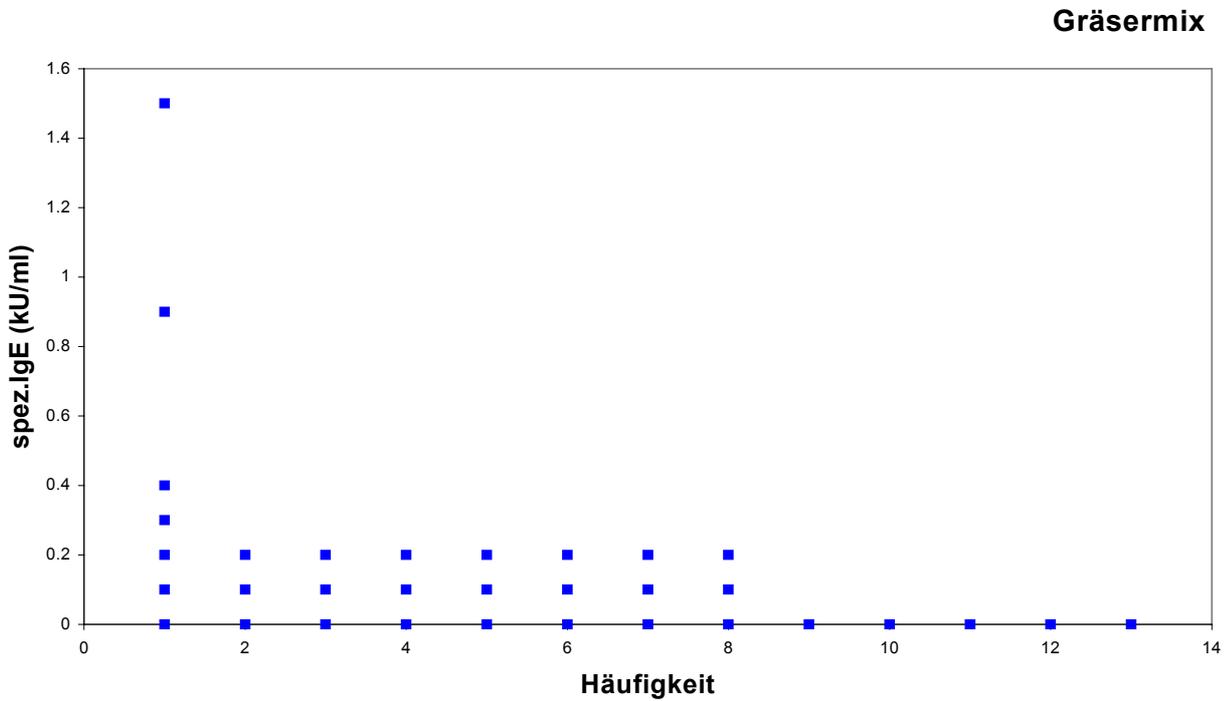


Abb. 11: Spezifisches IgE für Gräsermix im Speichel.

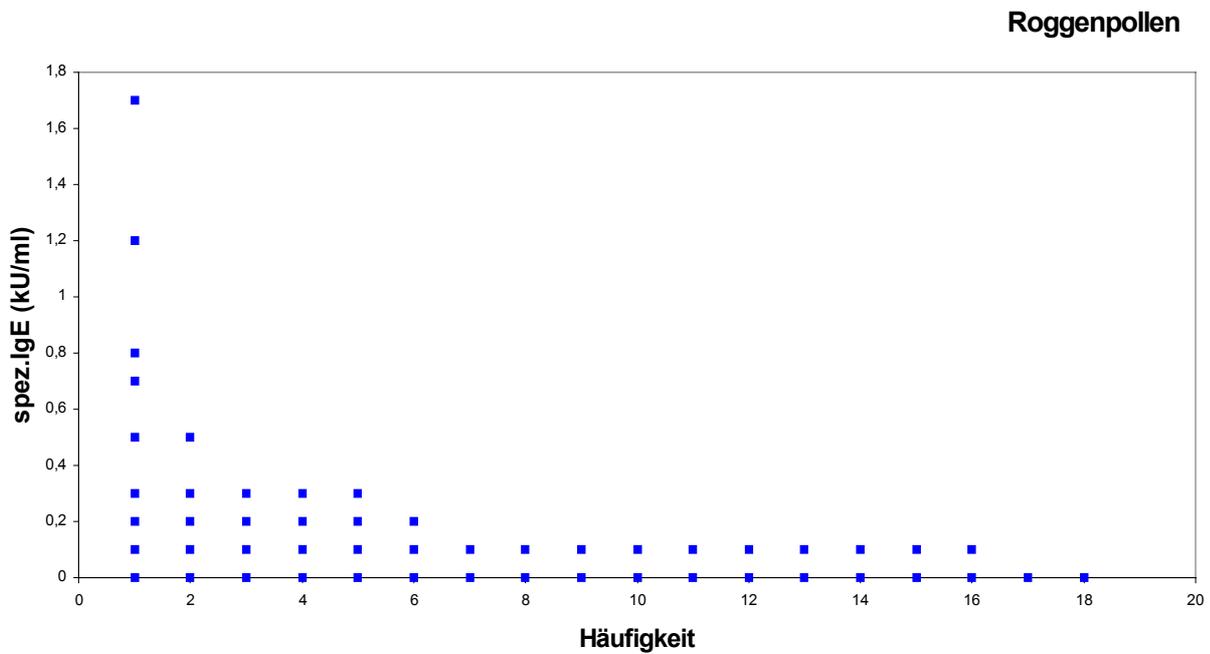


Abb. 12: Spezifisches IgE für Roggenpollen im Speichel.

Dermatophagoides farinae

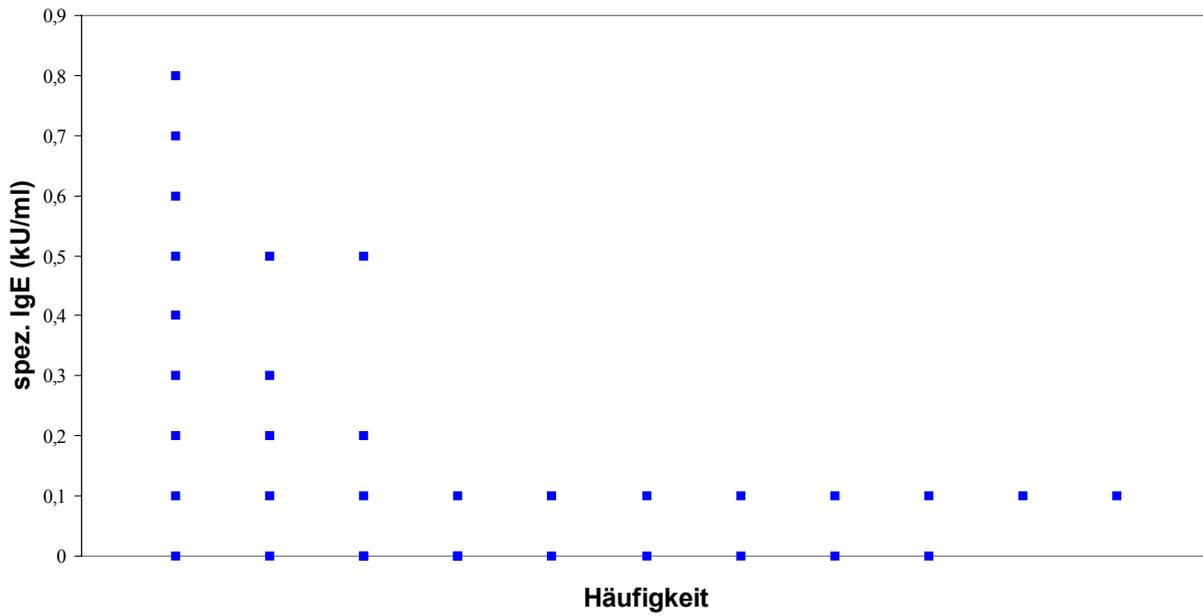


Abb. 13: Spezifisches IgE für *Dermatophagoides farinae* im Speichel.

Dermatophagoides pteronyssinus

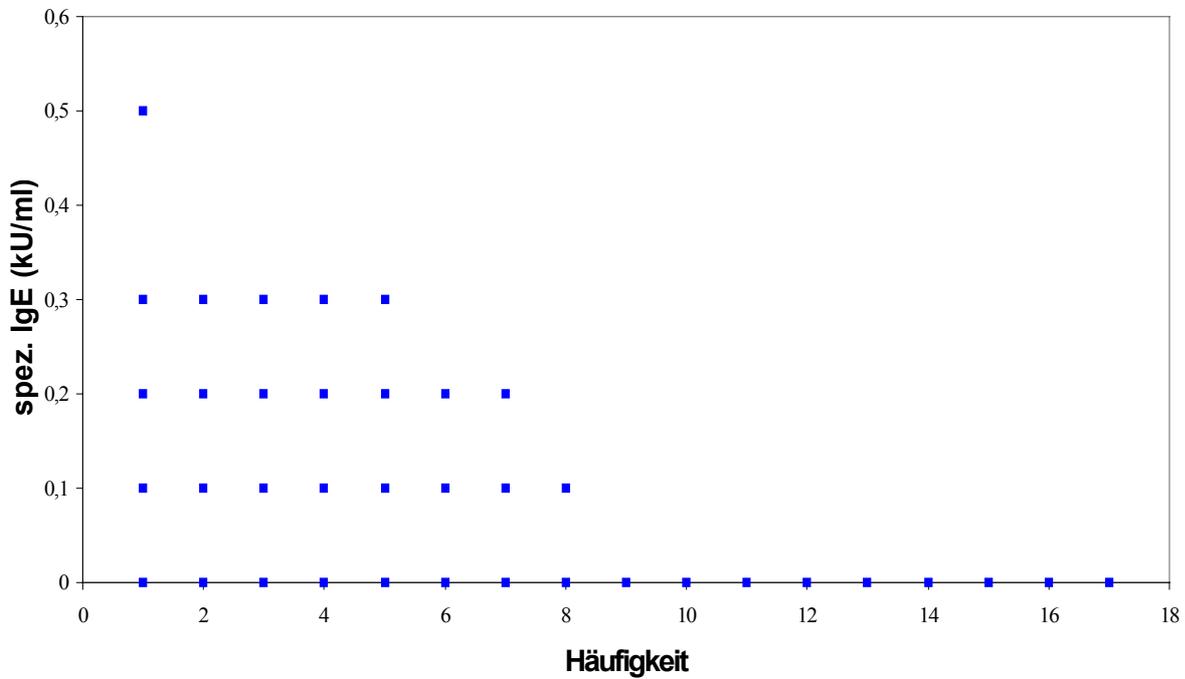


Abb. 14: Spezifisches IgE für *Dermatophagoides pteronyssinus* im Speichel.

3.5. Verhältnis zwischen spezifischem IgE und Gesamtprotein im Speichel

Die Konzentration des Gesamtproteins im Speichel wurde bestimmt. Das Gesamtprotein setzt sich zusammen aus Enzymen, Immunglobulinen, Mucinen und Wachstumsfaktoren. Für Allergiker und Nichtallergiker fanden sich keine signifikant unterschiedlichen Proteinkonzentrationen. Weiterhin stellten wir den relativen Anteil des allergenspezifischen IgE am Gesamtprotein dar. In der Allergikergruppe war der relative spezifische IgE-Anteil höher als in der Nichtallergikergruppe.

	Allergen	relativer IgE-Anteil am Gesamtprotein (kU spezif. IgE / mg Protein)
Allergikergruppe	Milbe 1	0,27 ± 0,07
	Milbe 2	0,14 ± 0,03
	Gräsermix	0,14 ± 0,02
	Roggenpollen	0,26 ± 0,01
Nichtallergiker	alle	0,011 ± 0,004

3.6. Gesamt-IgE im Serum

Das Gesamt-IgE im Serum der Allergiker lag im Durchschnitt bei $137,59 \pm 16,34$ kU/ml. Patienten mit nur einer Allergie sowie Patienten mit mehreren Allergien wurden zusammengefasst. Das Gesamt-IgE im Serum beider Patientengruppen war nicht signifikant unterschiedlich.

	Monovalente Allergie	Multiallergie
Gesamt-IgE im Serum	$103,11 \pm 36,03$ kU/ml (14,55 – 748,13)	$147,35 \pm 18,43$ kU/ml (5 – 791,02)

3.7. Spezifisches IgE im Speichel in Abhängigkeit der Beschwerdesymptomatik

Es liegt nahe, einen Zusammenhang zwischen der Höhe der Antikörperkonzentration und der Akuität sowie Intensität der Erkrankung zu vermuten. Die erhobenen Daten wurden unter diesem Gesichtspunkt analysiert.

32 Patienten litten zum Zeitpunkt, als Speichel entnommen wurde, an den typischen Beschwerden ihrer pollenassoziierten Allergie. Bei den Hausstaubmilbenallergikern gaben 47 Patienten zum Zeitpunkt der Probeentnahme akute allergisch bedingte Beschwerden an.

Nur für die Milbenallergiker tendierten die spezifischen IgE-Werte für Speichel und Serum jeweils in der symptomreichen Zeit zu höheren Werten als in der symptomarmen Zeit. Anders als erwartet, neigten die spezifischen IgE-Werte im Speichel und Serum der Pollenallergiker bei der saisonalen Entnahme zu niedrigeren Werten als bei der nichtsaisonalen Entnahme.

Tab. XIII: Milbenallergiker wiesen in der symptomreichen Zeit höhere Serum- und Speichel-IgE auf, bei Pollenallergikern konnte dies nicht nachvollzogen werden (n=154).

	Speichel-IgE (kU/ml)		Serum-IgE (kU/ml)	
	symptomreich	symptomarm	symptomreich	symptomarm
Milbe 1	0,65 ± 0,45	0,19 ± 0,009	10,25 ± 1,43	9,75 ± 1,4
Milbe 2	0,13 ± 0,02	0,08 ± 0,02	10,99 ± 1,25	7,99 ± 1,26
Gräserpollen	0,16 ± 0,05	0,29 ± 0,11	9,93 ± 1,6	12,58 ± 1,08
Roggenpollen	0,13 ± 0,07	0,50 ± 0,47	8,77 ± 2,0	10,63 ± 1,17

4. Diskussion

In den zurückliegenden Dekaden ist die Prävalenz allergischer Erkrankungen weltweit drastisch gestiegen. Dies betrifft im Besonderen das Asthma bronchiale, die atopische Dermatitis und die allergische Rhinitis. Die Prävalenz allergischer Erkrankungen hat sich in den USA innerhalb der letzten zehn Jahre verdoppelt. Dafür werden mehrere Faktoren verantwortlich gemacht, beispielsweise die schlechtere Luftqualität und die verminderte Zahl der frühkindlichen Infekte. Es gibt jedoch Hinweise, dass die Anlage für eine allergische Erkrankung auch vererbt werden kann. In Frage kommen dominante und rezessive Vererbungswege. Es wurden charakteristische Genloci auf fünf Chromosomen gefunden, die bedeutsamsten scheinen die Loci 5q23-57 zu sein. [Ganzer, 1997; Schapowal, 1997] All dies lässt darauf schließen, dass allergische Krankheitsbilder in Zukunft in noch stärkerem Maße in der HNO-Praxis anzutreffen sein werden.

Zum gesicherten Nachweis einer Allergie gilt neben der Anamnese ein positiver Haut- und Provokationstest. Zusätzlich kann der Nachweis der Allergie durch allergenspezifisches IgE im Serum gestützt werden. Ziel unserer Arbeit sollte es sein, neben diesen etablierten Tests ein nichtinvasives Verfahren zur Verifizierung einer Allergie zu erproben. Ausgangspunkt war der in zahlreichen Arbeiten beschriebene Nachweis allergenspezifischer Antikörper in unterschiedlichen Körperflüssigkeiten.

Sensi (1994) konnte im Nasensekret einen Anstieg von spezifischem IgE nach kurzfristiger Allergenexposition beobachten. Im Gegensatz dazu stieg das Serum-IgE nicht an. Das bedeutet, dass in der Nasenschleimhaut eine Immunglobulinproduktion und -ausschüttung stattfindet. Auch Eichner (1983) fand eine höhere Konzentration von Immunglobulinen im Nasensekret von Allergikern.

Bei der Untersuchung von Tränenflüssigkeit ließ sich eine hoch signifikante Korrelation zwischen IgE und allergischen Symptomen nachweisen. [Hoffmann-Sommergruber, 1996]

Speichel ist ein Körpersekret, das leicht und ohne Belastung für den Patienten zu gewinnen ist. Dies wäre insbesondere in der Allergiediagnostik von Kindern vorteilhaft.

Im Vorfeld der Studie versuchten wir, im Nativspeichel allergenspezifisches IgE nachzuweisen. Von insgesamt zehn unbehandelten Proben lag jedoch nur ein Wert oberhalb der Detektionsgrenze. Daher entschlossen wir uns, die Speichelproben zu konzentrieren.

In der Literatur werden mehrere Möglichkeiten angegeben, wie die unterschiedlichen Sekrete aufzubereiten sind. Mögliche Verfahren sind das Lyophilisieren und die von uns gewählte Ultrazentrifugation. [Deuschl, 1977; Huggins, 1975]

Die Methode des Lyophilisierens wurde verworfen, da sie einen insgesamt höheren technischen und zeitlichen Aufwand erfordert.

Die Patienten wurden nach den am häufigsten vorkommenden Allergien ausgewählt und in vier Gruppen eingeteilt. Dadurch konnten innerhalb eines überschaubaren Zeitraumes größere Fallzahlen erreicht werden. Es überwogen, wie in der Literatur angegeben, die pollenassoziierten Allergien. [Rasp, 1990; Vernejoux, 1994]

In die Untersuchung eingeschlossen wurden Patienten mit einer gesicherten Allergie der RAST-Klassen 3 und 4. Die Methode der spezifischen IgE-Bestimmung im Speichel sollte zunächst an hochallergischen Patienten validiert werden. In weiteren Untersuchungen müssten auch geringer ausgeprägte Allergien (RAST-Klassen 1 und 2) einbezogen werden. Hoffmann-Sommergruber (1996) untersuchte Tränenflüssigkeit im Immunoblot, einer als sehr empfindlich geltenden Methode. Jedoch konnten hiermit spezifische IgE-Antikörper nur bei RAST-Klassen > 2,5 nachgewiesen werden.

Die Altersverteilung der Patienten zeigte den auch in anderen Arbeiten beschriebenen Gipfel im frühen Erwachsenenalter. [Rasp, 1990; Zenner, 1988]

Das allergenspezifische IgE im Speichel lag trotz der Anreicherung durch Ultrazentrifugation im Vergleich zum Serum (11,52 kU/ml) im Mittel mit 0,3 kU/ml sehr niedrig. Die spezifischen IgE-Konzentrationen lagen zwischen 0,104 und 0,52 kU/ml bei der Allergikergruppe und bei den Nichtallergikern zwischen

0,002 – 0,021 kU/ml. Zu diskutieren ist, ob die im Speichel enthaltenen Proteasen und die bakterielle Kontamination eine Zersetzung bewirkten, bevor die Proben bei -20°C gelagert wurden. [Vernejoux, 1994]

Weiterhin ist eine Adhäsion von Proteinen und damit auch IgE an der Mundschleimhaut zu diskutieren. In der Literatur lassen sich dazu keine ausreichenden Informationen finden. Andere Arbeitsgruppen, die schon seit langer Zeit mit Speichel arbeiten, haben dieses Phänomen bisher nicht beobachten können. [Meyer, 2001]

Trotz dieser Schwierigkeiten erwies sich die Detektion von allergenspezifischen Antikörpern im Speichel als möglich.

Um unsere Daten weiter differenzieren zu können, wurden die Konzentrationen des gemessenen spezifischen Speichel-IgE in zwei Klassen eingeteilt: Als „positiver“ Befund galten Werte größer 0,05 kU/ml, Werte darunter als negativer Befund.

Diese Grenze lag deutlich über dem Leerwert von 0,012 kU/ml, gemessen in einer TBS-Pufferlösung (68 mmol NaCl, 20 mmol Trisma-Base), und signifikant über dem Mittelwert der Nichtallergikergruppe (0,032 kU/ml).

Wir verglichen unsere Ergebnisse mit denen der Arbeit von Vernejoux (1994). Unsere als positiv bewerteten Speichelanalysen für das spezifische IgE lagen bei Milbenallergie bei 61% gegenüber 55% bei Vernejoux, bei Pollenallergie fanden wir positives Speichel-IgE bei 62% unserer Patienten gegenüber 55%. Die Absolutkonzentrationen sind in Tab. XIV zusammengestellt.

Tab. XIV: Vergleich der eigenen Studie mit der Arbeit von Vernejoux (1994).

	Eigene Studie spezif. IgE Speichel (kU / ml)	Vernejoux spezif. IgE Speichel (kU / ml)
Gräserpollen	0,23 ± 0,06	0,124 ± 0,232
Roggenpollen	0,45 ± 0,27	
Milbe 1	0,52 ± 0,34	0,094 ± 0,0134
Milbe 2	0,104 ± 0,018	

Möglicherweise liegt der Grund für die differierenden IgE-Werte der Vernejoux'schen Arbeit darin, dass alle RAST-Klassen eingeschlossen wurden. In den RAST-Klassen 3 und 4 hatte er 77 % der Patienten mit einer Milbenallergie und 79 % mit einer Gräser-Pollenallergie. Wie bereits beschrieben (Seite 37), war es Hoffmann-Sommergruber (1996) in seiner Studie nicht möglich, spezifische IgE-Antikörper in Tränenflüssigkeit bei RAST-Klassen < 2,5 nachzuweisen. Bei Vernejoux könnten somit die Mittelwerte des spezifischen IgE im Speichel über alle RAST-Klassen gemittelt kleiner ausfallen.

Ein weiterer Grund könnte jedoch auch in der Methode der Speichelgewinnung liegen. Bei Vernejoux wurde der Speichel mit einem Watteträger gewonnen und im Anschluss daran zentrifugiert. Unklar ist, ob dabei in den Fasern Proteine und damit auch Antikörper haften blieben.

Der relative Gehalt des spezifischen IgE am Gesamtprotein im Speichel lag zwischen 140–270 U spezif. IgE/mg Protein. Wie bei Eichner (1983) ergab sich übereinstimmend eine direkte Proportionalität zum Gesamtprotein. Eichner fand in der Tränenflüssigkeit seiner Patienten einen relativen IgE Gehalt von 0,5–40 U spezif. IgE/mg Protein. In der Nichtallergikergruppe der eigenen Studie fanden sich 11 U spezif. IgE/mg Protein im Vergleich zu <1 U spezif. IgE/mg

Protein bei Eichner. Insgesamt scheint aber das Verhältnis von 20:1 zugunsten der Allergiker gleich zu bleiben.

Im Speichel von Milbenallergikern fand sich ein höherer spezifischer IgE-Wert während der Zeit, in der die Patienten über eine Beeinträchtigung durch ihre Allergie berichteten. Bei den Pollenallergikern konnte diese Beobachtung nicht nachvollzogen werden. Möglicherweise wurden bei der pollenassoziierten Allergikergruppe zu wenige Tests in der so genannten Allergie-Saison veranlasst. [Hoffmann-Sommergruber, 1996]

Desweiteren werteten wir die im Serum der Patienten gemessenen Gesamt-IgE-Konzentrationen aus. Wie bei Bousquet (1992) wurden die Patienten in zwei Gruppen aufgeteilt, nämlich Patienten mit Monoallergie und Patienten mit Mehrfachallergien. Bousquet konnte bei Patienten mit einer Monoallergie einen niedrigen Gesamt-IgE-Spiegel und bei polyvalent sensibilisierten Patienten einen deutlich höheren Gesamt-IgE-Spiegel aufzeigen. Schapowal postulierte, dass Patienten mit Monoallergien und so genanntem Low-IgE gut auf eine Hyposensibilisierungstherapie ansprechen. Im Gegensatz dazu spricht die Hyposensibilisierung bei polyvalenten Allergien oft kaum an. [Schapowal, 1997]

In unserer Arbeit konnte dieser Unterschied zwischen den IgE-Werten im Serum beider Gruppen nicht festgestellt werden. Die Gesamt-IgE-Spiegel im Serum der monovalent erkrankten Allergiker lagen mit $103 \pm 36,03$ kU/ml nur gering unter dem der multiallergisch erkrankten Patienten mit $147,35 \pm 18,43$ kU/ml. Der Unterschied war nicht signifikant. Eine mögliche Erklärung dafür könnten versteckte und daher noch nicht diagnostizierte Allergien in der Gruppe der Patienten mit Monoallergie sein.

In jedem Fall korrelierte die Konzentration des allergenspezifischen IgE im Speichel mit der im Serum. Daraus lässt sich eine direkte Abhängigkeit der Konzentration im Speichel von der des Serums ableiten.

5. Zusammenfassung

Dieser Arbeit liegen prospektive Daten von 107 allergisch erkrankten Patienten im Zeitraum von Dezember 1998 bis Mai 2000 zugrunde.

Das Ziel der Arbeit bestand darin, eine Allergie mit einem nichtinvasiven Verfahren nachzuweisen. Unter den verschiedenen dafür geeigneten Körperflüssigkeiten wurde der Speichel ausgewählt, weil er leicht und ohne Belastung des Patienten zu gewinnen ist.

Untersucht wurden Speichelproben von sicher diagnostizierten Allergikern sowie einer Kontrollgruppe ohne Allergie.

Ausgewählt wurden Patienten mit den am häufigsten auftretenden Allergien. Bei den ganzjährig Betroffenen bestanden allergische Reaktionen auf die beiden Hausstaubmilben *Dermatophagoides farinae* und *Dermatophagoides pteronyssinus*, im Fall der saisonalen Allergien auf die Gräser- und Roggenpollen.

Bei allen Patienten wurde das entsprechende allergenspezifische IgE im Serum und Speichel bestimmt. Ähnlich wie in der Literatur beschrieben, wurden Proben mit IgE-Konzentrationen $>0,05$ kU/ml als positiv eingestuft. [Rasp, 1997; Vernejoux, 1994]

Die gemessenen Leerwerte einer Pufferlösung (68 mmol NaCl, 20 mmol Trisma-Base) lagen bei 0,012 kU/ml.

Die Inzidenz unserer Positivreaktion lag in den vier verschiedenen Allergengruppen deutlich höher als in der Vergleichsgruppe der Nichtallergiker. Bei den ganzjährigen Allergien (Milben 1 und 2) fand sich bei 44 von 70 Patienten ein positiver Nachweis von spezifischem IgE im Speichel, im Vergleich zu 2 von 14 bei den Nichtallergikern.

Für die saisonal auftretenden Allergien lag die Anzahl ähnlich hoch. 52 von 84 der Pollenallergieklienten wurden gegenüber 0 von 10 Patienten der Nichtallergikergruppe in die positiven spezifischen Speichel-IgE eingestuft. Bei einer im Serum nachgewiesenen stärker ausgeprägten Form der Erkrankung (RAST-Klasse 4) wurde eine höhere Rate an Positivergebnissen auch im Speichel detektiert.

Die spezifischen IgE-Konzentrationen wurden mit dem saisonalen Beschwerdebild korreliert. Nur in der Gruppe der Milbenallergien fand sich bei aktueller Beschwerdesymptomatik ein höheres spezifisches IgE im Speichel und im Serum.

Ein symptomabhängiger Anstieg des spezifischen IgE innerhalb der Gruppe der pollenassoziierten Allergien konnte weder im Speichel noch im Serum nachgewiesen werden.

Die Detektion allergenspezifischer Antikörper im Speichel ist möglich. Zur Validierung wurden in unserer Arbeit zunächst nur hochallergische Patienten eingeschlossen. Weitere Studien sollten auch geringer ausgeprägte Allergien sowie eine größere Kontrollgruppe ohne Allergien einschließen. Ähnlich der RAST-Klassen-Einteilung im Serum muss ein Referenzschema zur sicheren Unterscheidung von Allergikern und Nichtallergikern erstellt werden.

Es wäre sicherlich interessant, die Untersuchung auf weitere Allergene, insbesondere solcher von Nahrungsmittel auszudehnen.

6. Literaturverzeichnis

- Albegger, K.: Diagnose der allergischen Rhinitis. Teil I. HNO. 1991; 39; 77-81
- Allergopharma Arbeitsanleitung. Gesamt IgE ELISA (RV) Enzymimmuno-assay zur quantitativen Bestimmung von Gesamt IgE im Serum. Joachim Ganzer KG; Reinbek; 1998
- Allergopharma Arbeitsanleitung. Spez. IgE ELISA (RV) Enzymimmunoassay zur semiquantitativen Bestimmung von allergenspezifischem IgE im Serum. Joachim Ganzer KG; Reinbek; 1997
- Bachert, C., A.Keilmann et al.: Mittelohrerguß und Allergie im Kindesalter. Laryngo-Rhino-Otologie. 1989; 68; 201-203
- Bachert, C., R. Wahl et al.: Determination of IgE-specificities in nasal secretions and sera of allergic subjects by crossed radio-immunelectrophoresis. Clinical and Experimental Allergy. 1990; 20; 305-309
- Bachert, C., W.Becker et al.: The role of nasal secretions in allergic disease of the nose. Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery. 1989; 246; 173-182
- Ballow,M., L.Mendelson et al.: Pollen-specific IgG antibodies in the tears of patients with allergic-like conjunctivitis. The Journal of allergy and clinical immunology. 1984; 376-380
- Baur,X., J.Ammon: Allergiediagnostik. Internist. 1993; 34; 73 – 86

- Bellantì, J.A., S.M.Nsouli et al.: Serous Otitis media and Food Allergy. Highlights in Food Allergy. Monogr. Allergy. Basel; 1996; 32; 188-194
- Bergmann, K.-Ch., R.H.Waldmann et al.: Antibody in Tears, Saliva and Nasal Secretions Following Oral Immunisation of Humans with Inactivated Influenza Virus Vaccine. International Archives of Allergy and Applied Immunology. 1986; 80; 107-109
- Bernstein, J.M., W.J.Doyle: Role of IgE-mediated Hypersensitivity in Otitis media with Effusion: Pathophysiologic considerations. The Annals of otology, rhinology & laryngology. 1994; 103; 15-19
- Bessot, J.C.: Klinische Aspekte der respiratorischen Milbenallergie. Allergologie. 1988; 254-258
- Businco, L., A.Cantani et al.: Anaphylactic reactions to a cow's milk whey protein hydrolysate (Alfa-Re, Nestle`) in infants with cow's milk allergy. Annals of Allergy. 1989; 62; 333 – 335
- Cavagni, G., R.Paganelli et al.: Passage of food antigens into circulation of breast-fed infants with atopic dermatitis. Annals of Allergy. 1988; 62; 361 - 365
- Cernelc, S., L.Zalokar: Correlation between the concentration of immunoglobulins in human serum and secretions. Allergologia et Immunopathologia (Madrid). 1982; 10; 367-372
- Cooper, T.G.: Biochemische Arbeitsmethoden. Berlin, New York: de Gruyter; 1980
- Corey, J.P., R.E.Adham et al.: The Role of IgE-Mediated Hypersensitivity in Otitis Media With Effusion. American Journal of Otolaryngology. 1994; 15(2); 138 – 144

- Debelic, M., R.Wahl: In-vitro-Tests: Immunglobulin E und G. Aus: Fuchs/Schulz; Manuale allergologicum IV; 9; 1996
- Deuschl, H., S.G.O.Johansson: Specific IgE antibodies in nasal secretion from patient with allergic rhinitis and with negative or weakly positive RAST on the serum. *Clinical Allergy*. 1977; 7; 195-202
- Doyle, W.J., T.Takahara et al.: The Role of Allergy in the Pathogenesis of Otitis Media With Effusion. *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 1985; 111; 502-506
- Eichner,H., A.A.Behbehani: Neuere Aspekte in der Allergiediagnostik. *Allergologie*. 1983; 345-348
- Fahy, J.H., J.Liu et al.: Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatic and from healthy subjects. *American Review of Respiratory Diseases*. 1993; 147(5); 1126-1131
- Frosch, P.J., R. Wahl et al.: Contact urticaria to rubber gloves is IgE-mediated. *Contact Dermatitis*. 1986; 14; 241 - 245
- Ganzer, U., C.Bachert, C.: Die nasale Hyperreaktivität. *Laryngo-Rhino-Otologie*. 1997; 76; 65-76
- Haeckel, R., D. Colic: Verfahren zur Speichelgewinnung. Aus: Speichel-diagnostik. Darmstadt: GIT-Verlag; 1988; 1-12
- Helfand, R.F., S.Kebede et al.: Comparative Detection of Measles-Specific IgM in Oral Fluid and Serum from Children by an Antibody-Capture IgM EIA. *Journal of Infectious Diseases*. 1996; 173; 1470 – 1474
- Hildmann, H., A.Hildmann: Der Paukenerguß. *Allergologie*. 1991; Nr. 6; 218-223

- Hochstrasser, K.,
H.Eichner: Aufgaben und Zusammensetzung des Speichels. Aus:
Naumann, H.H., J.Helms et.al.: Oto-Rhino-Laryngologie
in Klinik und Praxis; Stuttgart, New York: Thieme; Bd. 2
E.Kastenbauer; 1992
- Hoffmann-Sommergruber,
K., F.D. Ferreira et al.: Detection of allergen-specific IgE in tears of grass
pollenallergic patients with allergic rhinoconjunctivitis.
Clinical and Experimental Allergy. 1996; 26; 79-87
- Host, A.: Mechanisms in adverse reactions to food. The Ear.
Allergy. 1995; 50; 64-67
- Host, A.: Otitis serosa: A food Allergy? Highlight in Food Allergy.
Monogr. Allergy; Basel; 1996; 32; 195-197
- Huggins, K.G.: Local Production of Specific IgE Antibodies in Allergic-
Rhinitis Patients with negative Scin Tests. The Lancet.
1975; 148-150
- Hurst, D.S.: Associations of Otitis Media with Effusion and Allergy as
Demonstrated by Intradermal Skin Testing and
Eosinophil Cationic Protein Levels in Both Middle Ear
Effusions and Mucosal Biopsies. Laryngoscope. 1996;
1128-1137
- Hyppa,T.: Studies of immunologic and inflammatory factors in saliva
in patients with asthma and in patients with periodontitis.
Journal Clinical of Periodontology. 1981; 8(6); 500-507
- Ikura, Y., K.Akimoto
et al.: How to Prevent Allergic Disease. I.Study of specific IgE,
IgG and IgG4 Antibodies in Serum of Pregnant Mothers,
Cord Blood and Infants. International Archives of Allergy
and Applied Immunology. 1989; 88; 250 – 252

- Juliusson, S., G. Karlsson et al.: Metachromatic, IgE-bearing and tryptase-containing cells on the nasal mucosal surface in provoked allergic rhinitis. *Acta pathologica, microbiologica et immunologica Scandinavica*. 1994; 102; 153-160
- Kapp, A., J.Denburg et al.: Arbeitsbericht: Allergologische In-vitro-Diagnostik - Trends und Möglichkeiten in der Zukunft. *Allergologie*. 1991; 116-121
- Kersten, W.: Hauttest-inhalativer Provokationstest-RAST. *Allergologie*. 1980; 321-325
- Kersten, W.: Diagnostik der Pollinose in der Praxis. *Allergologie*. 1985; 1. Sonderheft; 1-5
- Klimek, L. et al.: *Allergologie und Umweltmedizin*. Stuttgart, New York: Schattauer, 1997
- Klinke, R.; S. Silbernagel: *Lehrbuch der Physiologie*. 2. Auflage, Stuttgart, New York: Thieme, 2000
- König, W.: *Grundlagen und Mechanismen der allergischen Reaktion*. Stuttgart, New York: Thieme, 1994
- Kownatzki, E.: *Grundlagen allergischer Reaktionen*. *Allergologie*. 1997; 543-545
- Lenter, C.: *Wissenschaftliche Tabellen Geigy, Teilband Körperflüssigkeiten*. 8. Aufl., Basel; 1977; 4. Nachdruck 1985; 111-120
- Leonardi, A., B.Borghesan et al.: Eosinophil cationic protein in tears of normal subjects and patients affected by vernal keratoconjunctivitis. *Allergy*. 1995; 50; 610-613

- Leonhardt, L., S.J.Molitor: Nachweis lokaler spezif. IgE-Antikörper im Initialstadium der allerg. Rhinitis. 1998; 7; 96 - 98
- Leupold, W., T.Hirsch: Besonderheiten der allergologischen Diagnostik im Kindesalter. Allergologie. 1997; 571-576
- Lowry, O.H.,
N.J.Rosenbrough et.al.: The Journal of biological chemistry. 1951; 193; 265-275
- Magnusson, C.G.M.,
P.L.Masson: A Reappraisal of IgE Levels in Various Human Secretions by Particle Counting Immunoassay Combined with Pepsin Digestion. International Archives of Allergy and Applied Allergy. 1985; 77; 292-299
- Meyer, P.: Persönliche Mitteilung. Arbeitsgruppe Speichel, HNO-Klinik, Universität Greifswald, 2001
- Marcucci, F., L.Sensi: A new method for IgE detection in nasal Mucosa. Clinical and Experimental Allergy. 1998; 19; 15-162
- Miadonna, A., L.Leggieri
et al.: Clinical significance of specific IgE determination on nasal secretion. Clinical. Allergy.1983; 13; 155-164
- Mösges, R., L.Klimek: Diagnostik und Therapie bei der allergischen Rhinitis. Allergologie. 1997; 584-590
- Nahm, D.-H., H.-S..Park: Analysis of induced sputum for studying allergen-specific IgE antibodies in airway secretion from asthmatic patients. Clinical and Experimental Allergy. 1998; 28(6); 686-693
- Nau, V.: Allergiediagnostik: In-vitro-Tests zur Bestimmung von Gesamt IgE und allergen-spezifischem IgE als Säule im diagnost. Gesamtkonzept. LUFT. 1998; Bd 3; 419 - 422; 438 - 440

- Negretti, F. , P.Casetta: Remarkable Increases of Salivary IgE Levels in Allergic Syndromes. *International Archives of Allergy and Applied Immunology*. 1990; 92; 103-104
- Niggemann, B., B.Ehnert et al.: Diagnostik der Nahrungsmittelallergie im Kindesalter - was ist gesichert? *Allergologie*. 1991; 208-213
- Nsouli, T.M., S.M.Nsouli et al.: Role of food allergy in serous otitis media. *Annals of Allergy*. 1994; 73; 215-219
- Ohashi, Y., Y.Nakai et al.: Ciliary Activity in the Tubotympanum during Type I Allergic Reaction. *Acta Otolaryngol.(Stockh.)*. 1991; Suppl.486; 162-175
- Okuda, M.: Mechanismen der allergischen Rhinitis. *Allergologie*. 1986; 203-210
- Perelmutte L., I. Emanuel: Assessment of in vitro IgE testing to the diagnose allergic disease. *Annals of Allergy*. 1985; 55(6); 762-766
- Pizzichini, E., M.M.Pizzichini et al.: Induced sputum, bronchoalveolar lavage and blood from mild asthmatics: inflammatory cells, lymphocyte subsets and soluble markers compared. *European Respiratory Journal*. 1998; 11; 828-832
- Platts-Mills, T.A.: Local production of IgG, IgA and IgE antibodies in grass pollen hay fever. *Journal of Immunology*. 1979; 122 (6); 2218-2225
- Pult, P.: Rhinitis allergica. *Allergologie*. 1980; 332-336
- Rasp, G., A.A.Behbehani: Rhinopathia allergica: Die diagnostische Wertigkeit von Gesamt-IgE und Phadiatop (sx1) in Serum und Nasensekret. *Allergologie*. 1990; 57-60

- Renz, H., R.Vestner et al.: Elevated Concentrations of Salivary Secretory Immunglobulin A Anti-Cow's Milk Protein in Newborns with Risk of Allergy. *International Archives of Allergy and Applied Immunology*. 1990; 92; 247-253
- Rettinger, G.: Physiologie. Aus: Naumann, H.H., J.Helms et.al.: *Oto-Rhino-Laryngologie in Klinik und Praxis*. Stuttgart, New York: Thieme; Bd. 2 E.Kastenbauer; 1992
- Ring, J.: *Angewandte Allergologie*. 2. Aufl., München: MMV Medizin Verl., 1992
- Rothe, Th.: 25 Jahre Immunglobulin E: heutiger Stellenwert der Gesamt-IgE-Bestimmung. *Allergologie*. 1992; 78-84
- Schapowal, A.: Nehmen die allergischen Krankheiten zu? *Allergologie*. 1997; 560-564
- Schleicher & Schuell Centrex UF, Centrifugal Ultrafilters; Dassel
- Schlenvoigt, G., R.Wahl et al.: Allergodip - Ein neuer Streifentest zum Nachweis spezifischer IgE-Antikörper in Seren von Allergikern im Vergleich mit CAP, Haut-Pricktest und der Klinik. *Allergologie*. 1997; 512-518
- Schmutzler, W.: Histamin als Mediator allergischer Reaktionen. *Allergologie*. 1997; 536-542
- Schopf, R.: *Allergologie systematisch*. 1. Aufl., Bremen und Lorch: UNI-MED; 1997
- Schreyer, H.: Ergebnisse einer Multicenterstudie zur Hyposensibilisierung von Pollinosis-Patienten mit einem tyrosin-asorbierten Gräser-und Roggenpollenextrakt. *Allergologie*. 1980; 92-100

- Sensi, L.G., G.L.Piacentini et al.: Changes in nasal specific IgE to mites of allergen exposure-avoidance: a comparison with serum levels. *Clinical and Experimental Allergy*. 1994; 24; 377-382
- Skoner, D.P., W.J.Doyle et al.: Eustachian Tube Obstruction After Intranasal Challenge With House Dust Mite. *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 1986; 112; 840-842
- Strobel, S.: Nahrungsmittelallergie, Intoleranz und Prävention atopischer Krankheit. *Allergologie*. 1997; 565-570
- Suresh, P., L.H.Arp: A Time-Course Study of the Transfer of Immunglobulin G from Blood to Tracheal and Lacrimal Secretions in Young Turkeys. *Avian Disease*. 1995; 39; 349-354
- Swart, S.J., S.van der Baan et al.: Immunglobulin concentration in nasal secretions differ between patients with an IgE-mediated rhinopathy and a non-IgE-mediated rhinopathy. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 1991; 612-616
- Terrahe, K., Th.Breinlich: Pathogene Immunfaktoren beim rezidivierenden schleimigen Paukenerguß des Kindes. *HNO*. 1986; 34; 49-55
- Urbanek, R.: Immunologische Verlaufsbeurteilung der Hyposensibilisierung. *Allergologie*. 1980; 352-355
- van Bronswijk, J.E.M.H.: Ein Jahrhundert Hausstaubforschung aus allergologischer Sicht. *Allergologie*. 1988; 206-211
- Vernejoux, J.M., J.M.Tunon de Lara et al.: Salivary IgE in Allergic Patients and Normal Donors. *International Archives of Allergy and Immunology*. 1994; 104; 101-103

- Werfel, T.: Marker der allergischen Entzündungen in Sekreten und im Serum. *Allergologie*. 1997; 481-483
- Wütherich, B., H.Luggen-Brun: Zur Diagnostik der Hausstaubmilbenallergie. *Allergologie*. 1980; 123-127
- Wütherich, B.: Gibt es Nahrungsmittelallergien vom Typ III? *Allergologie*. 1990; 371-375
- Zenner, H.P.: Differentialdiagnose der allergischen Rhinitis. *Allergologie*. 1988; 133-138

Lebenslauf

Name Beatrice Albrecht

Geburtsdatum 03.03.1970

Geburtsort Berlin

Familienstand ledig

Schulbildung 1976 – 1986 Polytechnische Oberschule Rodewisch

1986 – 1988 Erweiterte Polytechnische Oberschule
Auerbach

1. Juli 1988 Abitur

Studium 9 / 1989 – 8 / 1995

Studium der Humanmedizin an der Universität Leipzig

Hochschulabschluss Medizin am 30. August 1995

Approbation als Ärztin am 1. Juni 1997

Praktische Erfahrungen

12 / 1995 – 5 / 1997 AiP, HNO - Klinik
Klinikum Chemnitz gGmbH

8 / 1997 – 5 / 2000 Assistenzärztin
HNO - Praxis Dr. Ohnsorge, Würzburg

6 / 2000 – 3 / 2002 Postdoctoral Fellow
Kansas State University, Manhattan, USA

seit 4 / 2002 Wissenschaftliche Mitarbeiterin
HNO – Klinik, Universität Würzburg

Beatrice Albrecht

Würzburg, 25. Juli 2002