

Aus der Abteilung für Pneumologie der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock
Direktor der Abteilung: Prof. Dr. med. habil. J.C. VIRCHOW

**Über die Regulation dendritischer Zellen im Blut
von Patienten mit Pneumonie
und Patienten mit Hymenopterenengift-Allergie**

Eine klinisch-experimentelle Studie

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doctor medicinae
(Dr. med.)**

vorgelegt der
Medizinischen Fakultät der Universität Rostock



von
Sebastian Petermann

Rostock 2009

Dekan: Herr Prof. Dr. med. habil. Emil Christian REISINGER

- Gutachter:**
1. Herr PD Dr. Marek LOMMATZSCH
(Universitätsklinikum Rostock, Klinik für Innere Medizin,
Pneumologie)
 2. Frau Prof. Dr. Brigitte MÜLLER-HILKE
(Universität Rostock, Institut für Immunologie)
 3. Herr PD Dr. Marco IDZKO
(Universitätsklinikum Freiburg, Abteilung Innere Medizin V,
Pneumologie)

Tag der Verteidigung: 14. September 2010

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	4
1.1	Das Immunsystem	4
1.1.1	Die angeborene Immunität	5
1.1.1.1	Angeborene Abwehrmechanismen der Lunge	5
1.1.1.2	Angeborene Abwehrmechanismen der Haut	6
1.1.2	Das erworbene Immunsystem	7
1.2	Dendritische Zellen	9
1.2.1	Abstammung und Oberflächenmarker	9
1.2.2	Wanderung, Reifung und generelle Funktionen der DC	11
1.3	Antigen-Präsentation und T-Zell Differenzierung	12
1.4	Die immunologische Synapse	14
1.4.1	Spezifische Funktionen der pDC und mDC	15
1.4.2	DC in der Haut	15
1.4.3	DC in der Lunge	17
1.5	Rolle der DC bei infektiösen und allergischen Erkrankungen	17
1.5.1	Pneumonie	17
1.5.2	Allergie	18
1.6	Hyposensibilisierung	20
1.7	Fragestellungen	22
2	Probanden, Material und Methode	23
2.1	Probandencharakteristika	23
2.1.1	Gruppe 1 (19 Kontrollpersonen)	23
2.1.1.1	Einschlusskriterien Gruppe 1	23
2.1.1.2	Ausschlusskriterien Gruppe 1	23
2.1.1.3	Zeitpunkte der Blutentnahmen Gruppe 1	23
2.1.1.4	Rekrutierung der Gruppe 1	23
2.1.2	Gruppe 2 (19 Patienten mit stationär behandelter Pneumonie)	24
2.1.2.1	Einschlusskriterien Gruppe 2	24
2.1.2.2	Ausschlusskriterien Gruppe 2	24
2.1.2.3	Zeitpunkte der Blutentnahmen Gruppe 2	24
2.1.2.4	Rekrutierung Gruppe 2	24
2.1.3	Gruppe 3 (20 Patienten mit Hymenopterengift-Allergie zur stationären Einleitung einer Hyposensibilisierung)	25
2.1.3.1	Einschlusskriterien Gruppe 3	25
2.1.3.2	Ausschlusskriterien Gruppe 3	25
2.1.3.3	Zeitpunkte der Blutentnahmen Gruppe 3	25
2.1.3.4	Rekrutierung Gruppe 3	25
2.1.3.5	Prästationäre Diagnostik Gruppe 3	25
2.1.3.6	Indikationen und Kontraindikationen für die durchgeführte Hyposensibilisierung	26
2.2	Ablauf der Studie	26
2.2.1	Blutentnahmen	27
2.2.2	Pricktest	28
2.2.3	Intracutantest	29
2.2.4	Stationäre Einleitung einer Hyposensibilisierung	30
2.2.5	Parameter der Klinischen Chemie	31

2.2.6	Gesamt-IgE und spezifisches IgE	32
2.2.7	Tryptase	33
2.2.8	Durchflusszytometrie	33
2.3	Statistische Auswertung	38
3	Ergebnisse	39
3.1	Patientencharakteristika	39
3.1.1	Gruppe 1 (Kontrolle)	39
3.1.2	Gruppe 2 (Pneumonie)	41
3.1.3	Gruppe 3 (Hyposensibilisierung)	45
3.2	Vitalparameter	47
3.3	Laborparameter	50
3.4	Anzahl der DC im Blut	52
3.5	Korrelation der DC-Zahlen mit Entzündungsparametern	55
3.6	Oberflächen- und intrazelluläre Marker	55
4	Diskussion	58
4.1	Methodenkritik	58
4.2	Pneumonie	60
4.2.1	Abfall der DC-Zahlen im Blut	60
4.2.2	Korrelation mit systemischen inflammatorischen Parametern	61
4.2.3	Marker	62
4.2.3.1	Die co-stimulatorischen Moleküle CD40 und CD86	62
4.2.3.2	TLR9	63
4.2.3.3	CD32 und CD64	64
4.2.4	Hypothese (Pneumonie)	64
4.3	Allergie	67
4.3.1	Spezifischer Abfall der pDC nach Einleitung der Hyposensibilisierung	67
4.3.2	Veränderungen der Oberflächenmarker auf DC	68
4.3.2.1	CD40	68
4.3.2.2	BDCA-3	68
4.3.2.3	CCR5	69
4.3.3	Hypothese (Hyposensibilisierung)	69
5	Zusammenfassung	71
6	Literaturverzeichnis	72
7	Abkürzungsverzeichnis	80
8	Abbildungsverzeichnis	83
9	Tabellenverzeichnis	84

10	Publikationsverzeichnis	85
11	Curriculum vitae	86
12	Danksagung	88
13	Eidesstattliche Erklärung	89

1 Einleitung

Dendritische Zellen (DC) kommen in fast allen Geweben des Körpers vor und sind als die wichtigsten Antigen-präsentierenden Zellen der Ausgangspunkt der spezifischen Immunantwort^[1, 2]. Ihr Anteil an den Leukozyten im peripheren Blut beträgt etwa 0,2% und in der bronchoalveolären Lavage (BAL) etwa 0,8%^[3]. Morphologisch ist die sternförmige Gestalt mit den sich ins Gewebe erstreckenden aktiv beweglichen Fortsätzen (Lamellipodia) kennzeichnend. Bereits relativ kleine Mengen DC können primäre Immunantworten auslösen, wobei unter anderem die Fähigkeit zur Aktivierung einer großen Anzahl ruhender und naiver T-Zellen besteht.

1.1 Das Immunsystem

Das Immunsystem dient unter anderem zum Schutz des Körpers vor Infektionen, Toxinen, Stoffwechselprodukten und abnormalen Körperzellen. Zu deren Abwehr arbeiten zelluläre und nichtzelluläre Mechanismen Hand in Hand, wobei sich das Immunsystem hierzu zweier unterschiedlich funktionierender Systeme bedient (**Abb. 1**). Dieses erste System der Verteidigung stellt dabei die angeborene Immunität mit deren unspezifischen zellulären und nichtzellulären Effektormechanismen dar. Bei Antigenexposition wird aber auch die erworbene, adaptive Immunantwort ausgelöst. Diese agiert antigenspezifisch und nachhaltig gegen Krankheitserreger. Die beiden Systeme sind miteinander vernetzt und nutzen viele Effektormechanismen gemeinsam.

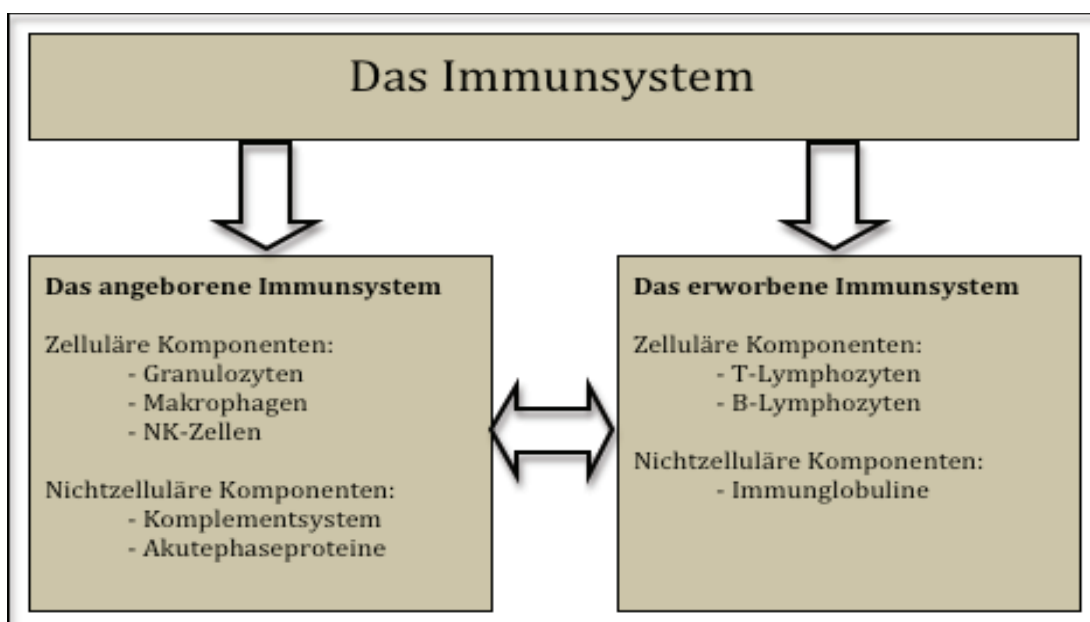


Abb. 1: Das Immunsystem.

Das Immunsystem bedient sich angeborener und erworbener Mechanismen, die miteinander vernetzt sind.

Abkürzungen: **NK-Zellen** Natürliche Killerzellen.

1.1.1 Die angeborene Immunität

Wichtigste Komponenten der angeborenen Abwehr sind mechanische (intakte Epithelschicht, mukoziliärer Apparat), chemische (Defensine und Lysozym) und zelluläre Abwehrmechanismen, sowie die Mikroorganismenflora^[4]. Bei der chemischen Komponente spielen reaktive Sauerstoffspezies, Stickstoffmonoxid, Myeloperoxidase, proteolytische Enzyme (z.B. Granulozyten-Elastase) und toxische Bestandteile der Granula als Effektormoleküle eine Rolle, bei den zellulären Abwehrmechanismen sind es die Phagozyten (vorrangig Makrophagen und neutrophile Granulozyten) und die NK-Zellen. Die Phagozytose von Partikeln oder Pathogenen erfolgt vorrangig nach der Erkennung von häufig auftretenden Oberflächenmolekülmustern der Pathogene durch Rezeptoren, wie den Makrophagen-Mannoserezeptor, Scavenger-Rezeptoren oder Toll-like-Rezeptoren (TLR). So kann zum Beispiel TLR2 Proteoglykane grampositiver und TLR4 Lipopolysaccharide gramnegativer Erreger erkennen und damit eine Immunantwort einleiten^[5, 6]. Das Komplementsystem gehört ebenfalls zu den Mechanismen der angeborenen Immunität. Es wird durch die Bindung einzelner Komponenten an Pathogenoberflächen oder Antigen-Antikörper-Komplexe (Opsonierung) aktiviert und besteht aus einer Enzymkaskade. Dadurch werden die opsonierten Strukturen für das Immunsystem sichtbar. Letztlich endet die entstehende Immunreaktion unter anderem in der Zellyse oder der Phagozytose. Die dabei entstehenden aktivierten Komplementfaktoren C3a, C4a und C5a bewirken eine vermehrte Durchblutung, Gefäßpermeabilität, Phagozytenmigration und Mastzellaktivierung. Insgesamt führen die Mechanismen des Komplementsystems zur Entstehung und zum Unterhalt einer Entzündungsreaktion, an der auch Prostaglandine, Leukotriene, der Plättchen-aktivierende Faktor, Zytokine und Chemokine beteiligt sind. Sie werden unter anderem von Makrophagen sezerniert. Die Zytokine IL-1, IL-6 und TNF α , spielen neben ihrer Wirkung auf die lokale Entzündungsreaktion auch bei systemischen Auswirkungen wie Fieber und die Akute-Phase-Reaktion eine wichtige Rolle. Die Mediatoren des angeborenen Immunsystems wirken aber auch auf das erworbene Immunsystem. So bewirken Zytokine und Chemokine eine Mobilisierung, Differenzierung und Aktivierung von Effektorzellen des erworbenen Immunsystems, unter anderem spezifischer T-Zellen und B-Zellen.

1.1.1.1 Angeborene Abwehrmechanismen der Lunge

Die Schleimhautoberfläche der Lunge ist ständig verschiedenen Antigenen aus der Atemluft ausgesetzt. Im respiratorischen System gibt es eine Reihe struktureller und funktioneller Barrieren, die den Körper vor gefährlichen und harmlosen Partikeln schützen^[7] (**Abb. 2**). Diese Barrieren sind zum einen der Surfactant-Film und zum anderen eine wässrige Schicht,

die mit visköser Flüssigkeit benetzt ist und den mukoziliären Apparat beinhaltet ^[8]. Durch aerodynamische Mechanismen (unter anderem die mukoziliäre Clearance und Husten-Clearance) wird in den Atemwegen eine Filtration von mehr als 95% der inhalierten Antigene erreicht, so dass die Menge an Antigenen in den peripheren Atemwegen stetig abnimmt ^[9]. Wichtig für eine gute mukoziliäre Clearance sind die Anzahl und Funktionstüchtigkeit der Zilien, bedingt durch ihre Struktur, eine koordinierte Bewegung, eine ausreichende Wärme und Feuchtigkeit ^[10]. Weitere wichtige Barrieren sind die Epithelschicht, deren Zellen mit Tight-junctions verbunden sind. Makrophagenpopulationen tragen als professionelle Phagozyten zum Schutz vor eindringenden Partikeln, Erregern oder schädlichem Material anderer Art bei. Sie befinden sich sowohl in den Atemwegen, als auch in den Alveolen ^[11] (**Abb. 2**).

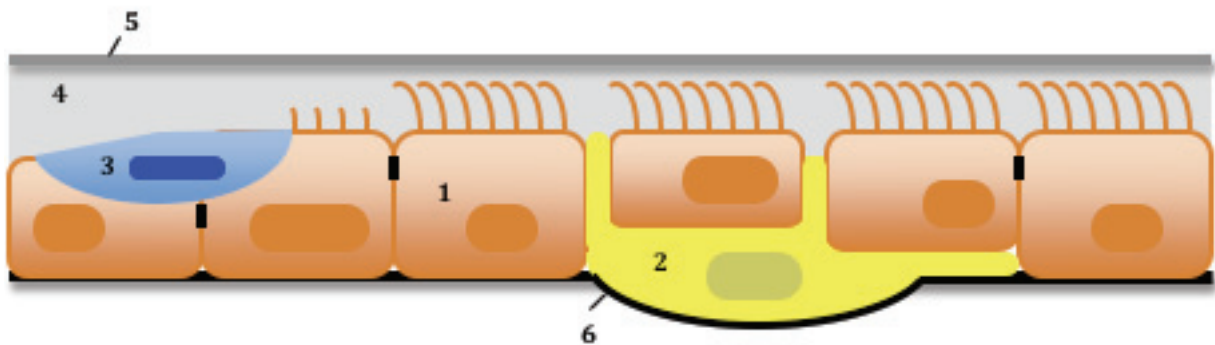


Abb. 2: Abwehrstrukturen in den Atemwegen.

Schematisch dargestellt sind die einzelnen Abwehrmechanismen der Lunge. 1 Epithelzelle mit Tight-junctions; 2 Dendritische Zelle; 3 Makrophage; 4 wässrige Schicht mit dem mukoziliären Apparat; 5 Surfactant-Film; 6 Basallamina. Adaptiert nach Blank ^[12].

1.1.1.2 Angeborene Abwehrmechanismen der Haut

Der Haut kommt eine wichtige Schutzfunktion vor Pathogenen zu. Die Epidermis bildet mit dem Stratum corneum eine Barriere zur Umwelt (**Abb. 3**). Auf ihr sind die physiologische Mikroorganismenflora und der Säureschutzmantel ansässig. Neben den mechanischen und chemischen Abwehrmechanismen findet auch in der Haut eine schnelle Abwehr gegen Mikroorganismen wie Bakterien, Pilze und Protozoen sowie Würmer statt. Eine Schlüsselrolle spielt hierbei die Erkennung von pathogenen Strukturen, den so genannten pathogen associated molecular patterns (PAMP) ^[13]. Dabei handelt es sich um Struktur motive (zum Beispiel Lipopolysaccharide (LPS), Peptide und Nukleinsäuren), die charakteristisch, sowie hoch konserviert für ein breites Spektrum an Mikroorganismen sind. Die PAMP ermöglichen es dem Immunsystem, das Eindringen von Bakterien, Viren, Pilzen oder Parasiten schnell zu erkennen. Diese Erkennungssysteme und die entsprechenden zellulären und nichtzellulären Effektormechanismen, wie Phagozyten, die Zytokin-freisetzenden Mastzellen, die basophilen und eosinophilen Granulozyten und die Natürlichen Killerzellen

(NK-Zellen), antimikrobielle Proteine wie β -Defensine, Cathelicidine und Lysozym, das Komplementsystem und Interferone stellen einen wirkungsvollen Schutz dar ^[14].

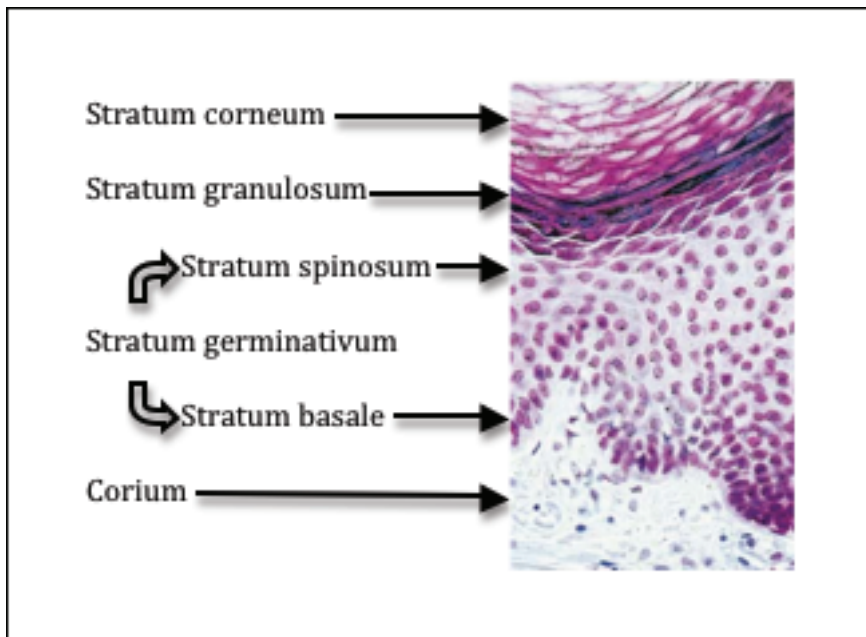


Abb. 3: Aufbau des Epithels.

Lichtmikroskopisches Bild des Aufbaus des Epithels der menschlichen Haut.

1.1.2 Das erworbene Immunsystem

Neben der unspezifischen Abwehr führt eine Antigenexposition auch zu einer adaptiven Immunantwort, die gegen spezifische Antigene oder Epitope der Krankheitserreger gerichtet ist. Sie ermöglicht eine effektivere, individualisierte und nachhaltige Antwort auf Erreger oder andere Fremdstrukturen. Zentraler Ausgangspunkt der spezifischen Immunantwort ist die antigenpräsentierende Zelle, die den Effektorzellen der adaptiven Immunantwort spezifische Antigene präsentiert und die Entwicklung dieser Zellen maßgeblich steuert. Zu den wichtigsten antigenpräsentierenden Zellen zählen die DC, sie sind die Hauptakteure der Einleitung der adaptiven Immunantwort, die in mehreren Schritten erfolgt ^[4]:

- Erkennung, Prozessierung und Präsentation von Antigenen durch DC
- Aktivierung und Proliferation antigenspezifischer T- und B-Lymphozyten
- Bildung humoraler Abwehrstoffe
- Proliferation zytotoxischer T-Zellen
- Eliminierung der Antigene
- Bildung von Memory-Zellen (Gedächtniszellen).

Lymphozyten kommen als antigenspezifische Klone vor und sind auch durch Bildung von Gedächtniszellen an der sekundären Immunantwort beteiligt. Es werden B- und T-Lymphozyten (Zellen) unterschieden, wobei T-Zellen für die zellvermittelte Immunität und

1 Einleitung

B-Zellen für die Antikörperproduktion als Basis der humoralen Immunität verantwortlich sind. Nach Ausreifung im Thymus bzw. im Knochenmark erreichen die T- bzw. B-Lymphozyten die sekundären lymphatischen Organe, zu denen neben Lymphknoten und Tonsillen auch schleimhautassoziierte lymphatische Gewebe im Magen-Darm-, Urogenital- und Respirationstrakt zählen ^[15, 16]. B-Zellen können durch Antigenkontakt (z.B. lösliche Proteine, Lipide, Polysaccharide, Nukleinsäuren) zu Plasmazellen differenzieren. Die entstehenden antigenspezifischen Plasmazellen sezernieren entsprechende hochaffine antigenspezifische Antikörper. Diese verbessern durch Bindung an die Antigene die rezeptorvermittelte Phagozytose, die Aktivierung von NK-Zellen und des Komplementsystems. Damit wird also auch das angeborene Immunsystem unterstützt. Neben der Spezifität sind die Unterscheidung zwischen körpereigenen und körperfremden Strukturen, sowie das Vermögen, einen immunologischen Erfahrungsschatz aufzubauen, Charakteristika der adaptiven Immunantwort.

DC können sehr unterschiedliche immunologische Effekte auslösen, die sich unter anderem in der Vielfalt an T-Zell-Subtypen widerspiegelt. Native T-Helferzellen (TH) können zu TH1-, zu TH2-Zellen oder zu regulatorischen T-Zellen (T_{reg}) differenzieren. Zudem sind seit kurzem auch sogenannte TH17-Zellen beschrieben worden, die eine eigene funktionelle Entität darstellen ^[17]. Die Richtung der Differenzierung ist von vielen Faktoren abhängig, wie z.B. Art, Reifegrad, Wirkungsdauer der Antigen-präsentierenden Zellen und durch die Zytokinwirkung. Dabei fördern IL-12 und IFN γ eine TH1- und IL-4, IL-5 und IL-13 eine TH2-Differenzierung. Die Differenzierung zu TH17-Zellen wird durch TGF β , IL-6, IL-23 und IL-21 gefördert. TH1-Zellen fördern die zelluläre Immunantwort. TH17-Zellen spielen eine besondere Rolle bei der Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten, z.B. bei bakteriellen Infektionen ^[17]. TH2-Zellen wirken mittels IL-4, IL-10 und IL-13 hemmend auf Makrophagen, sind an der humoralen spezifischen Immunantwort durch B-Zell-Aktivierung beteiligt und können einen Wechsel der Antikörperisof orm, z.B. zu Immunglobulin E (IgE), bewirken. Die TH2-vermittelte Immunantwort ist unter anderem entscheidend an der allergischen Reaktion beteiligt. Nach Aufnahme der Antigene durch B-Lymphozyten und DC werden diese auf Klasse-II-MHC-Molekülen präsentiert. Spezifische T-Helferzellen erkennen diese und können durch Ausbildung von CD40-CD40L-Komplexen und Zytokinausschüttung mit B-Zellen interagieren. Das bewirkt die Proliferation sowie Differenzierung der B-Zellen und bestimmt den Antikörperisotyp, der durch die aus B-Zellen entstehenden Plasmazellen produziert wird.

1.2 Dendritische Zellen

DC sind eine heterogene Gruppe der Leukozyten, die von CD34 positiven hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks abstammen. Unter dem Einfluss von Wachstumsfaktoren, wie zum Beispiel granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), bilden sich myeloide (CD117+) und lymphoide (IL-7R+) Vorläuferzellen, die weiter differenzieren. Zu den wichtigsten Untergruppen der DC gehören die myeloiden DC (mDC) und die plasmazytoiden DC (pDC) (**Abb. 4**), die sich trotz ihrer gemeinsamen Abstammung von CD34-positiven hämatopoetischen Stammzellen bezüglich ihrer Entwicklung und späteren Funktion in erheblichem Maße von einander unterscheiden (**Abb. 4**). Entwicklung und Funktion sollen im folgenden Abschnitt dargelegt werden.

1.2.1 Abstammung und Oberflächenmarker

Man unterscheidet zwei wichtige Subpopulationen der DC. Zum einen die myeloiden DC (mDC), die von monozytären Vorläuferzellen des Knochenmarks abstammen und zum anderen die plasmazytoiden DC (pDC), die sich aus lymphozytären Vorläuferzellen entwickeln ^[18] (**Abb. 4**). Bis heute ist kein singulärer Marker bekannt, der DC oder deren Subpopulationen eindeutig identifiziert. Vielmehr sind DC durch spezifische Expressionsmuster von Oberflächenmarkern definiert (**Tab. 1**). Einerseits fehlen auf DC die klassischen Marker für T-Zellen, B-Zellen, NK-Zellen, Granulozyten und Monozyten (CD3, CD19, CD14, CD16, CD20 und CD56), andererseits lässt sich eine starke Expression des MHC-II-Komplexes (human-leukocyte-antigen-DR (HLA-DR)) nachweisen. Die Subpopulation der mDC ist zusätzlich durch die Expression des Markers CD11c und die Subpopulation der pDC durch die Expression des Markers CD123 gekennzeichnet ^[19, 20]. In den letzten Jahren konnten die mDC und pDC in weitere Subpopulationen differenziert werden (**Tab. 1**). Insbesondere für die mDC werden verschiedene Subgruppen angenommen, deren jetzige Einteilung ist aber noch spekulativ. So stellen wahrscheinlich auch interstitielle und epitheliale DC Untergruppen der mDC dar ^[21] (**Abb. 4**).

Myeloide DC	Plasmazytoide DC	Epitheliale DC*	Interstitielle DC*
CD11c	CD123	CD1a	Faktor XIIIa
BDCA-1	BDCA-2	E-cadherin	CD68
BDCA-3	BDCA-4	Langerin	CD9
TLR2	TLR7	S-100	CD2
TLR4	TLR9		Fc-Rezeptor
			CD11b

Tab. 1: Oberflächenmarker von Subgruppen dendritischer Zellen.

Aufgeführt sind Subpopulationen von DC mit den entsprechenden typischen Oberflächenmarkern. *Abkürzungen:* **BDCA** Blood Dendritic Cell Antigen; **CD** cluster of differentiation; **TLR** Toll-like-Receptor. * wahrscheinlich Subpopulationen myeloider DC.

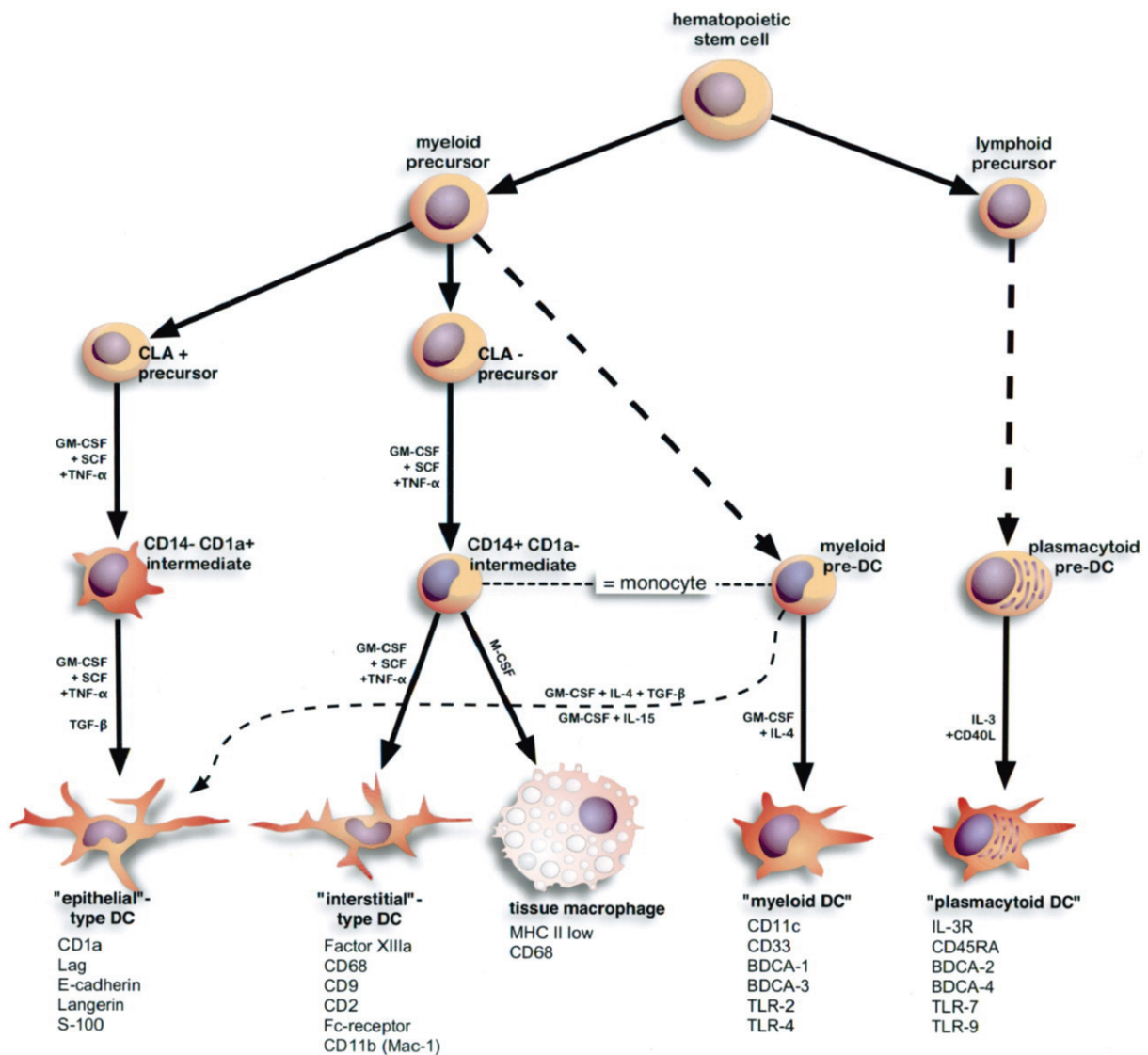


Abb. 4: Abstammung und Ontogenese dendritischer Zellen.

Abkürzungen: **CLA** cutaneous lymphocyte antigen; **GM-CSF** Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; **SCF** stem cell factor; **TGFβ** transforming growth factor β; **TNFα** tumor necrosis factor α. Adaptiert nach Vermaelen et al. [21].

1.2.2 Wanderung, Reifung und generelle Funktionen der DC

DC sind aufgrund ihrer Fähigkeit, eine große Anzahl verschiedenster chemoaktiver, inflammatorischer Signale zu erkennen, verstärkt in Regionen mit hohem Antigen-Aufkommen zu finden, wie zum Beispiel in der Haut, dem Darm und der Lunge. Sie wandern als unreife (immature) DC aus dem Knochenmark aus und gelangen über die Blutbahn in die peripheren Organe. In diesem Stadium können sie zwar Antigene erkennen, aufnehmen und prozessieren, aber ihre Fähigkeit, T-Lymphozyten zu stimulieren ist noch stark eingeschränkt. Durch Schäden an der äußeren Körpergrenze und durch pathogenassoziierte Alarmsignale („Danger Signals“), wie zum Beispiel pathogenassoziierte molekulare Signaturen (PAMP), werden Mediatoren (z.B. β -Defensin, CC-Chemokine, Komplement-Spaltprodukte) freigesetzt, die anregend auf DC wirken und die Rekrutierung zum Ort der Schädigung bzw. des Antigeneintritts bewirken. Verantwortlich dafür ist ein breites Spektrum von Endozytoserezeptoren, wie der Fc-Rezeptor, der Rezeptor für opsonierendes Komplement und verschiedene Lectin-Rezeptoren, wie der Mannose-Rezeptor (CD 206), dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule grabbing nonintegrin (DC-SIGN), DEC-205, blood dendritic cell antigen 2 (BDCA-2) ^[22]. Zusätzlich besitzen DC eine Palette von Toll-like-Rezeptoren (TLR), welche Sensoren für primitive Gefahrensignale darstellen. Diese bestehen sowohl aus typischen mikrobiellen Signalen, wie Lipopolysaccharid (LPS), Cytosinphosphatidyl-Guanosin (CpG)-Oligonucleotide viraler RNA, Bestandteilen der Zellwände von Bakterien oder Pilzen ^[23], als auch aus endogenen Gefahrensignalen, die sekundär bei lokaler Gewebsschädigung freigesetzt werden ^[24-27]. Nach der Aktivierung erfolgt die Reifung und Migration der DC entlang der afferenten (drainierenden) Lymphbahnen in die regionalen Lymphknoten (LK), wo den in den T-Zell-Arealen ruhenden, naiven T-Zellen das Antigen präsentiert wird (**Abb. 5, Kapitel 1.3**).

Die Migration der DC wird durch Chemokin-Rezeptoren vermittelt, welche durch einen Chemokin-Gradienten zu einer Anlockung der DC in die Lymphknoten führen. So führt zum Beispiel der CCR7-Rezeptor zu einer Wanderung der DC entlang eines CCL21/CCL19-Gradienten in die Lymphknoten ^[21]. Gleichzeitig ist der Antigen-Aufnahmemechanismus herunterreguliert. Zu diesem Zeitpunkt sind große Mengen mit Antigen beladene MHC-Moleküle und T-Zell co-stimulierende Rezeptoren auf der Zelloberfläche zu finden. Für diesen Prozess des Reifens spielt die Beeinflussung durch unterschiedliche Zytokine (zu Beispiel IL-1, TNF- α und IL-4) eine wichtige Rolle, wobei dem GM-CSF eine entscheidende Bedeutung zukommt ^[28]. Die DC haben nun also das Stadium der reifen (mature) DC erreicht.

Die Reifung ist durch eine verstärkte Expression von Oberflächenmolekülen gekennzeichnet. Zu diesen Molekülen gehören MHCII-Moleküle [29-32], CD54 (ICAM-1), CD58 (LFA-3), CD11a/c, CD40, CD80 [33-35], CD83, CD86 [36, 37], CCR7 [21] (Abb. 5).

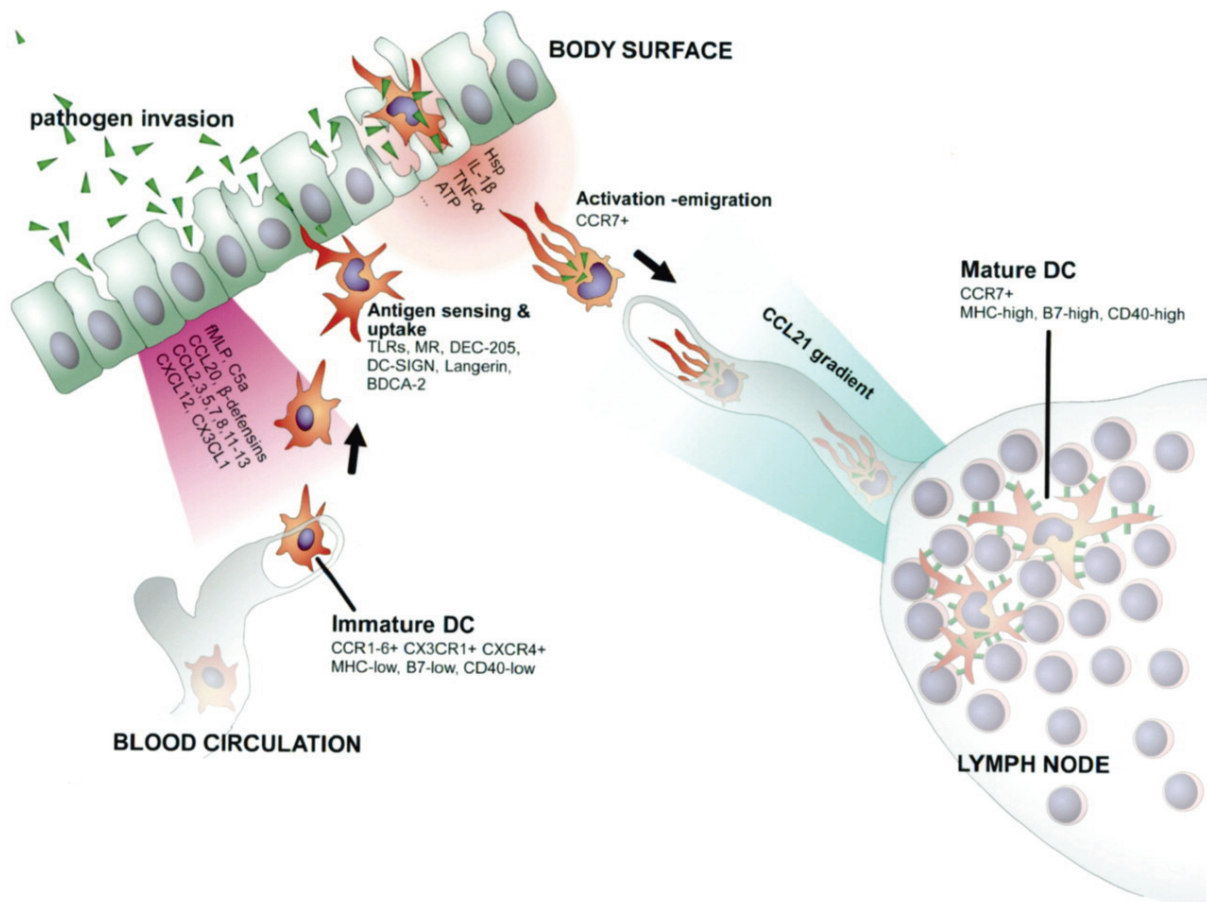


Abb. 5: Migration und Reifung von DC.

DC wandern aus dem Blut als unreife DC an die Orte mit hoher Antigenexposition. Unter dem Einfluss von „Danger Signals“ kommt es nach Antigenaufnahme zur Ausreifung und Abwanderung in die Lymphknoten. Adaptiert nach Vermaelen [21]. *Abkürzungen:* **ATP** Adenosintriphosphat; **BDCA** blood dendritic cell antigen; **CCL** Chemokinligand; **CCR** Chemokinrezeptor; **CD** cluster of differentiation; **CXCL** chemokine (C-X-C motif) ligand; **CXCR** chemokine (C-X-C motif) receptor; **DC-Sign** DC-specific intercellular adhesion molecule-grabbing nonintegrin; **fMLP** N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine; **Hsp** Hitzeschockprotein; **IL** Interleukin; **TNF α** tumor necrosis factor α .

1.3 Antigen-Präsentation und T-Zell Differenzierung

DC werden durch Chemokine in die drainierenden Lymphknoten geleitet. Durch den Chemokinrezeptor CCR7, den sie im Rahmen der Reifung exprimieren, wandern sie entlang eines Gradienten von den CCR7-Liganden CCL19 und CCL21, die durch das Endothel in den Lymphknoten freigesetzt werden. Haben die DC die T-Zell-reichen Areale in den Lymphknotenstationen erreicht, erwartet sie ihre letzte und wichtigste Aufgabe, die Instruktion der T-Zellen zur adäquaten Antwort auf das entsprechende Antigen. Es sind verschiedene Arten der Effektor-T-Zellen bekannt, die durch diesen Zell-Zell-Kontakt aktiviert werden können. Hier sind sowohl die Differenzierung zur T-Helfer-1-Zelle (TH1), die vornehmlich bei bakteriellen oder viralen Erregern aktiviert wird, als auch die

1 Einleitung

Differenzierung zur TH2-Zelle, unter anderem bei Kontakt mit Parasiten oder Allergenen, von besonderer Bedeutung ^[21]. DC können jedoch nicht nur eine aktive Immunantwort auslösen, sondern auch eine Immunantwort auf ein spezifisches Antigen unterdrücken. Bei andauernder Exposition gegenüber Antigenen und in Abwesenheit von Entzündungen werden die Antigene kontinuierlich von DC aufgenommen und prozessiert (**Abb. 6**). Die DC reifen, wandern in die Lymphknoten und exprimieren tolerogene Rezeptoren und Mediatoren. Bei dieser Möglichkeit der T-Zell-Aktivierung kommt es zu einer Differenzierung zu regulatorischen T-Zellen (T_{reg}), welche Interleukine wie IL-10 freisetzen (**Abb. 6**). Letztere Immunantwort scheint der Normalzustand im gesunden entzündungsfreien Organismus zu sein ^[21, 38].

Neben der Antigenpräsentation in den drainierenden Lymphknoten findet auch lokal in den antigenexponierten Organen eine Antigenpräsentation statt. Diese lokale Antigenpräsentation findet sich unter anderem im sogenannten „MALT“ (mucosa-associated lymphoid tissue). Zum MALT als Oberbegriff zählen unter anderem das BALT (bronchus-associated lymphoid tissue) der Bronchien, das GALT (gut-associated lymphoid tissue) des Darms und andere in jüngerer Vergangenheit beschriebene lymphatische Gewebe, wie SALT (skin-associated lymphoid tissue), NALT (nose-associated lymphoid tissue) und LALT (larynx-associated lymphoid tissue). Diese lokale Antigenpräsentation in peripheren Organen kann unter bestimmten Umständen verstärkt sein und spielt möglicherweise eine wichtige Rolle bei chronisch entzündlichen Erkrankungen ^[39].

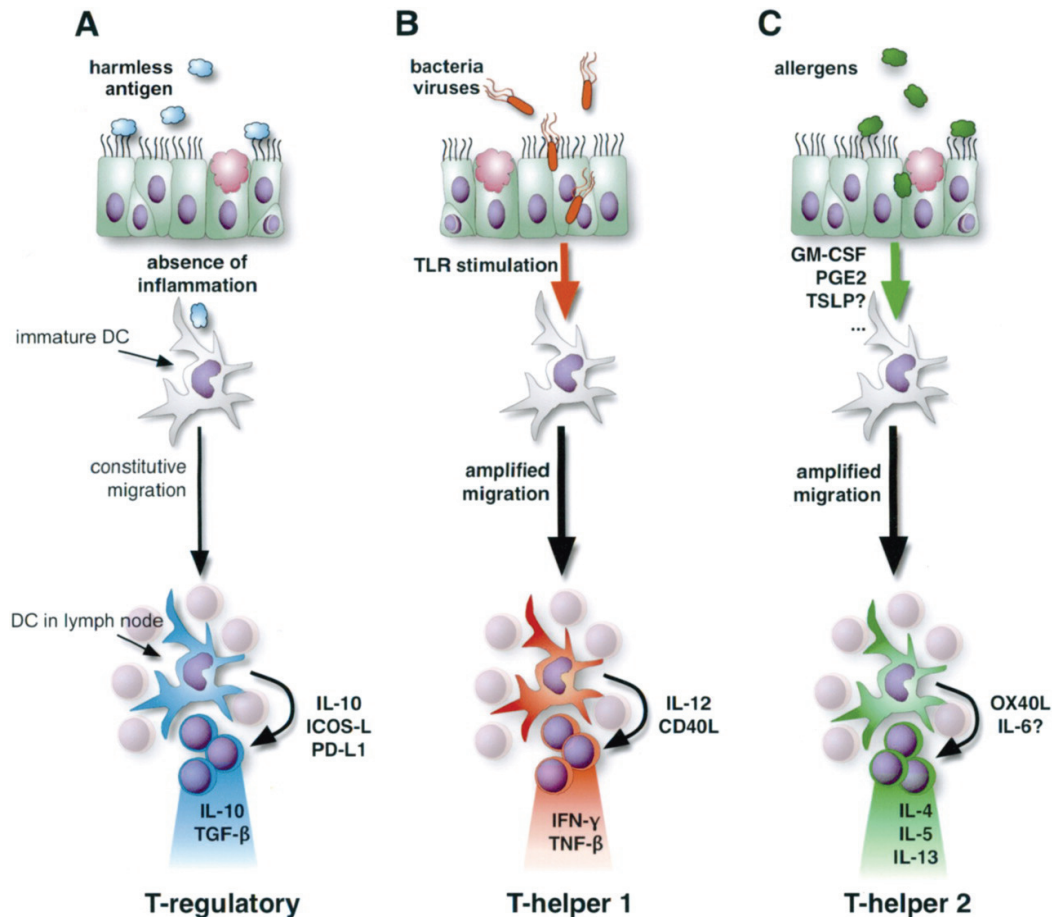


Abb. 6: Formen der T-Zell Aktivierung durch DC.

Dargestellt sind die Möglichkeiten der T-Zell-Differenzierung nach der Antigenpräsentation durch DC. Adaptiert nach [21]. *Abkürzungen:* **GM-CSF** Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor; **ICOS-L** inducible costimulator ligand; **IFN** Interferon; **IL** Interleukin; **PD-L1** programmed death ligand-1; **PGE2** prostaglandin E2; **TLR** Toll-like-Receptor; **TNF** Tumornekrosefaktor; **TSLP** thymic stromal lymphopietin.

1.4 Die immunologische Synapse

Die Art des Kontaktes zwischen DC und T-Zelle (die sogenannte „Immunologische Synapse“) bestimmt die nachfolgende Immunantwort und ist daher von besonderer Bedeutung. Mittels hochauflösender Bildgebungsverfahren wurde die charakteristische Anordnung der verschiedenen beteiligten Moleküle beim Kontakt zwischen der T-Zelle und der DC nachgewiesen [4]. Die immunologische Synapse umfasst Formationen der MHC-Peptid-Komplexe, T-Zell-Rezeptor-Moleküle (TCR), Adhäsionsmoleküle und co-stimulatorische Moleküle. Der in der Plasmamembran lokalisierte T-Zell-Rezeptor ist ein über Disulfidbrücken verbundenes Heterodimer, das mit verschiedenen signaltransduzierenden Membranmolekülen, die zusammen als CD3-Komplex bezeichnet werden, assoziiert ist. Zur Aktivierung der Effektorzelle sind drei spezifische Signale erforderlich. Signal 1 wird durch den Kontakt von TCR mit MHC vermittelt. Das zweite Signal, ausgelöst durch den Kontakt zwischen CD28 mit CD80 und CD86, wird als Co-Stimulation bezeichnet und ist ein fein abgestimmtes Zusammenspiel von positiven und

negativen co-stimulatorischen Signalen. Signal 3 bezieht sich auf Mediatoren, die durch DC zur Differenzierung der T-Zelle ausgeschüttet werden. Ein solcher Mediator ist beispielsweise das Peptidhormon Interleukin-12 (IL-12), das als drittes Signal die Differenzierung zur TH1-Zelle vermittelt ^[4] (**Abb. 7**).

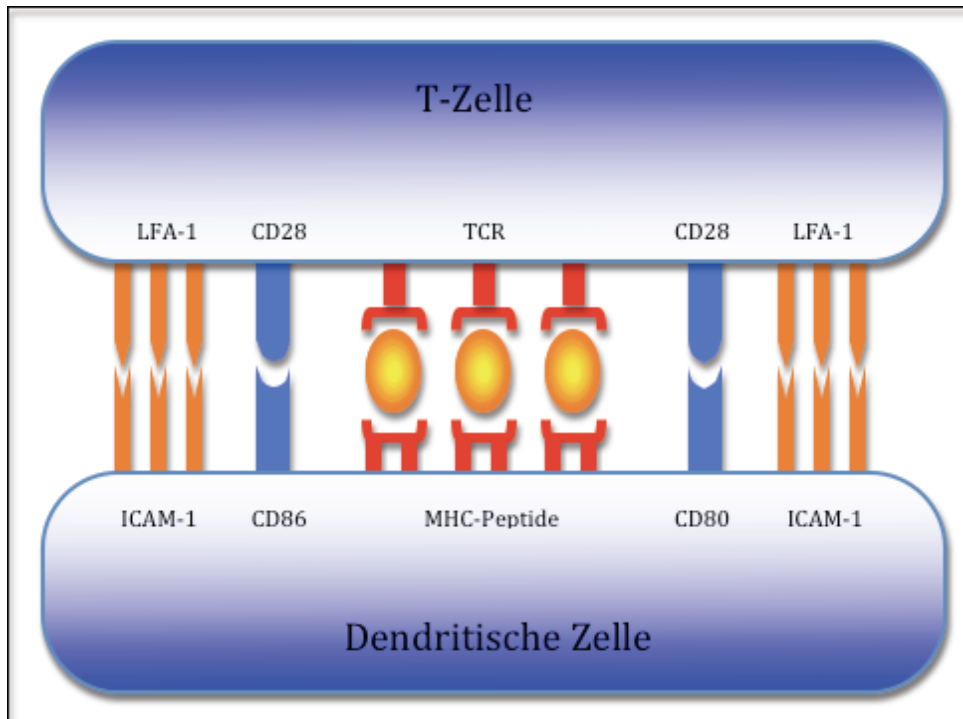


Abb. 7: Die immunologische Synapse.

Dargestellt ist der Kontakt zwischen der T-Zelle und der DC mit den beteiligten Oberflächenmarkern. Adaptiert nach ^[4]. *Abkürzungen:* **CD** cluster of differentiation; **ICAM** Inter-Cellular Adhesion Molecule; **LFA** Leukozyte Function Associated Antigen; **TCR** T-Cell-Receptor.

1.4.1 Spezifische Funktionen der pDC und mDC

Die Subtypen mDC und pDC unterscheiden sich nicht nur funktionell, sondern werden auch durch unterschiedliche Stimuli aktiviert. Dies lässt sich unter anderem an der Ausstattung mit verschiedenen Toll-like-Rezeptoren (TLR) erkennen ^[40]. Während mDC mehr TLR2 und TLR4 exprimieren und ihr Reifeprozess durch Lipopolysaccharid (LPS) und bakterielle Zellwandbestandteile aktiviert wird, exprimieren pDC mehr TLR7 und TLR9 und setzen Typ 1-Interferon vor allem bei der Aktivierung durch bakterielle DNA und virale Bestandteile frei.

1.4.2 DC in der Haut

Der Langerhans-Zelltyp (LC) oder die intraepithelialen DC liegen vor allem in der Basalzellschicht der Epidermis (**Abb. 3**), sind in der Epidermis aber sehr mobil und können mit ihren Ausläufern die Oberfläche leicht erreichen. Die LC wurden initial durch Paul Langerhans in der Haut beschrieben und als Nervenzellen fehl gedeutet ^[41]. Der Zell-Zell-Kontakt zwischen LC und Keratinozyten wird über das Adhäsionsmolekül E-cadherin

hergestellt. Die relative Zelldichte der LC beträgt etwa 2% aller Zellen in der Epidermis ^[42]. Als einzige Zellen besitzen sie Birbeck Granula (tennisschlägerartig geformte intrazelluläre Organellen unbekannter Funktion) und den mit dieser Struktur assoziierten Rezeptor Langerin (CD207). Außer in der Epidermis konnten LC in der Dermis, im Thymus, in Gefäßwänden, dem Respirationstrakt und in Lymphknoten nachgewiesen werden.

Die LC wird oft als eigenständiger DC-Subtyp gesehen, es ist aber wahrscheinlich, dass diese Zellen der Gruppe der mDC zuzuordnen sind ^[40]. Diese Langerhans-Zellen werden sowohl unter als auch über der Basalmembran der Epithelschichten gefunden und weisen die typischen langen, verzweigten Pseudopodien auf ^[43]. Als mäßig spezifischer Oberflächenmarker von Langerhans-Zellen wurde seit vielen Jahren CD1a angesehen, später konnte jedoch Langerin (CD207) als spezifischerer Marker von Langerhans-Zellen identifiziert werden ^[44]. Nach Antigenkontakt findet eine Mobilisation (Regulation der Adhäsionsmoleküle LFA-1, ICAM-1, Integrin $\alpha 6$, CD44 und E-cadherin) und chemotaktische Migration durch CCR7 entlang des CCL21/CCL19 Gradienten statt. LC wandern somit in die afferenten Lymphgefäße. Von dort werden die mobilisierten LC zum Beispiel durch SLC und MIP3 β zu den T-Zell-Arealen der Lymphknoten dirigiert.

1.4.3 DC in der Lunge

In der Lunge finden sich die DC mit einer Dichte von etwa 400-800 DC/mm² Epithel [45, 46]. Sie erscheinen als Geflecht um die Luftwege im Bereich der Basalmembran, können jedoch auch das Lumen der Atemwege erreichen. Im Parenchym der Lunge sind sie vornehmlich in den Alveolarsepten zu finden [47]. In den Atemwegen befinden sich die DC zumeist im unreifen Zustand, also mit geringer Expression co-stimulatorischer Marker (CD80 und CD86), jedoch in erhöhter Bereitschaft, um Antigene zu erkennen und aufzunehmen [22]. Auch im gesunden Zustand findet ein konstanter Einstrom unreifer DC in die Lunge und ein Abstrom reifer DC in die mediastinalen Lymphknoten statt [48]. DC konnten histologisch in der humanen Lunge nachgewiesen werden [49-51]. Da sich endoluminal in den Atemwegen nur wenige DC befinden, ist in der humanen bronchoalveolären Lavage-Flüssigkeit (BALF) eine geringe Anzahl an DC zu finden. Die durchflusszytometrische Untersuchung der DC in der BALF hat jedoch den großen Vorteil einer genauen Charakterisierung von mehreren Oberflächenmarkern auf nativen unbehandelten Atemwegs-DC [3], die in der Histologie nicht möglich ist. Unter den BALF-DC konnten durchflusszytometrisch Langerin- und CD1a-positive mDC (=LC) nachgewiesen werden [52]. Bei Nichtrauchern sind ca. 30-40% aller BALF-DC LC, bei Rauchern 60-70%. Da die Gesamtanzahl an Zellen in der BALF bei Rauchern um mehr als das 5-fache erhöht ist, ist die Anzahl an LC in der BALF von Rauchern um mehr als 10fach höher als bei Nichtrauchern [3]. LC konnten auch histologisch in den Atemwegen nachgewiesen werden, deren Anzahl ist bei Rauchern ebenfalls erhöht [51, 53-55]. Somit scheint Inhalationsrauchen mit einer spezifischen Vermehrung von LC in den Atemwegen assoziiert zu sein.

1.5 Rolle der DC bei infektiösen und allergischen Erkrankungen

1.5.1 Pneumonie

Unter einer Pneumonie versteht man eine durch Krankheitserreger bedingte akute oder chronische Entzündung der Lunge, die den Alveolarraum und/oder das Interstitium betrifft. Die Pathogenese ist vorrangig durch Inhalation und Aspiration von Erregern bedingt. Ferner kann es auch durch hämatogene Aussaat oder direkt Ausbreitung von lokalen Infektionen zur Pneumonie kommen. Typische Symptome sind allgemeines Krankheitsgefühl, Fieber, Schüttelfrost, Husten, Pleuraschmerzen und Dyspnoe. Häufige Untersuchungsbefunde sind die Änderung von Atemmechanik und Gasaustausch, Tachykardie, Bewusstseinstörung, ferner auch Oligurie oder Anurie. Mit dem Eindringen von Pathogenen kommt es mittels

TLR-Stimulation zur Reifung und gesteigerten Migration der DC in die mediastinalen Lymphknoten ^[45]. Die Präsentation der prozessierten Antigene führt im Zusammenhang mit TH1-induzierenden oder TH17-induzierenden Signalen zur Generierung von TH1-Lymphozyten und TH17-Lymphozyten, die eine entscheidende Rolle bei der Bekämpfung der Infektion spielen. Über das Verhalten von DC bei einer Pneumonie, speziell beim Menschen, gibt es wenige Informationen. Eine Arbeit von Lommatzsch et al. konnte zeigen, dass Pneumonien bei immunkompetenten Patienten mit signifikant erhöhten pDC-Zahlen und einer erhöhten pDC:mDC-Ratio in der BAL einhergehen. Bei Patienten mit Immunsuppression konnte dieser pDC-Anstieg trotz eines vergleichbaren chemotaktischen Milieus nicht nachgewiesen werden. Daher wurde die Hypothese aufgestellt, dass ein Mangel an pDC zur Infektanfälligkeit in der Lunge bei immunsupprimierten Patienten beiträgt.

1.5.2 Allergie

Als Allergie bezeichnet man eine Immunreaktion auf Antigene, die für einen Organismus harmlos sind. Dazu zählen zum Beispiel Pollen, Tierhaare, Nahrungsmittel, Milbenkot oder Insektengift, diese Antigene werden als Allergene bezeichnet. Eine Veranlagung zur übermäßig starken IgE-Antwort auf Umweltantigene wird als Atopie bezeichnet. Die Überempfindlichkeitsreaktion kann sich als allergisches Asthma, Ekzem, Rhinitis, Konjunktivitis, Urtikaria bis hin zum allergischen Schock manifestieren. 1963 unterteilten Robert R. A. Coombs und Philip G. H. Gell allergologische Krankheitsbilder entsprechend unterschiedlicher Mechanismen und klinischer Bilder in vier verschiedene Formen, Typ I bis Typ IV ^[56] (**Tab. 2**).

Typ	Pathogenese	Klinische Beispiele
I	IgE-vermittelt (→Mastzelldegranulation)	Anaphylaxie, Urtikaria, Asthma, Rhinokonjunktivitis
II	IgG und IgM Autoantikörper (→Opsonierung und Lyse von Zellen)	Agranulozytose, Medikamenteninduzierte Thrombozytopenie
III	Antikörper gegen lösliche Antigene (→Immunkomplexbildung)	Vasculitis allergica, Serumkrankheit, Arthus-Reaktion
IV	Allergenspezifische T-Zellen	Arzneimittel-exanthem, Kontaktekzem

Tab. 2: Einteilung der Überempfindlichkeitsreaktionen.

Dargestellt ist dem der Klassifizierung entsprechende Typ mit jeweiliger Pathogenese und klinischem Beispiel. Adaptiert nach Coombs und Gell ^[56]. *Abkürzungen: IgE* Immunglobulin E.

1 Einleitung

Es wird postuliert, dass die DC bei der Entstehung der Allergie die entscheidende Rolle spielen, wobei harmlose Antigene als abzuwehrende Pathogene fehl gedeutet werden. Darauf hin kommt es nach Antigenpräsentation und Ausschüttung von IL-4 und IL-13 zum TH2-Shift ^[57, 58]. TH2-Zellen produzieren IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 und IL-13, wodurch es zur Aktivierung von B-Lymphozyten und deren Differenzierung zu IgE-produzierenden Plasmazellen kommt. Eine weitere Achse ist die Aktivierung und Differenzierung von Mastzellen durch die Ausschüttung von IL-4, IL-5, Eotaxin und GM-CSF durch TH2-Lymphozyten ^[58, 59].

Nach einem Hymenopterenstich (Biene, Wespe, Hornisse) sind bis zu 5% der Bevölkerung von einer systemischen Überempfindlichkeitsreaktion betroffen ^[60, 61]. Gesteigerte örtliche Reaktionen finden sich bei bis zu 19% der betroffenen Bevölkerung. Bei der Hymenopterengift-Allergie handelt es sich gemäß der Einteilung nach Coombs und Gell vorrangig um eine allergische Reaktion vom Soforttyp (Typ I), mit allergenspezifischer Beteiligung von IgE. Es werden vier Schweregrade unterschieden (**Tab. 3**).

Grad	Allgemein	Haut	Abdomen	Respirationstrakt	Herz-Kreislauf
I	disseminierte oder generalisierte Hautsymptome, ohne örtlichen Zusammenhang mit der Stichstelle	Juckreiz, Flush, Urtikaria, Angioödem			
II	gering- bis mäßig-gradige, über Hautsymptome hinausreichende Reaktionen	Juckreiz, Flush, Urtikaria, (Angioödem)	Nausea, Krämpfe	Rhinorrhoe, Heiserkeit, Dyspnoe	Tachykardie ($\Delta > 20/\text{min}$), Hypotension ($\Delta > 20 \text{ mmHg}$) Arrhythmie
III	Schock (oft mit Bewusstlosigkeit)	Juckreiz, Flush, Urtikaria, (Angioödem)	Erbrechen, Defäkation	Larynxödem, Bronchospasmus, Zyanose	Schock
IV	Herz-Kreislauf-/Atemstillstand	Juckreiz, Flush, Urtikaria, (Angioödem)	Erbrechen, Defäkation	Atemstillstand	Kreislaufstillstand
Schwere Lokalreaktionen (SLR): Schwellung an der Stichstelle mit einem Durchmesser $> 10 \text{ cm}$ und einer Dauer $> 24 \text{ Stunden}$					

Tab. 3: Einteilung der Schweregrade der allergischen Reaktion.

Abkürzungen: **mmHg** Millimeter Quecksilbersäule. Adaptiert nach ^[62, 63].

Bei Allergenkontakt wird zwischen einer Sensibilisierungsphase und einer Reaktionsphase unterschieden. Beim Erstkontakt kommt es zu einer Sensibilisierung. Aktivierte DC transportieren die Allergene zu den drainierenden LK, wo es zusammen mit richtungsweisenden Signalen für TH2-Zellen präsentiert wird. Über die so generierten TH2-Lymphozyten wird eine entsprechende Immunreaktion ausgelöst, wobei letztlich B-Lymphozyten zu Plasmazellen differenzieren, die spezifisches IgE bilden können. Dieses bindet mit dem Fc-Rezeptor an Membranen von Mastzellen und basophilen Granulozyten. Ein erneuter Allergenkontakt mit dem membrangebundenen spezifischen IgE führt über eine Brückenbildung von zwei benachbarten IgE-Molekülen zu Veränderungen dieser Membran. Über eine Reihe membrangebundener und intrazellulärer Prozesse kommt es neben einer Degranulation zur aktiven Sekretion von Mediatoren. Die wichtigsten sind Histamin (wichtigster Mediator bei allergischen Typ I-Sofortreaktionen), die Leukotriene C4, D4, und -E4, die Prostaglandine D2 und E2, Thromboxan A2, Kallikrein, ECF (eosinophil chemotactic factor), NCF (neutrophil chemotactic factor) und PAF (platelet-activating factor). Sie bewirken eine Vasodilatation und Erhöhung der Gefäßpermeabilität (Folgen sind unter anderem Urtikaria, Angioödem, anaphylaktischer Schock) und Kontraktion der glatten Muskulatur (Folgen sind Bronchospasmus oder gastrointestinale Symptome). Die chemotaktischen Faktoren locken Entzündungszellen an den Ort des allergischen Geschehens, die zur Sezernierung von sekundären Mediatoren angeregt werden. Hierdurch kann die allergische Reaktion perpetuiert werden.

1.6 Hyposensibilisierung

Die subcutane spezifische Immuntherapie (SCIT) ist bei Allergien auf Hymenopterengift eine hocheffektive Behandlung ^[64, 65]. Die besten Ergebnisse werden bei Wespengiftallergie erzielt ^[66, 67]. Im Falle eines erneuten Stiches nach der Therapie tolerieren >80% der Patienten das Wespengift.

Es gibt verschieden Konzepte über den Wirkmechanismus der Hyposensibilisierung:

- Induktion blockierender Antikörper der Subklasse IgG4
- Suppression der spezifischen IgE-Antikörper
- Zunahme der sekretorischen IgA-Produktion
- Induktion regulatorischer T-Zellen (T_{reg})

Die Wirkmechanismen der SCIT scheinen immunologische Veränderungen bei IgE-vermittelten Erkrankungen zu sein, die zu einer anhaltenden Allergentoleranz über die Behandlungsdauer hinaus führen. Es verändert sich die Produktion der Immunglobuline mit Induktion der Produktion von allergenspezifischem IgG^[68, 69] und konsekutiver Suppression der spezifischen IgE-Produktion^[70]. Die Konzentration von IgG nimmt besonders in den ersten Monaten der Hyposensibilisierung zu. Sowohl in vivo- als auch in vitro-Versuche zeigten, dass diese Immunglobuline eine blockierende Aktivität auf durch IgE vermittelte Reaktionen haben. Hier spielt die Subklasse der IgG-4-Antikörper eine dominierende Rolle, die blockierend auf die Reaktion zwischen IgE und dem Allergen wirken^[71]. Insgesamt wird die vorherrschende TH2-Antwort hin zu einer TH1-Antwort verschoben bzw. abgelöst^[68, 72-74]. Weiterhin ist in den Epithelien der Bronchien und in der Nase eine Zunahme der sekretorischen IgA-Produktion zu beobachten, welche protektiv auf das Eindringen von Allergenen wirkt. Nicht zuletzt scheint neben dem Effekt der Verlagerung von der TH1- hin zur TH2-Antwort das vermehrte Erscheinen von regulatorischen T-Zellen (T_{reg}) eine Rolle zu spielen. Hierbei handelt es sich um eine Gruppe von T-Zellen ($CD4^{+}/CD25^{+}/FOXP3^{+}$) und deren Subgruppen, die eine Immunantwort unterdrücken können und damit eine Toleranz gegenüber Antigenen bewirken^[68, 72, 75]. Bei der Verhinderung von autoimmunen Reaktionen spielen nT_{reg} (natural T_{reg}) eine wichtige Rolle. Sie werden permanent gebildet und nicht wie die sogenannten induzierbaren T_{reg} (iT_{reg}) nur im Zuge der Immunantwort angeregt^[76].

Trotz der Kenntnis einzelner Wirkungen der SCIT auf die Effektor-Strecke (IgG4, IgA und T_{reg}) der Immunantwort sind die auslösenden Mechanismen bis heute nicht hinreichend bekannt. Da DC eine entscheidende Rolle bei der Ausreifung und Differenzierung von B-Zellen und T-Zellen spielen, ist die Vermutung naheliegend, dass DC bei diesem Prozess eine wichtige Rolle spielen. Daten hierzu gibt es bislang erstaunlicherweise nicht.

1.7 Fragestellungen

DC spielen eine zentrale Rolle bei der spezifischen Immunantwort auf Infektionen und Allergene. DC steuern sowohl die T-Zell-Antwort auf virale und bakterielle Erreger, als auch die Induktion von tolerogenen Immunglobulinen und T-Zellen bei der Hyposensibilisierung. Es liegen bislang keine Studien zur Kinetik und Charakteristik der DC im peripheren Blut des Menschen bei Pneumonie und Hyposensibilisierung vor.

Aus diesem Umstand ergeben sich folgende Fragestellungen für diese Arbeit:

1. In welcher Anzahl finden sich die Subgruppen der DC (pDC und mDC) im peripheren Blut bei Patienten mit einer akuten Pneumonie im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe? Welchen Einfluss hat die Pneumonie auf die Oberflächen-Marker-Expression der pDC und mDC im Blut?
2. Wie korrelieren diese DC-Parameter im Blut mit klinischen und laborchemischen Parametern der Patienten mit Pneumonie? Welchen Einfluss hat eine antibiotische Therapie auf die DC-Parameter?
3. In welcher Anzahl finden sich die Subgruppen der DC (pDC und mDC) im peripheren Blut vor und nach stationärer Einleitung einer Hyposensibilisierung bei Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie? Welchen Einfluss hat die Hyposensibilisierung auf die Expression von Oberflächenmarkern auf pDC und mDC im Blut?
4. Wie korrelieren diese DC-Parameter im Blut mit klinischen und laborchemischen Parametern der Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie? Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Ausprägung bzw. dem Schweregrad der Allergie und der Regulation der DC im peripheren Blut bei einer Hyposensibilisierung?

2 Probanden, Material und Methode

2.1 Probandencharakteristika

Im Rahmen der durchgeführten Studie wurden in den Jahren 2008 und 2009 zwei Patientengruppen und eine Kontrollgruppe untersucht. Eine Gruppe bildeten Patienten, die mit einer schweren akuten Pneumonie an der Klinik für Innere Medizin der Medizinischen Fakultät der Universitätsklinik Rostock stationär behandelt wurden. Die zweite Patientengruppe war zur Einleitung einer Hyposensibilisierung bei Hymenopteren gift-Allergie (Wespen- oder Bienengift) in der Abteilung für Pneumologie hospitalisiert. Die letzte Gruppe stellten Kontrollpersonen für die Gruppe der Patienten mit Pneumonie dar.

2.1.1 Gruppe 1 (19 Kontrollpersonen)

2.1.1.1 Einschlusskriterien Gruppe 1

- Alter mindestens 18 Jahre
- Unterschriebene Einverständniserklärung

2.1.1.2 Ausschlusskriterien Gruppe 1

- Chronische Atemwegserkrankungen
- Akute inflammatorische Erkrankung (anamnestisch, klinisch und laborchemisch)
- Systemische Kortikosteroideinnahme in den letzten 30 Tagen
- Hämato-onkologische Grunderkrankung
- Klinisch oder anamnestisch allergische Erkrankung
- Laufende oder abgeschlossene Hyposensibilisierung

2.1.1.3 Zeitpunkte der Blutentnahmen Gruppe 1

ZP1: einmalige Blutentnahme zum Zeitpunkt des Einschlusses in die Studie.

2.1.1.4 Rekrutierung der Gruppe 1

Die Kontrollgruppe setzte sich aus freiwilligen Personen aus Rostock zusammen. Die Blutentnahme erfolgte in der Häuslichkeit oder in der Klinik für Innere Medizin der Universitätsklinik Rostock.

Die teilnehmenden Probanden wurden vor der Erteilung des Einverständnisses umfangreich und zeitgerecht aufgeklärt. Jeder der Teilnehmer erklärte schriftlich seine Bereitschaft zur Partizipation an den Untersuchungen (**siehe Kapitel 2.2**).

2.1.2 Gruppe 2 (19 Patienten mit stationär behandelter Pneumonie)

2.1.2.1 Einschlusskriterien Gruppe 2

- Alter mindestens 18 Jahre
- Unterschriebene Einverständniserklärung
- Hospitalisiert über die Notaufnahme unseres Hauses mit einer Pneumonie
- Klinische Zeichen einer Pneumonie
- Radiologisch darstellbares pneumonisches Infiltrat
- Beginn der zur Aufnahme führenden Beschwerden vor höchstens 72 Stunden
- CRP mindestens 50 mg/dl bei Einschluss in die Studie

2.1.2.2 Ausschlusskriterien Gruppe 2

- Systemische Kortikosteroideinnahme in den letzten 30 Tagen
- Finale Tumorerkrankung oder Tumorerkrankung, die ein CRP von mindestens 50 mg/dl erklären würde
- Hämato-onkologische Grunderkrankung
- Zusätzlicher Infektfokus

2.1.2.3 Zeitpunkte der Blutentnahmen Gruppe 2

ZP1: Zeitpunkt der Anamnese und des Einschlusses in die Studie (max. 72 Stunden nach Beginn der akuten Beschwerden).

ZP2: 5 Tage nach Einschluss in die Studie (unter noch laufender antibiotischer Therapie).

2.1.2.4 Rekrutierung Gruppe 2

Die Gruppe 2 setzte sich aus in der Klinik für Innere Medizin der Universitätsklinik Rostock stationär behandelten Patienten zusammen, die direkt nach Hospitalisierung auf den Stationen der Pneumologie (Station 3 und 4), Infektologie (Station 11) und der internistischen Intensivstation rekrutiert wurden.

Die teilnehmenden Patienten wurden vor der Erteilung des Einverständnisses umfangreich und zeitgerecht aufgeklärt. Jeder der Teilnehmer erklärte schriftlich seine Bereitschaft zur Partizipation an den folgenden Untersuchungen.

2.1.3 Gruppe 3 (20 Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie zur stationären Einleitung einer Hyposensibilisierung)

2.1.3.1 Einschlusskriterien Gruppe 3

- Alter mindestens 18 Jahre
- Unterschriebene Einverständniserklärung
- Geplante Hyposensibilisierung bei Hymenoptereingift-Allergie (Wespe oder Biene)
- Indikation zur Hyposensibilisierung (**Tab. 3**)

2.1.3.2 Ausschlusskriterien Gruppe 3

- Akute inflammatorische Erkrankung (anamnestisch, klinisch und laborchemisch)
- Systemische Kortikosteroideinnahme in den letzten 30 Tagen
- Hämato-onkologische Grunderkrankung
- Laufende oder abgeschlossene Hyposensibilisierung

2.1.3.3 Zeitpunkte der Blutentnahmen Gruppe 3

Tag 0 (ZP1): Direkt vor der ersten subcutanen Applikation des spezifischen Allergens

Tag 3 (ZP2): 60 Minuten nach letzter subcutaner Applikation des spezifischen Allergens (54 Stunden nach ZP1 bzw. nach 10 subcutanen Applikationen des Allergens)

2.1.3.4 Rekrutierung Gruppe 3

Die Patienten der Gruppe 3 wurden vor stationärer Aufnahme in der pneumologischen Ambulanz der Klinik für Innere Medizin der Universitätsklinik Rostock rekrutiert.

Die teilnehmenden Patienten wurden vor der Erteilung des Einverständnisses umfangreich und zeitgerecht aufgeklärt. Jeder der Teilnehmer erklärte schriftlich seine Bereitschaft zur Partizipation an den folgenden Untersuchungen.

2.1.3.5 Prästationäre Diagnostik Gruppe 3

Die Patienten der Gruppe 3 wurden von niedergelassenen Pneumologen bei entsprechender Anamnese und Indikation zur spezifischen Immuntherapie (Hyposensibilisierung) zur

prästationären Diagnostik überwiesen. In der Pneumologischen Ambulanz wurden in Vorbereitung auf die stationäre Einleitung der Hyposensibilisierung folgende Untersuchungen durchgeführt:

- Anamnese
- Pricktest, wenn negativ oder fraglich positiv: Intrakutantest
- Gesamt-IgE und spezifisches IgE (Biene und Wespe)
- Tryptase (Serum)
- Prüfung der Kontraindikationen (**Tab. 4**)

2.1.3.6 Indikationen und Kontraindikationen für die durchgeführte

Hyposensibilisierung

Entsprechend der Leitlinie der Deutschen Gesellschaft Allergologie und klinische Immunologie ^[77] wurde die Indikation für die subcutane spezifische Immuntherapie (SCIT) festgelegt (**Tab. 4**).

Indikationen	<ol style="list-style-type: none">1. Eindeutiges Ereignis in der Anamnese mit klarer kausaler Beziehung zwischen Stichereignis und Reaktion (systemisch)2. Erhöhtes spezifisches IgE im Serum3. Positive Hautreaktion (entweder Prick- oder Intracutan-Test)
Kontraindikationen	<ol style="list-style-type: none">1. Unzureichend behandeltes Asthma und/oder irreversible Atemwegsobstruktion, d.h. FEV₁ trotz adäquater Pharmakotherapie unter 70% vom Sollwert2. Schwerwiegende kardiovaskuläre Erkrankung (außer bei Insektengift-Allergie)3. Behandlung mit β-Blockern oder ACE-Hemmern4. Schwere Autoimmunerkrankungen, Immundefizienzen5. Maligne neoplastische Erkrankung mit aktuellem Krankheitswert6. Unzureichende Compliance

Tab. 4: Indikationen und Kontraindikationen für die Subcutane spezifische Immuntherapie.

Abkürzungen: FEV₁ Einsekundenkapazität; IgE Immunglobulin E. Adaptiert nach ^[77].

Zur Ermittlung des Schweregrades der allergischen Reaktion wurde die Einteilung in vier Schweregrade nach Johannes Ring genutzt ^[62, 63] (**Tab. 3**).

2.2 Ablauf der Studie

Bei Erfüllung der Ein- und Ausschlusskriterien und Vorliegen der schriftlichen Einwilligung wurden die Probanden in die Studie eingeschlossen. Bei den Kontrollprobanden (Gruppe 1) wurde eine, bei den Patienten der Gruppen 2 und 3 zwei Blutentnahmen durchgeführt. Die Blutproben wurden sofort nach deren Gewinnung weiter verarbeitet (**Kapitel 2.2.5 – 2.2.8**).

2.2.1 Blutentnahmen

Material:

Stauschlauch

Hautdesinfektion mit Octeniderm®

[SCHÜLKE & MAYR, NORDERSTEDT, D]

Sterile Wattetupfer

[PAUL HARTMANN, HEIDENHEIM, D]

Monovette-Kanüle 0,8 x 38 mm

[SARSTEDT, NÜMBRECHT, D]

Monovette EDTA 9 ml

[SARSTEDT, NÜMBRECHT, D]

Monovette EDTA 2,7 ml

[SARSTEDT, NÜMBRECHT, D]

Monovette Li-Heparin 2,7 ml

[SARSTEDT, NÜMBRECHT, D]

Monovette Serum 2,7 ml

[SARSTEDT, NÜMBRECHT, D]



Abb. 8: Materialien zur Blutentnahme.

Durchführung:

Zu jedem Zeitpunkt wurden 5 Röhrchen (insgesamt ca. 26 ml) Blut entnommen: 1. ein kleines EDTA-Röhrchen (zur Blutbildbestimmung im Zentrallabor), 2. ein kleines Röhrchen ohne Additiva (Serum zur PCT-Bestimmung im Zentrallabor), 3. ein kleines heparinisierendes Röhrchen (Plasma zur CRP-Bestimmung im Zentrallabor), 4. ein großes EDTA-Röhrchen (für die Durchflusszytometrie), 5. ein großes Röhrchen ohne Additiva (zur Serumgewinnung für die IgE-Bestimmung) (**Abb. 8**).

2.2.2 Pricktest

Material:

Hautdesinfektion mit Octeniderm®	[SCHÜLKE & MAYR, NORDERSTEDT, D]
Sterile Wattetupfer	[PAUL HARTMANN, HEIDENHEIM, D]
ALK-Lanzette	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]
NaCl 0,9%	[B.BRAUN AG, MELSUNGEN, D]
Histamindihydrochlorid 10 mg/ml	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]
ALK-prick SQ Wespengift 1 µg/ml	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]
ALK-prick SQ Wespengift 10 µg/ml	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]
ALK-prick SQ Wespengift 100 µg/ml	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]
ALK-prick SQ Bienengift 1 µg/ml	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]
ALK-prick SQ Bienengift 10 µg/ml	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]
ALK-prick SQ Bienengift 100 µg/ml	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]

Methode:

Beim Pricktest handelt es sich um einen Allergietest, der an der Haut des Unterarms oder des Rückens des Patienten durchgeführt wird. Er dient zur Diagnostik von IgE-vermittelten Allergien. Treffen die aufgetragenen Allergene auf die entsprechenden Antikörper (IgE) in der Haut, so kommt es zu einer Rötung und der Bildung einer Quaddel, d.h. einer hellen, scharf begrenzten Schwellung um die Einstichstelle. Das Ausmaß der Rötung und der Quaddel entscheidet, ob der Test positiv, fraglich oder negativ bewertet wird.

Durchführung:

Auf die Innenseite des Unterarms wird eine Lösung mit dem verdächtigsten Allergen, einer Positiv- (Histamin) und einer Negativkontrolle (NaCl 0,9%) getropft. Mit einer Lanzette wird, ohne dass es zum Blutaustritt kommt, durch den Tropfen hindurch oberflächlich in die Haut gestochen. Die Testlösung wird nach 5 Minuten abgetupft und nach weiteren 15 Minuten wird die Reaktion an der Haut abgelesen. Die auftretende Hautreaktion ist das Maß für die Reaktion. Positiv- und Negativkontrolle dienen als Maß für die Hautempfindlichkeit und Reaktionsbereitschaft des Patienten. Fehlt die Reaktion der Haut an der Stelle des Histamintropfens oder reagiert die Haut auf die Kochsalz-Lösung, können die anderen Testergebnisse der Allergene nur eingeschränkt bewertet werden. Antihistaminika und Steroide können die Testergebnisse verfälschen, indem sie eine Reaktion vermindern oder verhindern.

Beschreibung der Reaktion:

Die erwartete Reaktion entspricht einer Rötung und einer Quaddel. Die Größe der Rötung und der Quaddel entscheiden, ob der Test positiv, fraglich positiv oder negativ bewertet wird (Tab. 5).

Wertung	Beschreibung
Negativ	Keine Quaddel, Rötung im Durchmesser nicht größer als 3 mm, Reaktion wie bei Negativkontrolle (Kochsalz-Lösung)
fraglich positiv (+)	angedeutete Quaddel von 1-2 mm, Rötung im Durchmesser 3-4 mm
positiv +	Quaddel mind. 3 mm, Rötung im Durchmesser mindestens 5 mm und Quaddeldurchmesser kleiner als bei der Histaminquaddel
positiv ++	Quaddel mind. 3 mm, Rötung im Durchmesser mindestens 5 mm Und Quaddeldurchmesser = Histaminquaddel
positiv +++	Quaddel mind. 3 mm, Rötung im Durchmesser mindestens 5 mm und Quaddeldurchmesser größer als bei der Histaminquaddel

Tab. 5: Beschreibung und Wertung der lokalen Hautreaktion des Prick-Tests.

Dargestellt ist die Wertung des Prick-Tests entsprechend der Ausprägung der Lokalreaktion. Adaptiert nach ^[78].

2.2.3 Intracutantest

Material:

Hautdesinfektion mit Octeniderm®	[SCHÜLKE & MAYR, NORDERSTEDT, D]
Sterile Wattetupfer	[PAUL HARTMANN, HEIDENHEIM, D]
Microlance™ 3 Subcutan-Kanüle 0,45 x 13 mm	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]
Omnifix®-F Einmalspritze 1,0 ml	[B.BRAUN AG, MELSUNGEN, D]
NaCl 0,9%	[B.BRAUN AG, MELSUNGEN, D]
Histamindihydrochlorid 10 mg/ml	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]
ALK-lyophilisiert SQ Wespengift Wespe 1 µg/ml	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]
ALK-lyophilisiert SQ Bienengift Wespe 1 µg/ml	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]

Methode:

Der Intracutantest ist ein Titrationstest und dient zum Nachweis einer Typ I-Allergie. Hierbei wird eine definierte Menge eines Allergenextraktes (z.B. lyophilisiertem und gereinigtem Insektengift) intracutan injiziert und nach jeweils 15 Minuten gegen einen Leertest (NaCl 0,9%) abgelesen.

Durchführung:

Die Anfangskonzentration des applizierten Allergenextraktes beträgt 0,01 µg/ml. Der Test ist als positiv zu werten, wenn spätestens nach 15 Minuten eine Quaddelbildung zu verzeichnen

ist. Andernfalls wird die Konzentration um je eine Zehnerpotenz bis zu einer Maximalkonzentration von 1 µg/ml gesteigert. Mit der Titration wird die Konzentration ermittelt, bei der zum ersten Mal eine deutliche Quaddelbildung feststellbar ist. Werden unterschiedliche Insektengifte (z.B. Biene und Wespe) appliziert, so kann nicht nur der Sensibilisierungsgrad festgestellt, sondern auch bestimmen werden, auf welches der Gifte der Patient allergisch (sensibel) reagiert. Es wird jeweils nur eine Testsubstanz zum gleichen Zeitpunkt appliziert.

2.2.4 Stationäre Einleitung einer Hyposensibilisierung

Material:

Hautdesinfektion mit Octeniderm®	[SCHÜLKE & MAYR, NORDERSTEDT, D]
Sterile Wattetupfer	[PAUL HARTMANN, HEIDENHEIM, D]
Microlance™ 3 Subcutan-Kanüle 0,45 x 13 mm	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]
Omnifix®-F Einmalspritze 1,0 ml	[B.BRAUN AG, MELSUNGEN, D]
ALK-lyophilisiert SQ Therapie 802 Wespengift	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]
ALK-lyophilisiert SQ Therapie 801 Bienengift	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]
ALK-depot SQ Therapie 802 Wespengift	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]
ALK-depot SQ Therapie 801 Bienengift	[ALK-SCHERAX, WEDEL, D]

Nach der oben beschriebenen ambulanten Diagnostik (**Kapitel 2.1.3.5**) wurde die stationäre Einleitung der Hyposensibilisierung wie folgt durchgeführt:

Methode:

Die Einleitung der Hyposensibilisierung erfolgt nach dem sogenannten „Rush-Verfahren“ (Tab. 6) mit einem lyophilisiertem Präparat, dessen applizierte Dosis während der 3-tägigen stationären Behandlungsphase von 0,01 µg bis 100 µg gesteigert wird [79].

Tag	Stunde	Konzentration der Injektionslösung [µg/ml]	Volumen injiziert [ml]	Dosis [µg]
1	0	0,1	0,1	0,01
	2	1,0	0,1	0,1
	4	10	0,1	1,0
	6	10	0,5	5,0
2	24	100	0,1	10
	26	100	0,2	20
	28	100	0,4	40
	30	100	0,6	60
3	48	100	0,8	80
	52	100	1,0	100

Tab. 6: Schema der Hyposensibilisierungs-Einleitung (Rush-Schema).

Adaptiert nach Elsner et al. [79].

Anschließend wird die Therapie ambulant mit der Erhaltungsdosis von 100 µg des Insektengiftextrakts (Depot-Präparat) fortgesetzt. Zunächst erhalten die Patienten die Erhaltungsdosis nach 7 Tagen, 21 Tagen und 42 Tagen. Danach wird die Erhaltungsdosis im Abstand von 4 Wochen für insgesamt 3 Jahre appliziert. In Fällen von Bienengiftallergie mit besonderer Exposition und in Fällen von erhöhtem Risiko schwerer Anaphylaxie wird eine Erhaltungsdosis von 200 µg empfohlen [80]. Bei Systemerkrankungen wie der Mastozytose kann auch eine lebenslange Hyposensibilisierung indiziert sein.

Durchführung:

Zur Injektion dient eine 1 ml-Spritze mit Feingraduierung bis zu 0,01 ml mit einer Injektionsnadel. Die Injektionen erfolgen streng subcutan in eine abgehobene Hautfalte, nach vorheriger bzw. je nach Injektionsvolumen wiederholter Aspiration, vorzugsweise handbreit über dem Olekranon an der Streckseite der Oberarme und werden unter Angabe des Injektionsortes und der Dosis dokumentiert. Nach jeder Injektion muss der Patient mindestens 30 Minuten unter ärztlicher Kontrolle bleiben.

2.2.5 Parameter der Klinischen Chemie

Nach der Blutentnahme wurde ein Teil der Proben (kleines EDTA-Röhrchen, kleines Serum-Röhrchen, kleines Lithium-Heparin-Röhrchen) im INSTITUT FÜR KLINISCHE CHEMIE UND

LABORATORIUMSMEDIZIN (Zentrallabor) sofort weiter verarbeitet. Die Laborparameter sind in **Tabelle 7** aufgeführt.

Zusatz	Parameter
EDTA	Hämoglobin-Konzentration, Hämatokrit, MCH, MCV, MCHC, Konzentration der Erythrozyten, Thrombozyten, Leukozyten. Mikroskopische Leukozyten-Differenzierung: Lymphozyten, Monozyten, neutrophile, basophile und eosinophile Granulozyten
Lithium-Heparin	C-reaktives Protein (CRP)
Serum	Procalcitonin (PCT)

Tab. 7: Analyierte Parameter der Klinischen Chemie

Abkürzungen: **EDTA** Ethylendiamintetraessigsäure; **MCH** Mean corpuscular haemoglobin; **MCHC** Mean corpuscular haemoglobin concentration; **MCV** Mean corpuscular volume.

Die Ermittlung des Differentialblutbildes erfolgte mit einem hämatologischen Analysegerät XE 2100 [SYSMEX, NORDERSTEDT, D]. Die CRP-Bestimmung erfolgte mittels eines Synchron LX 20 [BECKMAN COULTER, KREFELD, D]. Procalcitonin wurde mit dem Kryptor PCT automated assay [BRAHMS, HENNIGSDORF, D] bestimmt.

2.2.6 Gesamt-IgE und spezifisches IgE

Die Bestimmung des Gesamt-IgE und des spezifischen IgE für Wespe und Biene erfolgte mit der CAP-RAST-Methode aus Serum. Die Bestimmung wurde mit dem Gerät UniCAP100 im immunologischen Labor der Abteilung für Pneumologie durchgeführt. Zur Einschätzung spezifischen IgE-Spiegel werden die IgE-CAP-Klassen angegeben (**Tab. 8**).

RAST-Klasse	Konzentration [kU/l]	Spiegel der Allergen-spezifischen IgE-AK
0	<0,35	Nicht vorhanden / nachweisbar
1	0,35–0,7	Niedrig
2	0,7–3,5	Mittel
3	3,5–17,5	Hoch
4	17,5-50	Sehr hoch
5	50-100	Sehr hoch
6	>100	Sehr hoch

Tab. 8: Konzentrationsgrenzen der RAST-Klassen für spezifisches CAP-IgE.

Abkürzungen: **AK** Antikörper; **IgE** Immunglobulin E. Adaptiert nach Herstellerangabe [PHADIA AB, UPPSALA, S].

Für die Bestimmung des Gesamt-IgE werden keine CAP-Klassen ausgewiesen, die erfassten Werte werden in kU/l angegeben. Die Normwerte unterscheiden sich je nach Altersgruppe. Der Normalbereich für die in dieser Studie relevante Altersgruppe ist <120 kU/l.

Das Prinzip beim Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST) besteht im Nachweis der gesamten spezifischen Antikörper vom Typ IgE im Patientenserum. Diese binden kovalent an das spezifische Allergen, welches wiederum an ein Cellulose Carrier Polymer (CAP) gebunden ist. In Waschvorgängen wird unspezifisches bzw. ungebundenes IgE abgewaschen und die Proben anschließend mit Enzymmarkierten Antikörpern gegen IgE inkubiert. Dabei bildet sich ein Komplex aus gebundenem IgE und Enzymmarkierten Antikörpern. Nach der Inkubationszeit werden ungebundene Enzym-Anti-IgE-Komplexe abgewaschen und der gebundene Komplex mit der Entwicklerlösung (4-Methylumbelliferyl- β -D-Galactoside) inkubiert. Die Reaktion wird nach einer definierten Zeit terminiert und die Fluoreszenz der Proben gemessen. Die Fluoreszenzintensität ist mit der Gesamt- oder spezifischen IgE-Konzentration im Serum direkt proportional und wird mit der Fluoreszenz der parallel gemessenen Referenzseren verglichen.

2.2.7 Tryptase

Die basale Tryptase wurde aus Serum mittels ImmunoCAP im UniCAP 100 bestimmt. Eine Konzentration von mehr als 11,4 $\mu\text{g/l}$ (Herstellerangabe, [PHADIA AB, UPPSALA, S]) wird als erhöht gewertet.

2.2.8 Durchflusszytometrie

Material:

Durchflusszytometer FACSCalibur	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]
FACS-Software: CellQuest	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]
Zentrifuge Multifuge 1L-R	[THERMO SCIENTIFIC, KARLSRUHE, D]
Schüttler Mono-Mixer	[SARSTEDT, NÜMBRECHT, D]
Pipette Research 100–1000 μl	[EPPENDORF, HAMBURG, D]
Pipette Research 20–200 μl	[EPPENDORF, HAMBURG, D]
Pipettenspitzen blau 1000 μl	[GREINER BioOne, FRICKENHAUSEN, D]
Pipettenspitzen gelb 200 μl	[GREINER BioOne, FRICKENHAUSEN, D]
Reaktionsgefäße 1,5 ml	[SARSTEDT, NÜMBRECHT, D]
FACS-Röhrchen FACS 5 ml	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]
Dulbecco's PBS ohne $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$	[PAA Laboratories GmbH, A]
Fetales Kälberserum (FCS)	[SIGMA, DEISENHOFEN, D]
FACS Lysing Solution (10X)	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]
FACSFlow	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]

2 Probanden, Material und Methoden

Vorbereitete Lösungen:

Waschpuffer: 500 ml PBS + 10 ml FCS + 5 ml Natriumazid
(1 g Natriumazid + 10 ml Aqua dest)

Permeabilisierungspuffer: 50 ml Waschpuffer + 500 µl Saponin 10%ig

Maus-anti-human Antikörper	Markierung	Klon	Hersteller
Lineage Cocktail 1 ^[50] : CD3 CD14 CD16 CD19 CD20 CD56	FITC	SK7 MφP9 3G8 SJ25C1 L27 NCAM16.2	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]
CD123	PE APC	9F5 AC145	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]
HLA-DR	PerCP	L243	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]
IgG1	PE	X40	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]
TRAIL	PE	57402	[R & D SYSTEMS, MINNEAPOLIS, USA]
CD11c	PE APC	S-HCL-3 S-HCL-3	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]
CD32	APC	FLI8.26	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]
CD40	APC	HB14	[CALTAG LABORATORIES, HAMBURG, D]
CD64	APC	10.1	[CALTAG LABORATORIES, HAMBURG, D]
CD80	APC	MEM-233	[IMMUNOTOOLS GMBH, FRIESOYTE, D]
CD83	APC	HB15e	[CALTAG LABORATORIES, HAMBURG, D]
CD86	APC	Bu63	[CALTAG LABORATORIES, HAMBURG, D]
BDCA-1	APC	AD5-8E7	[MILTENYI BIOTEC, BERGISCH GLADBACH, D]
BDCA-3	APC	AD5-14H12	[MILTENYI BIOTEC, BERGISCH GLADBACH, D]
CCR5	APC	2D7/CCR5	[BECTON & DICKINSON, HEIDELBERG, D]
CCR7	APC	150503	[R & D SYSTEMS, MINNEAPOLIS, USA]
TLR1	PE	GD2.F4	[EBIOSCIENCE, SAN DIEGO, USA]
TLR2	PE	TLR2.3	[ABD SEROTEC, OXFORD, UK]
TLR4	PE	HTA125	[ABD SEROTEC, OXFORD, UK]
TLR9	PE	eB72-1665	[EBIOSCIENCE, SAN DIEGO, USA]
Granzym B	PE	GB11	[IMMUNOTOOLS GMBH, FRIESOYTE, D]

Tab. 9: Verwendete monoklonale Maus-anti-Human-Antikörper mit Markierung.

Abkürzungen: APC Allophycocyanin; BDCA Blood dendritic cell antigen; CCL Chemokin-Ligand; FITC Fluoresceinisothiocyanat; HLA-DR human leukocyte antigen-DR; IgG Immunglobulin G; PE Phytoerythrin; PerCP Perinidin-Chlorophyll-A-Protein; TLR Toll-like-receptor.

Methode:

Mit Hilfe der FACS-Methode (Fluorescence Activated Cell Sorting) ist es möglich, Einzelzellen hinsichtlich ihrer Größe, Granularität und definierter Oberflächenantigene zu quantifizieren. Die zu untersuchenden Zellen werden separiert und als Suspension über eine

dünne Glaskapillare in das Durchflusszytometer gesaugt, so dass ein Flüssigkeitsstrom aus einzelnen Zellen entsteht. Diese passieren einen Laserstrahl und werden so durch Licht der Wellenlänge 488 nm bestrahlt. Über Photodetektoren kann die Ablenkung des Strahles senkrecht zur Bewegungsachse (Seitwärtsstreuung, sideward scatter, SSC) gemessen werden, wodurch sich die Granularität der Zellen ermitteln lässt. Die gemessene Absorption des Lichtes entlang des Strahlenganges (Vorwärtsstreuung, forward scatter, FSC) gilt als ein Maß für die Größe der Zellen. Werden die Zellen durch spezifische Antikörper mit gebundenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert (**Tab. 9**), können die durch die Bestrahlung aus den Farbstoffen emittierten Photoquanten detektiert werden. Drei der am häufigsten verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe sind Phytoerythrin (PE), Allophycocyanin (APC) und Fluoresceinisothiocyanat (FITC). Bei Anregung durch Licht der Wellenlänge 488 nm emittiert APC Licht der Wellenlänge 633 nm, PE oranges Licht (585 nm) und FITC grünes Licht einer Wellenlänge von 530 nm. Die Intensitäten der Wellenlängen werden detektiert und dadurch die Menge an zelladhärenten Antikörpern gemessen, welche wiederum proportional der Menge an Oberflächenantigenen der Zelle ist. Die gespeicherten Daten können durch Darstellung in Koordinatensystemen (Dotplots) ausgewertet werden (**Abb. 9**). Die Achsen des Diagramms werden durch zwei der gemessenen Parameter gebildet und jede Zelle gemäß den bei ihr gemessenen Größen als Punkt eingetragen. Die sich daraus ergebenden Punktwolken repräsentieren die unterschiedlichen Populationen in der analysierten Zellgesamtheit (**Abb. 9**).

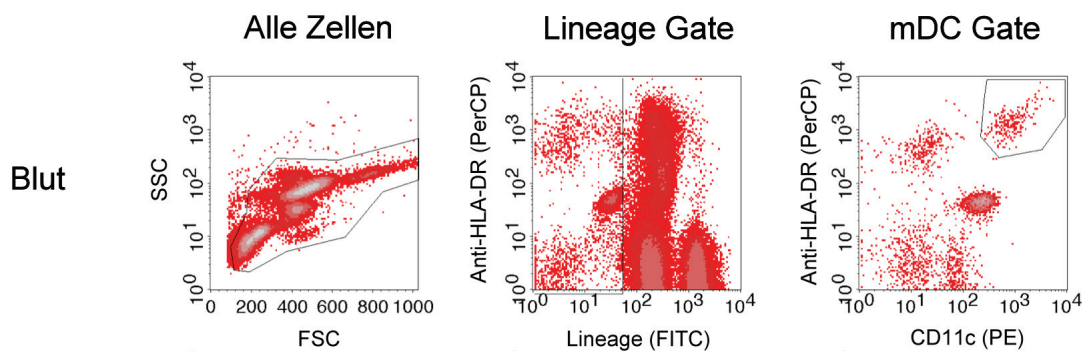


Abb. 9: Dotplot-Darstellung der durchflusszytometrisch bestimmten Parameter.

Beispielhaft ist die Messung von mDC dargestellt. Zunächst werden alle Zellen im SSC-FSC-Plot eingegrenzt (linke Abbildung). Danach werden die Zellen, die für die Lineage Marker negativ oder schwach positiv sind (linneg/dim Zellen), abgegrenzt (mittlere Abbildung). Unter diesen Zellen wurden dann die Zellen mit hoher Expression von HLA-DR und CD11c als myeloide DC identifiziert und quantifiziert (rechte Abbildung). Mit der 4. Farbe (APC) konnten auf den identifizierten Zellen dann verschiedene Oberflächenmarker der myeloiden DC gemessen werden. *Abkürzungen:* **CD** cluster of differentiation; **FITC** Fluoresceinisothiocyanat; **FSC** forward scatter; **HLA-DR** human leukocyte antigen-DR; **PE** Phytoerythrin; **PerCP** Perinidin-Chlorophyll-A-Protein; **SSC** sideward scatter.

Durchführung:

In dreißig Reagenzröhrchen werden je 5 µl der unverdünnten Antikörper-Lösungen pipettiert (**Tab. 10-12**) und je 70 µl EDTA-Blut zugefügt, erneut mit einem Schüttler vermischt und die Röhrchen danach 20 Minuten lang abgedunkelt bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend werden 1000 µl der Lysing-Solution zugefügt, erneut in einem Schüttler vermischt und weitere 10 Minuten abgedunkelt bei Raumtemperatur inkubiert. Es folgt eine 5-minütige Zentrifugation mit 420 g und Raumtemperatur, die Überstände werden dekantiert und verworfen.

Ab diesem Schritt unterscheidet sich die weitere Vorgehensweise für die Messung der untersuchten Oberflächen- und der intrazellulären Antigene.

Für die Oberflächenanalyse erfolgt eine Waschung mit 1000 µl Waschpuffer gefolgt von einer 5-minütigen Zentrifugation mit 420 g bei Raumtemperatur. Die Überstände werden verworfen. Anschließend werden die Zellen in 200 µl PBS resuspendiert und sind damit fertig aufbereitet für die Durchflusszytometrie.

Für die intrazellulären Messungen werden die Zellen in 1000 µl Permeabilisierungspuffer resuspendiert und 10 Minuten abgedunkelt bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend folgt die Zentrifugation der Proben mit 420 g. Die Überstände werden dekantiert und verworfen, dann je 5 µl (für Granzym B 10 µl) der für die intrazellulär zu bestimmenden Antigene entsprechenden markierten Antikörper (**Tab. 11**) zugefügt und 20 Minuten abgedunkelt bei Raumtemperatur inkubiert. Die Zellen werden erneut in 1000 µl Permeabilisierungspuffer resuspendiert und 5 Minuten mit 420 g und Raumtemperatur zentrifugiert. Nachdem die Überstände dekantiert und verworfen wurden, werden die Zellen in 200 µl PBS mit dem Schüttler resuspendiert. Diese Lösung wird mittels Durchflusszytometrie gemessen.

Es wurden 250000 Events (am Laser registrierte Ereignisse jeglicher Qualität) für die Gruppe 2 und 150000 Events für die Gruppen 1 und 3 aus jedem Ansatz mit dem Durchflusszytometer gemessen.

Ansätze für die FACS-Markierungen:

Nr.	FITC	PE	PerCP	APC
1	Lin 1	CD123	HLA-DR	IgG
2	Lin 1	CD123	HLA-DR	CD32
3	Lin 1	CD123	HLA-DR	CD40
4	Lin 1	CD123	HLA-DR	CD64
5	Lin 1	CD123	HLA-DR	CD80
6	Lin 1	CD123	HLA-DR	CD83
7	Lin 1	CD123	HLA-DR	CD86
8	Lin 1	CD123	HLA-DR	BDCA-3
9	Lin 1	CD123	HLA-DR	CCR5
10	Lin 1	CD123	HLA-DR	CCR7
11	Lin 1	IgG	HLA-DR	CD123
12	Lin 1	TRAIL	HLA-DR	CD123

Tab. 10: Ansätze zur Bestimmung der pDC.

Abkürzungen: **APC** Allophycocyanin; **BDCA** Blood dendritic cell antigen; **CCR** Chemokinrezeptor; **CD** Cluster of differentiation; **FITC** Fluoresceinisothiocyanat; **HLA-DR** Human leukocyte antigen-DR; **IgG** Immunglobulin G; **Lin** Lineage; **PE** Phytoerythrin; **PerCP** Perinidin-Chlorophyll-A-Protein.

Nr.	FITC	PE	PerCP	APC
13	Lin 1	IgG1	HLA-DR	CD123
14	Lin 1	Granzym B	HLA-DR	CD123
15	Lin 1	TLR9	HLA-DR	CD123

Tab. 11: Ansätze zur Bestimmung der intrazellulären Marker.

Abkürzungen: **APC** Allophycocyanin; **CD** Cluster of differentiation; **FITC** Fluoresceinisothiocyanat; **HLA-DR** Human leukocyte antigen-DR; **IgG** Immunglobulin G; **Lin** Lineage; **PE** Phytoerythrin; **PerCP** Perinidin-Chlorophyll-A-Protein; **TLR** Toll like receptor.

Nr.	FITC	PE	PerCP	APC
16	Lin 1	CD11c	HLA-DR	IgG
17	Lin 1	CD11c	HLA-DR	BDCA-1
18	Lin 1	CD11c	HLA-DR	BDCA-3
19	Lin 1	CD11c	HLA-DR	CD32
20	Lin 1	CD11c	HLA-DR	CD40
21	Lin 1	CD11c	HLA-DR	CD64
22	Lin 1	CD11c	HLA-DR	CD80
23	Lin 1	CD11c	HLA-DR	CD83
24	Lin 1	CD11c	HLA-DR	CD86
25	Lin 1	CD11c	HLA-DR	CCR5
26	Lin 1	CD11c	HLA-DR	CCR7
27	Lin 1	IgG	HLA-DR	CD11c
28	Lin 1	TLR1	HLA-DR	CD11c
29	Lin 1	TLR2	HLA-DR	CD11c
30	Lin 1	TLR4	HLA-DR	CD11c

Tab. 12: Ansätze zur Bestimmung der mDC.

Abkürzungen: **APC** Allophycocyanin; **BDCA** Blood dendritic cell antigen; **CD** Cluster of differentiation; **FITC** Fluoresceinisothiocyanat; **HLA-DR** Human leukocyte antigen-DR; **IgG** Immunglobulin G; **PE** Phytoerythrin; **PerCP** Perinidin-Chlorophyll-A-Protein; **Lin** Lineage; **TLR** Toll like receptor.

2.3 Statistische Auswertung

Die Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit Hilfe der Statistik-Software SPSS [CHICAGO, ILLINOIS, USA]. Die meisten Parameter waren nicht normal verteilt. Daher wurden Medianwerte (mit Minimum und Maximum) berechnet, und die Korrelationen wurden mittels des SPEARMAN'S Rang-Korrelationskoeffizienten dargestellt. Für den Vergleich zweier Kohorten wurde der nonparametrische MANN-WHITNEY U-Test für unabhängige Proben herangezogen. Für verbundene Stichproben wurde entsprechend der WILCOXON-SIGNED RANK-Test herangezogen. Bei einer statistischen Irrtumswahrscheinlichkeit von p-Werten $<0,05$ wurden Mediandifferenzen als statistisch signifikant betrachtet.

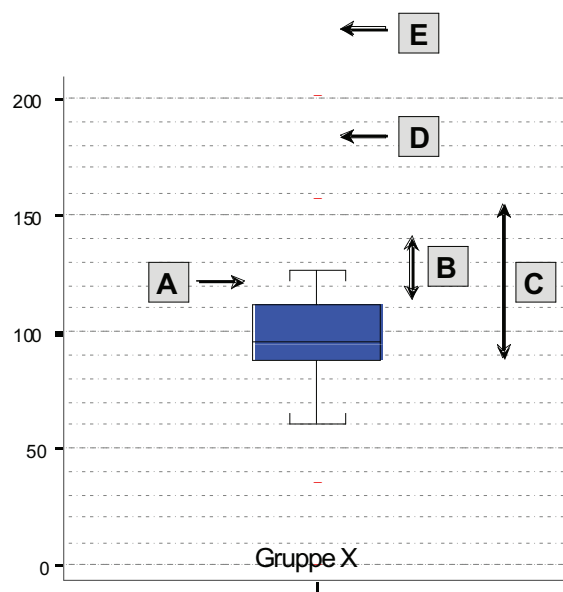


Abb. 10: Beispiel eines typischen Boxplot-Diagramms.

- A** Median
- B** Interquartilenabstand (IQA)
- C** Bereich der Werte, die $<1,5$ IQA vom oberen oder unteren Rand der Box entfernt sind
- D** Extremwerte (Werte, die $>1,5$ und $<3,0$ IQA vom oberen oder unteren Rand der Box entfernt sind)
- E** Ausreißer (Werte, die $>3,0$ IQA vom oberen oder unteren Rand der Box entfernt sind)

3 Ergebnisse

3.1 Patientencharakteristika

3.1.1 Gruppe 1 (Kontrolle)

Es wurden 19 Kontrollprobanden rekrutiert. Die anthropometrischen Daten und die Raucheranamnese der Kontrollprobanden sind in **Tabelle 13** aufgeführt. In der Kontrollgruppe ergab sich ein Geschlechterverhältnis von 10 männlichen zu 9 weiblichen Probanden, mit einem medianen Alter von 74 Jahren (**Tab. 13**). Die Gruppe setzte sich aus einem Raucher, 10 Exrauchern und 8 Nierauchern zusammen (**Tab. 13**).

Nr.	Geschlecht [m / w]	Alter [Jahre]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	Raucherstatus
1	w	66	158	61	Bis 1968 (1 PY)
2	m	64	178	79	Bis 1998 (1 PY)
3	w	70	163	55	Bis 1960 (1 PY)
4	m	64	172	67	Nieraucher
5	m	80	172	90	Nieraucher
6	w	84	165	58	Bis 1978 (10 PY)
7	m	77	186	83	Bis 1970 (3 PY)
8	m	84	165	70	Bis 1978 (15 PY)
9	w	93	162	81	Nieraucher
10	w	49	168	63	Nieraucher
11	w	59	168	79	Bis 1976 (1 PY)
12	w	50	165	66	Nieraucher
13	m	64	174	78	10 / d (30 PY)
14	m	65	170	83	Nieraucher
15	w	75	160	70	Nieraucher
16	m	83	171	70	Nieraucher
17	m	74	183	93	Bis 1970 (7 PY)
18	w	75	160	80	Bis 1970 (7 PY)
19	m	74	172	80	Bis 2004 (30 PY)

Tab. 13: Anthropometrie und Raucheranamnese der Kontrollpersonen.

Abkürzungen: m männlich; PY Pack years (Packungsjahre); w weiblich.

Anamnestisch wiesen die Personen der Kontrollgruppe folgende internistische Erkrankungen auf: es fanden sich 3 Probanden mit KHK, 13 Probanden mit arterieller Hypertonie, ein Proband mit Diabetes mellitus, 3 Personen mit Dyslipoproteinämie, und keine Personen mit COPD oder chronischer Niereninsuffizienz (**Tab. 14**). Die einzelnen Medikationen der Kontrollprobanden inklusive Dosis und Therapieschema sind in **Tabelle 14** aufgeführt.

3 Ergebnisse

Nr.	Internistische Vorerkrankungen (anamnestisch)	Aktuelle Medikation am Tag des Einschlusses in die Studie (anamnestisch)
1	KHK	Acetylsalicylsäure 100-0-0 mg
2	Arterielle Hypertonie	Nebivolol 5-0-0 mg
3	Keine	Keine
4	Keine	Keine
5	Arterielle Hypertonie Dyslipoproteinämie Z.n. Apoplex	Irbesartan 300-0-0 mg Hydrochlorothiazid 12,5-0-0 mg Pravastatin 10-0-0 mg Clopidogrel 75-0-0 mg Ranitidin 300-0-0 mg Theophyllin 300-0-0 mg
6	Arterielle Hypertonie	Olmesartan 10-0-0 mg Bisoprolol 5-0-0 mg
7	Arterielle Hypertonie	Bisoprolol 2,5-0-0 mg Enalapril 5-0-0 mg Hydrochlorothiazid 12,5-0-0 mg Tebonin (Ginkgo biloba) 80-0-80 mg Lachsöl 800-0-0 mg
8	Arterielle Hypertonie Herzrhythmusstörung BPH	Atenolol 50-0-0 mg Propafenon 150-0-0 mg Tamsulosin 0,4-0-0 mg
9	Arterielle Hypertonie Hypothyreose	Telmisartan 20-0-0 mg L-Thyroxin 75-0-0 µg
10	Arterielle Hypertonie	Betaxolol 10-0-0 mg
11	Keine	Keine
12	Keine	Keine
13	Keine	Keine
14	Arterielle Hypertonie	Nebivolol 5-0-0 mg
15	Arterielle Hypertonie	Ramipril 5-0-0 mg Hydrochlorothiazid 25-0-0 mg
16	KHK (Z.n. Myokardinfarkt 2007, Z.n. ACVB 2007) Arterielle Hypertonie Dyslipoproteinämie	Ramipril 5-0-0 mg Amlodipin 5-0-0 mg Clopidogrel 75-0-0 mg Simvastatin 0-0-40 mg
17	Arterielle Hypertonie Diabetes mellitus Typ 2 (nicht insulinpflichtig)	Bisoprolol 5-0-5 mg Amlodipin 5-0-5 mg Irbesartan 300-0-0 mg Hydrochlorothiazid 12,5-0-0 mg Allopurinol 300-0-0 mg Metformin 500-0-500 mg Glibenclamid 3,5-3,5-3,5 mg
18	Arterielle Hypertonie Hypothyreose	Olmesartan 10-0-0 mg Dipyridamol 200-0-200 mg L-Thyroxin 50-0-0 µg
19	KHK (Z.n. Myokardinfarkt 2004) Arterielle Hypertonie Dyslipoproteinämie	Acetylsalicylsäure 100-0-0 mg Bisoprolol 5-0-0 mg Amlodipin 5-0-0 mg Simvastatin 0-0-40 mg

Tab. 14: Dauerdiagnosen und Medikation der Kontrollpersonen.

Abkürzungen: **ACVB** Aorto-Coronarer Venen Bypass; **BPH** Benigne Prostathyperplasie; **KHK** Koronare Herzkrankheit; **Z.n.** Zustand nach.

3.1.2 Gruppe 2 (Pneumonie)

Es wurden 19 Patienten mit Pneumonie rekrutiert. Die anthropometrischen Daten und die Raucheranamnese der Patienten mit Pneumonie sind in **Tabelle 15** aufgeführt. In der Gruppe der Patienten mit Pneumonie ergab sich ein Geschlechterverhältnis von 12 männlichen zu 7 weiblichen Patienten mit einem medianen Alter von 73 Jahren (**Tab. 15**). Anamnestisch setzte sich die Gruppe aus einem Raucher, 7 Exrauchern und 11 Nierauchern zusammen (**Tab. 15**).

Nr.	Geschlecht [m / w]	Alter [Jahre]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	Raucherstatus	Subjektive Beschwerden
1	m	76	172	73	Nieraucher	H, AE, L
2	w	62	165	60	Nieraucher	H, A, F, L
3	m	68	173	75	Nieraucher	H
4	w	86	165	63	Bis 1978 (5 PY)	H, L
5	m	75	189	90	Nieraucher	H, Kreislaufdysregulation
6	w	81	168	70	Bis 1950 (2 PY)	H, AE, L
7	m	76	172	60	Nieraucher	H, AE, L
8	m	77	189	94,5	Bis 1988 (21 PY)	H, A, F, L
9	w	69	155	53	Nieraucher	A, Schmerzhafter Husten
10	w	23	166	65	Bis 2007 (11 PY)	H, A, F, L
11	m	67	170	84,5	Bis 1978 (15 PY)	H, A, F
12	m	73	170	80	Bis 1975 (2 PY)	F, L
13	m	57	170	80	10 / d (30 PY)	F, L, SCH
14	w	89	160	55	Nieraucher	H, A, F, Kreislaufdysregulation
15	m	72	188	88	Nieraucher	F, Schüttelfrost, Schwitzen
16	w	89	160	64	Nieraucher	H, SA, SCH
17	m	66	178	75	Nieraucher	H, AE, F
18	m	76	178	79	Bis 1984 (20 PY)	H, A, F, SA
19	m	69	170	69	Nieraucher	H, A, F, Kopfschmerzen

Tab. 15: Anthropometrie und Raucheranamnese der Patienten mit Pneumonie.

Abkürzungen: A Auswurf; AE Eitriger Auswurf; F Fieber; H Husten; L Luftnot; m männlich; PY Pack years (Packungsjahre); SA Schmerzen beim Atmen; SCH Schwächegefühl; w weiblich.

Anamnestisch wiesen die Patienten der Gruppe mit Pneumonie folgende internistische Erkrankungen auf: es fanden sich 7 Patienten mit KHK, 13 Patienten mit arterieller Hypertonie, 6 Patienten mit Diabetes mellitus, 3 Patienten mit COPD, 2 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, 4 Patienten mit Dyslipoproteinämie (**Tab. 16**). Die einzelnen Medikationen der Patienten inklusive Dosis und Therapieschema sind in **Tabelle 16** aufgeführt.

3 Ergebnisse

Nr.	Internistische Vorerkrankungen (anamnestisch)	Aktuelle Medikation am Tag des Einschlusses in die Studie (anamnestisch)
1	KHK (Bypass 94, Stents 97) Paroxysmales VHF Arterielle Hypertonie Diabetes mellitus Typ 2 (nicht insulinpflichtig) Chronische Niereninsuffizienz Dyslipoproteinämie	Phenprocoumon, Dosierung nach INR Clopidogrel 75-0-0 mg Nitrendipin 20-0-0 mg Isosorbiddinitrat retard Kps. 40-0-40 mg Spironolacton 25-0-0 mg Candesartan 16-0-0 mg Hydrochlorothiazid 12,5-0-0 mg Carvedilol 6,25-0-6,25 mg Glibenclamid 5-10-0 mg Simvastatin 20-0-0 mg Metformin 500-500-500 mg Allopurinol 150-0-0 mg
2	Keine	Keine
3	Arterielle Hypertonie COPD bei 0 PY	Losartan 100-0-0 mg
4	Arterielle Hypertonie COPD bei 5 PY Hyperthyreose Z.n. Meningeom (OP, Hemiparese li., Epilepsie)	Toraseamid 5-0-5 mg Hydromorphon-HCl 8-0-8 mg Bisoprolol 5-0-2,5mg Carbamazepin retard 400-0-400 mg Amitriptylin retard 25-0-0 mg Calcilac (Cholecalciferol 400 IE + Calciumcarbonat 0,5 g) 1-0-1 Kautablette L-Thyroxin 75-0-0 µg Omeprazol 40-0-0 mg Digitoxin 0,07-0-0 mg Formoterol Hartkapseln mit Pulver 12 µg 2-0-2 Hub Enoxaparin 40-0-0 mg s.c.
5	KHK (ACVB, Dressler Syndrom) Paroxysmales VHF Aortenklappenersatz	Omeprazol 40-0-0 mg p.o. Simvastatin 20-0-0 mg p.o. Norepinephrin 0,1µg / kg / min Heparin 500 IE / h
6	KHK Diabetes mellitus Typ 2 (nicht insulinpflichtig) Rheumatoide Arthritis	Acetylsalicylsäure 100-0-0 mg L-Thyroxin 75-0-0 µg Oxycodon 20-0-20 mg Omeprazol 20-0-0 mg
7	Keine	Sufentanil 0,3 µg/kg/h Disoprivan 0,5 mg/kg/h Pantoprazol 40-0-40 mg i.v. Metoclopramid 10-10-10 mg i.v.
8	Arterielle Hypertonie	Olmesartan 20-0-0 mg NaCl 0,9% 500 ml i.v.
9	Dyslipoproteinämie	Omeprazol 40-0-0 mg Simvastatin 20-0-0 mg Melperon 25-0-0 mg Ibuprofen 400-0-400 mg Enoxaparin 40-0-0 mg s.c.
10	Keine	Keine
11	Arterielle Hypertonie	Metoprololtartrat 100-0-0 mg Enalapril 10-0-0 mg Metamizol Tropfen 750-750-750 mg Sterofundin 1000 ml i.v.
12	Arterielle Hypertonie Diabetes mellitus Typ 2 (insulinpflichtig) Z.n. Apoplex, Z.n. ICB Vagotomie 1980	Pantoprazol 40-0-0 mg i.v. Sterofundin 2500 ml i.v. Actrapid (Insulin normal) nach Blutzucker

3 Ergebnisse

Nr.	Internistische Vorerkrankungen (anamnestisch)	Aktuelle Medikation am Tag des Einschlusses in die Studie (anamnestisch)
13	KHK Arterielle Hypertonie COPD bei 30 PY Dyslipoproteinämie	Spirolacton 25-0-0 mg Hydrochlorothiazid 25-0-0 mg Torasemid 20-0-0 mg Acetylsalicylsäure 100-0-0 mg Bisoprolol 2,5-0-0 mg Simvastatin 20-0-0 mg Theophyllin 250-0-0 mg Allopurinol 1 x 150 mg Formoterol Hartkapseln mit Pulver 12 µg 2-2-2 Tiotropiumbromid Inhaler 18 µg 1-0-0 Hub Budesonid Inhaler 0,2 mg 1-0-1 Hub Enoxaparin 40-0-0 mg s.c. Jonosteril 1500 ml
14	Arterielle Hypertonie Refluxoesophagitis Osteoporose	Jonosteril 1000 ml i.v. Candesartan 8-0-0 mg Ibuprofen retard 800-0-0 mg Lansoprazol 15-0-0 mg Movicol (Macrogl) 1-0-1 Btl.
15	Arterielle Hypertonie Z.n. intrakranieller Blutung 06/2008 (plastische Tracheostomie, PEG, suprapubischer Blasenkatheter) Allergie (Hausstaub, Pollen)	Metoprololsuccinat 23,75-0-0 mg Esomeprazol 40-0-0 mg Enoxaparin 40-0-0 mg s.c. Natriumvalproat 450-450-450 mg
16	KHK Arterielle Hypertonie Diabetes mellitus Typ 2 (nicht insulinpflichtig) Diabetische Nephropathie mit Niereninsuffizienz Stadium 2 Allergie (Haselnuss)	Jonosteril 1000 ml i.v. Acetylsalicylsäure 100-0-0 mg Bisoprolol 2,5-0-0 mg Pentaerithritytetranitrat 80-0-80 mg
17	KHK Arterielle Hypertonie Diabetes mellitus Typ 2 (nicht insulinpflichtig) Dyslipoproteinämie	Acetylsalicylsäure 100-0-0 mg Metoprololsuccinat 47,5-0-0 mg Telmisartan 20-0-0 mg Simvastatin 0-0-20 mg Repaglinid 0,5-0,5-0,5 mg Enoxaparin 40-0-0 mg s.c.
18	KHK Paroxysmales Vorhofflimmern Arterielle Hypertonie Diabetes mellitus Typ 2 (nicht insulinpflichtig) Schilddrüsen-OP 1956	Phenprocoumon nach INR Isosorbiddinitrat retard Kps. 40-40-0 mg Digitoxin 0,07-0-0 mg Metformin 500-0-425 mg Madopar depot 0-0-1 Tbl. Ibuprofen retard 400-0-400 mg Magnetran 300-0-0 mg
19	Arterielle Hypertonie Z.n. Apoplex 1956	Acetylsalicylsäure 100-0-0 mg Bisoprolol 2,5-0-0 mg Omeprazol 20-0-0 mg Enoxaparin 40-0-0 mg s.c. Jonosteril 1000 ml/d

Tab. 16: Dauerdiagnosen und Medikation der Gruppe der Patienten mit Pneumonie.

Abkürzungen: **ACVB** Aorto-Coronarer-Venen-Bypass; **BPH** Benigne Prostathyperplasie; **COPD** Chronic obstructive pulmonary disease (Chronisch obstruktive Lungenerkrankung); **ICB** Intracraniale Blutung; **KHK** Koronare Herzkrankheit; **PEG** Perkutane endoskopische Gastrostomie; **VHF** Vorhofflimmern; **Z.n.** Zustand nach.

3 Ergebnisse

Zum Zeitpunkt 1 (Einschluss in die Studie) erhielten 10 Patienten Sauerstoff (**Tab. 17**). Die Therapiedauer, die einzelnen antibiotischen Medikationen der Patienten inklusive Dosis und Therapieschema, sowie die Sauerstoffgabe sind in **Tabelle 17** aufgeführt.

Nr.	Antibiotiks [Wirkstoff und Dosierung]	Bisherige Therapiedauer [Tage]	Sauerstoffgabe [l/min]
1	Ampicillin 3 x 2 g i.v. Sulbactam 3 x 1 g i.v.	2	0
2	Ampicillin 3 x 2 g i.v. Sulbactam 3 x 1 g i.v. Clarithromycin 2 x 500 mg p.o.	2	2
3	Ampicillin 3 x 2 g i.v. Sulbactam 3 x 1 g i.v. Clarithromycin 2 x 500 mg p.o.	2	0
4	Ampicillin 3 x 2 g i.v. Sulbactam 3 x 1 g i.v.	1	0
5	Piperacillin 3 x 4 g i.v. Tazobactam 3 x 0,5 g i.v. Levofloxacin 1 x 500 mg i.v.	2	4
6	Ampicillin 3 x 2 g i.v. Sulbactam 3 x 1 g i.v.	2	2
7	Piperacillin 3 x 4 g i.v. Tazobactam 3 x 0,5 g i.v.	2	4
8	Imipenem 4 x 250 mg i.v. Cilastatin 4 x 250 mg i.v.	2	0
9	Ceftriaxon 1 x 2 g i.v. Clarithromycin 2 x 250 mg p.o.	2	0
10	Piperacillin 3 x 4 g i.v. Tazobactam 3 x 0,5 g i.v.	2	0
11	Moxifloxacin 1 x 400 mg i.v.	2	0
12	Imipenem 4 x 250 mg i.v. Cilastatin 4 x 250 mg i.v.	2	2
13	Moxifloxacin 1 x 400 mg i.v.	2	0
14	Ampicillin 3 x 2 g i.v. Sulbactam 3 x 1 g i.v.	2	4
15	Ertapenem 1 x 1 g i.v.	0	2
16	Ampicillin 3 x 2 g i.v. Sulbactam 3 x 1 g i.v. Ciprofloxacin 2 x 400 mg i.v.	1	0
17	Ampicillin 3 x 2 g i.v. Sulbactam 3 x 1 g i.v. Clarithromycin 2 x 500 mg p.o.	2	7
18	Ampicillin 3 x 2 g i.v. Sulbactam 3 x 1 g i.v.	1	2
19	Ceftriaxon 1 x 2 g i.v. Clarithromycin 2 x 500 mg p.o.	1	5

Tab. 17: Spezifische Therapie der Patienten mit Pneumonie.

Dargestellt sind die Antibiotika, die Dauer der Antibiose und die Sauerstofftherapie zum Zeitpunkt P1.
Abkürzungen: i.v. intravenös.

3.1.3 Gruppe 3 (Hyposensibilisierung)

Es wurden 20 Patienten mit Hymenopteregift-Allergie rekrutiert. Die anthropometrischen Daten und die Raucheranamnese der Patienten mit Hymenopteregift-Allergie sind in Tabelle 18 aufgeführt (**Tab. 18**). Es wurden 18 Patienten mit Wespengift- und 2 Patienten mit Bienengift-Allergie entsprechend behandelt. Die Mehrheit der Patienten zeigte anamnestisch den Schweregrad 2 (**Tab. 4**) einer systemischen allergischen Reaktion nach entsprechendem Insektenstich (**Tab. 18**). Es ergab sich ein Geschlechterverhältnis von 9 männlichen zu 11 weiblichen Patienten mit einem medianen Alter von 48 Jahren (**Tab. 18**). Anamnestisch setzte sich die Gruppe aus 7 Rauchern, 3 Exrauchern und 10 Nierauchern zusammen (**Tab. 18**).

Nr.	Allergie	Geschl.	Alter	Größe	Gewicht	Raucherstatus	Subjektive Beschwerden	Schweregrad
	Wespe / Biene	[m / w]	[Jahre]	[cm]	[kg]			
1	Wespe	m	33	172	79	Nieraucher	G, U	1
2	Wespe	w	47	165	75	Nieraucher	SW, SG, SZ, L, Ü, H	2
3	Wespe	m	42	169	70	Bis 1999 (12 PY)	SW, B, SL	3
4	Wespe	m	51	183	107	Bis 1997 (45 PY)	G, SG, H	2
5	Wespe	w	55	156	64	Bis 1973 (1 PY)	G, SW, SG, Ü	2
6	Wespe	m	68	178	88	Nieraucher	G, U, B	3
7	Wespe	w	21	175	74	Nieraucher	G, SW, SCH, E	2
8	Biene	m	48	188	100	Nieraucher	G, U, H	2
9	Wespe	m	70	176	65	Nieraucher	G, U, SW, SCH	2
10	Wespe	m	69	170	79	6 / d (20 PY)	G, SW, SCH, Schwitzen	2
11	Biene	w	48	160	60	7 / d (3 PY)	SH, SL, Schluckbeschwerden	2
12	Wespe	w	27	168	62	20 / d (15 PY)	G, U, SG	1
13	Wespe	w	47	163	69	Nieraucher	SW, B, Ü, SF	3
14	Wespe	m	18	182	62	Nieraucher	G, U, Müdigkeit	1
15	Wespe	w	69	165	63	10 / d (12 PY)	SL	2
16	Wespe	w	32	169	110	3 / d (3 PY)	G, U, L, SH	2
17	Wespe	m	57	172	85	Nieraucher	G, U, SG	1
18	Wespe	w	58	160	78	15 / d (23 PY)	SW, L, SCH	2
19	Wespe	w	45	168	60	Nieraucher	G, U, H, SCH	2
20	Wespe	w	38	158	63	10 / d (5 PY)	G, U, SG, L	2

Tab. 18: Anthropometrie und Raucheranamnese der Patienten mit Hymenopteregift-Allergie.

Abkürzungen: **B** Bewusstlosigkeit; **E** Exanthem; **G** Generalisierter Juckreiz; **H** Herzerkrankungen; **PY** Pack years (Packungsjahre); **m** männlich; **G** Generalisierter Juckreiz; **L** Luftnot; **SCH** Schwächegefühl; **SF** Schüttelfrost; **SG** Schwellung des Gesichts; **SH** Schwellung des Halses; **SL** lokale Schwellung; **SW** Schwindel; **SZ** Schwellung Zunge; **U** Urtikaria; **Ü** Übelkeit; **w** weiblich.

3 Ergebnisse

Anamnestisch wiesen die Patienten der Gruppe mit Hymenopterengift-Allergie folgende internistische Erkrankungen auf: es fanden sich 3 Patienten mit KHK, 8 Patienten mit arterieller Hypertonie, ein Patient mit Diabetes mellitus, 2 Patienten mit Dyslipoproteinämie, keine Patienten mit COPD oder chronischer Niereninsuffizienz (**Tab. 19**). Die einzelnen Medikationen der Patienten inklusive Dosis und Therapieschema sind in **Tabelle 19** aufgeführt.

Nr.	Internistische Vorerkrankungen (anamnestisch)	Aktuelle Medikation am Tag des Einschlusses in die Studie (anamnestisch)
1	Keine	Keine
2	Keine	Keine
3	Keine	Keine
4	KHK (Myokardinfarkt '97) Arterielle Hypertonie Glaukom beidseits Psoriasis vulgaris	Acetylsalicylsäure 100-0-0 mg Trandolapril 2-0-0 mg Lovastatin 20-0-0 mg Latanoprost Augentropfen 1-0-0
5	Dyslipoproteinämie	Simvastatin 10-0-0 mg
6	Arterielle Hypertonie Dyslipoproteinämie	Irbesartan 300-0-0 mg Hydrochlorothiazid 12,5-0-0 mg Simvastatin 20-0-0 mg Amlodipin 2,5-0-0 mg (5-0-0 mg bei Entlassung)
7	Keine	Keine
8	Keine	Keine
9	KHK Arterielle Hypertonie Osteoporose	Acetylsalicylsäure 100-0-0 mg Lercanidipin 5-0-0 mg Calcimagon D3 (Cholecalciferol 400 IE + Calciumcarbonat 1,25 g) 1-0-0 Kautablette
10	Arterielle Hypertonie Dyslipoproteinämie	Pravastatin 40-0-0 mg Hydrochlorothiazid 12,5-0-0 mg Felodipin 10-0-0 mg
11	Z.n. Gynäkologischer Total-OP	Estradiol transdermal 50 µg/h Wechsel alle 3 Tage
12	Keine	Keine
13	Arterielle Hypertonie	Irbesartan 300-0-0 mg Hydrochlorothiazid 12,5-0-0 mg Felodipin 10-0-0 mg
14	Keine	Keine
15	Keine	Keine
16	Arterielle Hypertonie	Keine
17	KHK Arterielle Hypertonie Schilddrüsenunterfunktion	Acetylsalicylsäure 100-0-0 mg Olmesartan 20-0-20 mg Simvastatin 10-0-0 mg L-Thyroxin 150-0-0 µg Ivabradin 2,5-0-0 mg
18	Arterielle Hypertonie Diabetes mellitus Typ 2 (nicht insulinpflichtig) Osteoporose	Metformin 500-0-500 mg Glimepirid 2-0-0 mg Olmesartan 10-0-0 mg Calcimagon D3 (Cholecalciferol 400 IE + Calciumcarbonat 1,25 g) 1-0-0 Kautablette
19	Keine	Orale Kontrazeption
20	Keine	Orale Kontrazeption

Tab. 19: Dauerdiagnosen und Medikation der Patienten mit Hymenopterengift-Allergie.

Abkürzungen: KHK Koronare Herzkrankheit; OP Operation; Z.n. Zustand nach.

3 Ergebnisse

Bei 20 Patienten wurde zu den Zeitpunkten vor und nach stationärer Einleitung einer spezifischen Immuntherapie (ZP1 und ZP2) (**Kapitel 2.1.3.3**) das Gesamt- und das spezifische IgE bestimmt (**Tab. 20**). Entsprechend des eingesetzten Allergens bei der spezifischen Immuntherapie handelt es sich bei den Patienten 8 und 11 um spezifisches Bienengift-IgE (**Tab. 20**). Bei allen anderen Patienten ist spezifisches Wespengift-IgE angegeben. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Zeitpunkten bezüglich des Gesamt-IgE ($p=0,91$) oder des spezifischen IgE ($p=0,48$).

Nr.	IgE _{ges} ZP1	IgE _{ges} ZP2	IgE _{spez} ZP1	IgE _{spez} ZP2
	[kU/l]	[kU/l]	[kU/l]	[kU/l]
1	26,1	27,2	0,71	0,66
2	107	107	1,03	1,06
3	97,8	107	5,98	6,53
4	46,9	44,2	1,50	1,42
5	27,8	27,4	3,05	2,95
6	>5000	>5000	47,8	49,7
7	49,2	52	0,7	0,73
8	157	161	14,1	13,6
9	335	306	7,8	7,48
10	1035	1039	7,21	6,37
11	90	83,5	49	45,4
12	77,9	64,3	1,04	0,92
13	8,58	8,34	0,57	0,49
14	213	203	6,92	7,13
15	40,6	39,9	3,6	3,43
16	34,2	33,4	5,4	5,99
17	125	126	2,62	2,78
18	256	256	22	21,5
19	77,8	88,2	1,03	1,12
20	168	181	0,71	0,69
Median	93,9	97,6	3,33	3,19

Tab. 20: Gesamt- und spezifisches IgE der Patienten mit Hymenpoterengift-Allergie.

Bei Patienten 8 und 10 ist spezifisches Bienengift-IgE und bei den anderen Patienten spezifisches Wespengift-IgE dargestellt. *Abkürzungen:* **IgE_{ges}** Gesamt-Immunglobulin E; **IgE_{spez}** spezifisches Immunglobulin E; **ZP1** Zeitpunkt 1; **ZP2** Zeitpunkt 2.

3.2 Vitalparameter

Zu den entsprechenden Zeitpunkten (**Kapitel 2.1.1.3, 2.1.2.3 und 2.1.3.3**) wurden der Blutdruck manuell nach Riva-Rocci, der Puls, die Körpertemperatur und die Atemfrequenz bestimmt. Mit n.d. (nicht durchgeführt) sind aufgrund bereits entlassener Patienten nicht durchgeführte Bestimmungen gekennzeichnet (**Tab. 21-23**). Für die Patienten mit Pneumonie fanden sich zum Zeitpunkt 1 signifikant erhöhte Werte für Puls ($p<0,001$), Körpertemperatur ($p<0,001$) und Atemfrequenz ($p<0,05$) im Vergleich zur Kontrollgruppe.

3 Ergebnisse

Nr.	RR [mmHg]	Puls [1/min]	Temperatur [°C]	Atemfrequenz [1/min]
1	110/70	80	37,2	12
2	120/80	72	36,8	12
3	110/65	76	36,2	11
4	135/70	72	36,5	12
5	140/90	90	37,0	12
6	135/90	80	35,8	13
7	140/90	68	36,1	11
8	110/70	72	35,6	10
9	135/60	68	36,0	12
10	120/80	72	36,5	12
11	110/65	73	36,8	10
12	120/80	76	36,4	10
13	120/80	72	36,5	10
14	120/80	72	36,0	9
15	110/70	60	36,0	8
16	130/80	72	35,8	8
17	135/80	60	36,5	9
18	140/90	68	35,8	7
19	110/65	52	36,2	8
Median	120/80	72	36,2	10

Tab. 21: Vitalparameter der Kontrollpersonen.

Abkürzungen: **mmHg** Millimeter Quecksilbersäule; **RR** Blutdruck.

Nr.	RR ZP1 [mmHg]	RR ZP2 [mmHg]	P ZP1 [1/min]	P ZP2 [1/min]	T ZP1 [°C]	T ZP2 [°C]	AF ZP1 [1/min]	AF ZP2 [1/min]
1	130/80	130/85	104	80	38,0	37,2	10	8
2	140/70	n.d.	88	n.d.	38,9	n.d.	12	n.d.
3	120/70	120/70	98	80	37,4	36,3	8	6
4	130/60	140/60	100	92	38,2	36,0	12	6
5	120/70	120/60	100	88	39,9	35,8	14	8
6	105/65	130/60	80	72	38,0	36,2	10	6
7	116/75	n.d.	100	n.d.	38,0	n.d.	12	n.d.
8	130/60	n.d.	72	n.d.	36,8	n.d.	13	n.d.
9	130/75	n.d.	74	n.d.	37,0	n.d.	12	n.d.
10	110/60	120/70	68	72	36,8	36,0	10	12
11	150/75	140/75	72	68	38,0	36,5	11	10
12	110/60	110/70	100	92	36,4	37,0	13	10
13	110/60	120/70	100	80	38,1	37,2	14	10
14	150/90	n.d.	84	n.d.	36,4	n.d.	12	n.d.
15	140/90	n.d.	80	n.d.	36,0	n.d.	16	n.d.
16	125/60	n.d.	84	n.d.	37,2	n.d.	12	n.d.
17	130/80	n.d.	80	n.d.	36,6	n.d.	10	n.d.
18	160/80	n.d.	80	n.d.	37,2	n.d.	12	n.d.
19	120/80	n.d.	72	n.d.	37,8	n.d.	20	n.d.
Median	130/70	120/70	84	80	37,4	36,3	12	8

Tab. 22: Vitalparameter der Patienten mit Pneumonie.

Abkürzungen: **AF** Atemfrequenz; **mmHg** Millimeter Quecksilber-Säule; **P** Puls; **RR** Blutdruck; **T** Temperatur; **ZP1** Zeitpunkt 1; **ZP2** Zeitpunkt 2.

3 Ergebnisse

Nr.	RR ZP1	RR ZP2	P ZP1	P ZP2	T ZP1	T ZP2	AF ZP1	AF ZP2
	[mmHg]	[mmHg]	[1/min]	[1/min]	[°C]	[°C]	[1/min]	[1/min]
1	110/70	110/75	72	76	36,4	36,8	8	8
2	110/70	115/75	76	80	36,8	36,5	8	7
3	120/80	130/90	72	76	36,2	36,6	8	6
4	125/90	120/80	80	78	36,6	36,4	7	8
5	150/95	130/85	88	64	36,8	36,8	9	10
6	150/60	150/80	92	88	36,4	36,2	10	10
7	120/80	110/70	64	84	37,0	37,0	10	12
8	105/70	115/80	68	84	35,8	37,0	10	11
9	135/80	140/80	76	68	36,2	35,6	12	12
10	140/70	150/95	72	60	36,0	35,6	12	12
11	110/70	115/75	56	64	36,0	36,8	13	12
12	130/80	120/70	72	68	36,5	36,8	12	11
13	130/70	130/75	72	72	36,3	36,7	12	11
14	120/80	125/80	66	68	36,5	36,3	12	10
15	110/70	120/75	76	80	36,6	36,2	8	8
16	180/90	160/85	80	76	36,5	36,8	10	10
17	140/85	135/85	100	76	36,7	36,3	8	8
18	160/90	150/80	84	100	36,4	37,0	9	10
19	125/90	130/90	80	76	36,5	36,3	8	10
20	120/70	110/70	76	72	36,2	36,4	10	10
Median	125/80	128/80	76	76	36,5	36,6	10	10

Tab. 23: Vitalparameter der Patienten mit Hymenopteregift-Allergie.

Abkürzungen: AF Atemfrequenz; mmHg Millimeter Quecksilber-Säule; P Puls; RR Blutdruck; T Temperatur; ZP1 Zeitpunkt 1; ZP2 Zeitpunkt 2.

3.3 Laborparameter

Bei den rekrutierten Probanden wurde ein Differenzialblutbild, CRP und PCT zu den entsprechenden Zeitpunkten (**Kapitel 2.1.1.3, 2.1.2.3 und 2.1.3.3**) bestimmt (**Tab. 24, Abb. 11**). Die Gesamt-Leukozytenzahl, das CRP und das PCT waren bei den Patienten mit Pneumonie an beiden Zeitpunkten im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht (**Tab. 24, Abb. 11**). Bei den Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie kam es nach 3 Tagen Hyposensibilisierung (ZP2) zu einem signifikanten Anstieg der Gesamt-Leukozyten und des CRP im Vergleich zum ZP1, jedoch zu keiner signifikanten Veränderung des PCT (**Tab. 24, Abb. 11**).

Parameter	K (n=19)	P1 (n=19)	P2 (n=9)	H1 (n=20)	H2 (n=20)	p-Wert K-P1	p-Wert K-P2	p-Wert H1-H2
Leuk. [10 ⁹ /l]	5,7 (4,3-7,5)	10,6 (5,3-28)	11 (6,1-15,9)	5,6 (3,7-9,3)	7,8 (4,1-11,5)	<0,001	<0,05	<0,001
CRP [mg/dl]	1,01 (<1-5,6)	242 (99-404)	45,7 (21,8-248)	1,94 (<1-9)	3,9 (<1-19,6)	<0,001	<0,001	<0,01
PCT [ng/ml]	0,08 (0,04-0,16)	0,57 (0,07-20)	0,24 (0,04-0,55)	0,07 (0,04-0,21)	0,05 (0,03-0,44)	<0,001	<0,05	0,433

Tab. 24: Laborparameter.

Dargestellt sind die Medianwerte (Minimum-Maximum) der Leukozyten-, CRP- und PCT-Konzentration im peripheren Blut. *Abkürzungen:* **CRP** C-reaktives Protein; **H1** Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie zum Zeitpunkt 1; **H2** Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie zum Zeitpunkt 2; **K** Kontrollgruppe; **Leuk.** Leukozyten **P1** Patienten mit Pneumonie zum Zeitpunkt 1; **P2** Patienten mit Pneumonie zum Zeitpunkt 2; **PCT** Procalcitonin.

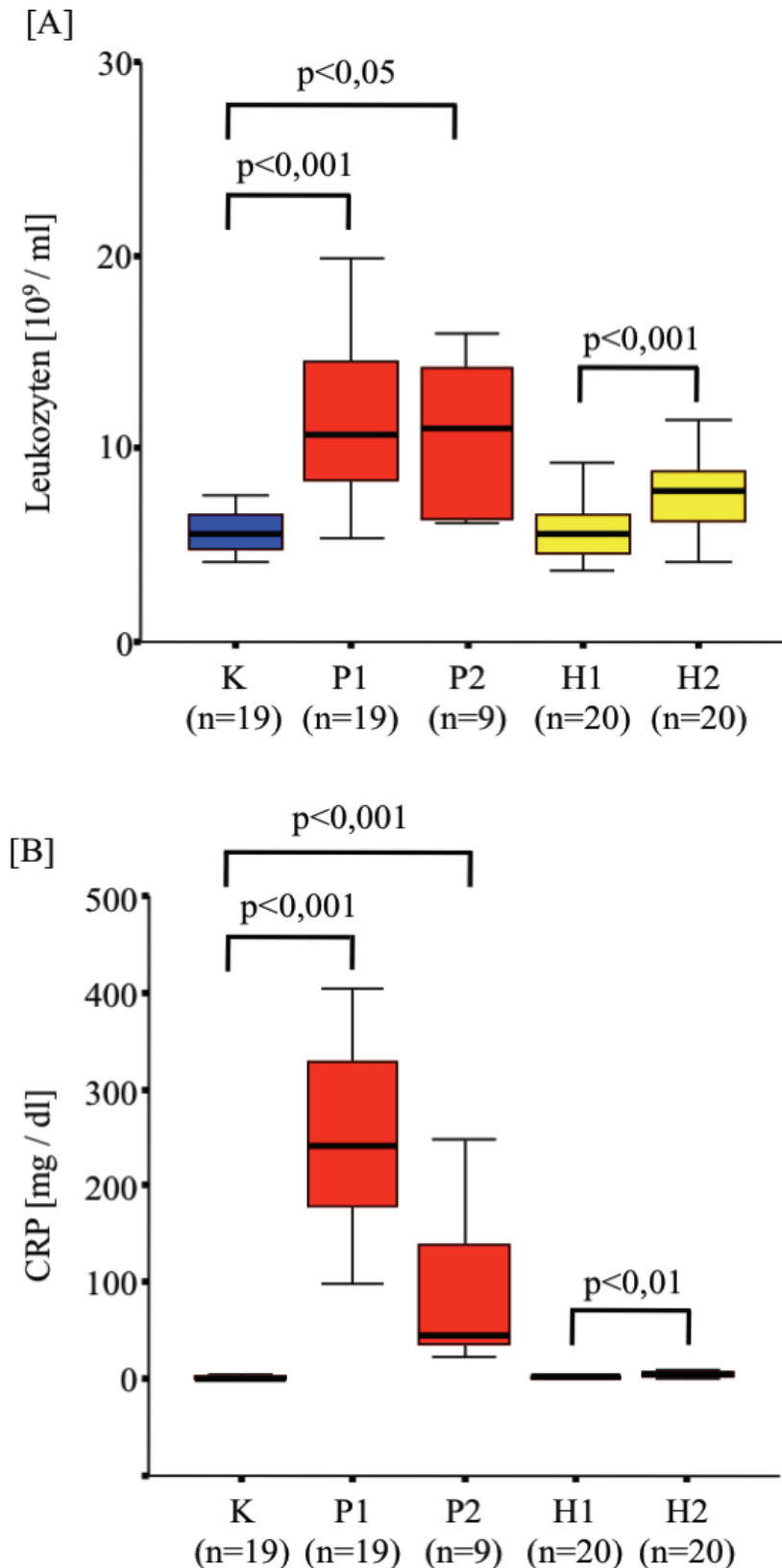


Abb. 11: Entzündungsparameter im Blut.

Dargestellt sind als Boxplot die Gesamt-Leukozyten-Zahlen (A) und das CRP (B) der Probanden. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) sind gekennzeichnet. Kontrollprobanden sind blau gekennzeichnet, Patienten mit Pneumonie rot und Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie gelb. *Abkürzungen:* CRP C-reaktives Protein; H1 Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie zum Zeitpunkt 1; H2 Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie zum Zeitpunkt 2; K Kontrollgruppe; P1 Patienten mit Pneumonie zum Zeitpunkt 1; P2 Patienten mit Pneumonie zum Zeitpunkt 2.

3.4 Anzahl der DC im Blut

Bei allen Probanden wurde die absolute Anzahl der pDC und der mDC im Blut und deren Anteil an allen Leukozyten im Blut zu den entsprechenden Zeitpunkten (**Kapitel 2.1.1.3, 2.1.2.3 und 2.1.3.3**) bestimmt (**Tab. 25**). Sowohl die Prozentzahlen als auch die Gesamtzellzahlen von pDC und mDC im peripheren Blut waren bei den Patienten mit Pneumonie an beiden Zeitpunkten im Vergleich zur Kontrollgruppe hochsignifikant erniedrigt (**Tab. 25, Abb. 12**). Zum Zeitpunkt 1 waren bei den Patienten mit Pneumonie die medianen Gesamt-mDC-Zahlen stärker erniedrigt (25% der mDC der Kontrollgruppe) als die Gesamt-pDC-Zahlen (51% der pDC der Kontrollgruppe) (**Tab. 25, Abb. 12**).

Bei den Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie kam es nach 3 Tagen Hyposensibilisierung (Zeitpunkt 2) zu einem signifikanten Abfall der relativen, als auch der Gesamt-pDC-Zahlen im Vergleich zum Zeitpunkt 1 (**Tab. 25, Abb. 12**). Bemerkenswerterweise kam es bei den Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie zum Zeitpunkt 2 nur zu einem signifikanten Abfall des prozentualen Anteils der mDC an den Gesamt-Leukozyten, jedoch zu keinem Abfall der Gesamt-mDC im Vergleich zum Zeitpunkt 1 (**Tab. 25, Abb. 12**). Der Verlauf der Gesamt-mDC-Zahlen und Gesamt-pDC-Zahlen im Blut vor und nach Einleitung der Hyposensibilisierung ist für jeden einzelnen Patienten in der **Abbildung 13** separat dargestellt.

DC	K (n=19)	P1 (n=19)	P2 (n=9)	H1 (n=20)	H2 (n=20)	p-Wert K-P1	p-Wert K-P2	p-Wert H1-H2
pDC [% Leuk.]	0,11 (0,05-0,23)	0,03 (0-0,08)	0,02 (0-0,18)	0,17 (0,07-0,36)	0,08 (0,02-0,2)	<0,001	<0,001	<0,001
pDC (10 ³ /ml)	6,3 (3,1-11,4)	3,2 (1,1-7,7)	2,2 (0,1-11,2)	8,9 (3,2-20,1)	5,7 (2,3-15,1)	<0,001	<0,01	<0,001
mDC [% Leuk.]	0,22 (0,1-0,31)	0,03 (0-0,17)	0,04 (0,01-0,18)	0,22 (0,11-0,36)	0,16 (0,08-0,31)	<0,001	<0,001	0,001
mDC (10 ³ /ml)	12,4 (6,9-21,2)	3,1 (0-13,5)	4,5 (1,6-11,2)	12,95 (4,9-21,5)	12,9 (4,8-24,7)	<0,001	<0,001	0,90

Tab. 25: Anzahl und Prozentsatz von pDC und mDC im peripheren Blut.

Dargestellt sind die Medianwerte (Minimum-Maximum) der DC-Konzentrationen und DC-Prozentzahlen im peripheren Blut. *Abkürzungen:* **H1** Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie zum Zeitpunkt 1; **H2** Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie zum Zeitpunkt 2; **K** Kontrollgruppe; **Leuk.** Leukozyten im Blut; **P1** Patienten mit Pneumonie zum Zeitpunkt 1; **P2** Patienten mit Pneumonie zum Zeitpunkt 2.

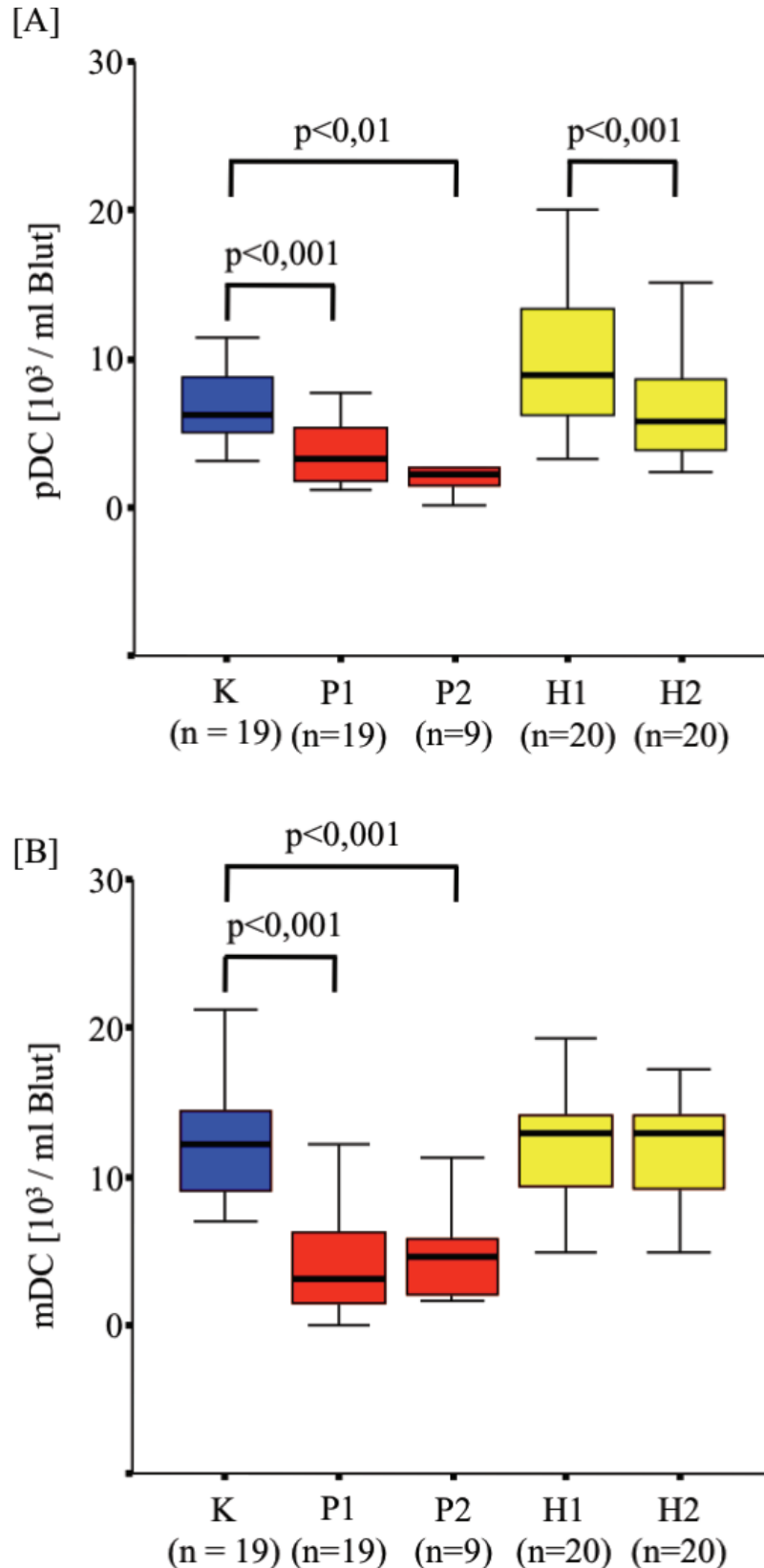


Abb. 12: Absolute Anzahl der DC im Blut.

Dargestellt sind als Boxplot die Gesamt-pDC-Zahlen (A) und die Gesamt-mDC-Zahlen (B) der Probanden. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) sind gekennzeichnet. Kontrollprobanden sind blau gekennzeichnet, Patienten mit Pneumonie rot und Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie gelb. *Abkürzungen:* **H1** Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie zum Zeitpunkt 1; **H2** Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie zum Zeitpunkt 2; **K** Kontrollgruppe; **P1** Patienten mit Pneumonie zum Zeitpunkt 1; **P2** Patienten mit Pneumonie zum Zeitpunkt 2.

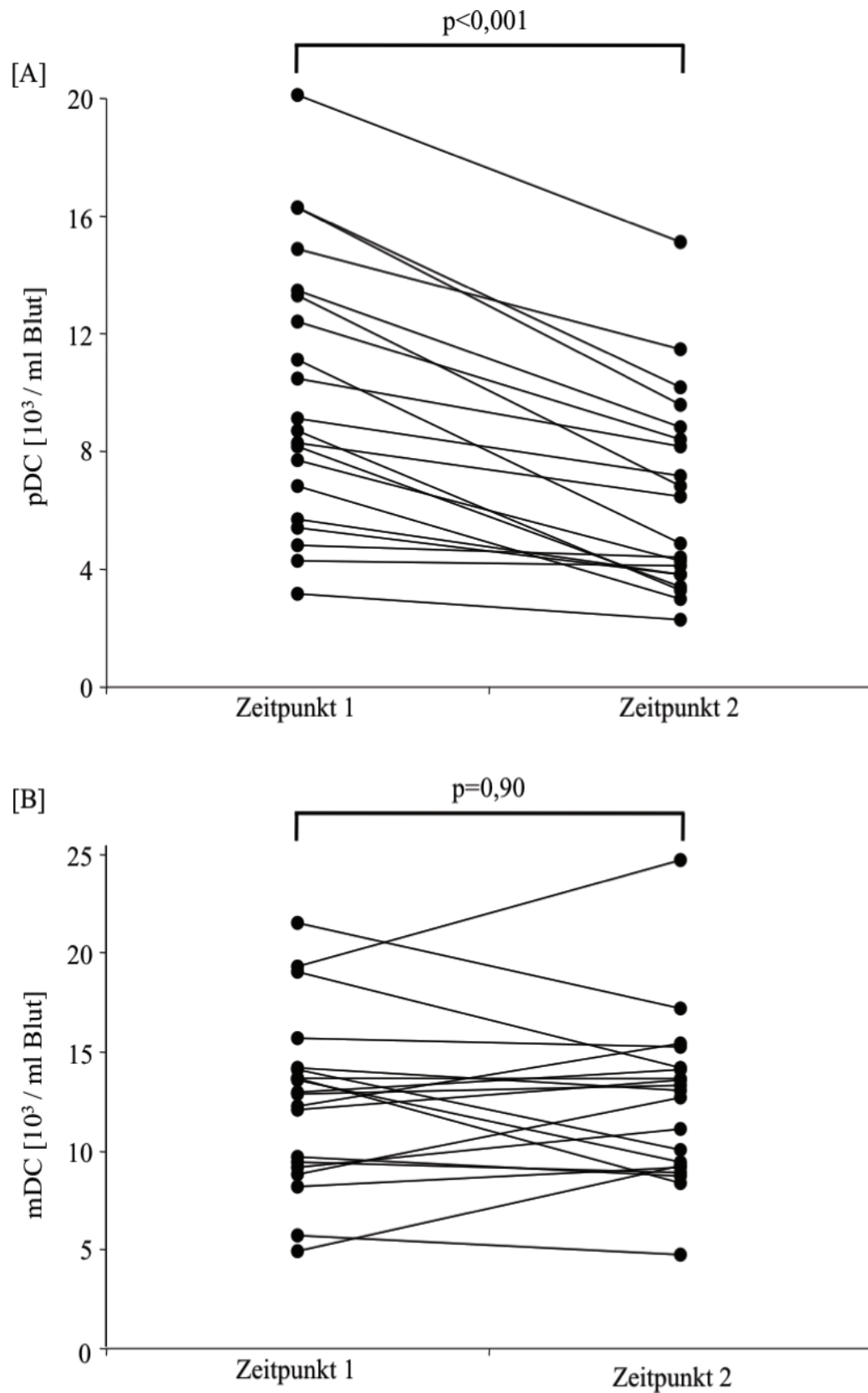


Abb. 13: Absolute Anzahl der DC im Blut der Patienten mit Hymenopterengift-Allergie.

Dargestellt sind die Gesamt-pDC-Zahlen (A) und die Gesamt-mDC-Zahlen (B) der Patienten mit Hymenopterengift-Allergie. Jeder Punkt entspricht einem Probanden an einem Zeitpunkt, die zwei Zeitpunkte sind durch Linien miteinander verbunden.

3.5 Korrelation der DC-Zahlen mit Entzündungsparametern

Leukozyten, CRP und Procalcitonin wurden jeweils mit der absoluten Anzahl der pDC und mDC im peripheren Blut und mit dem prozentualen Anteil der pDC und mDC an allen Leukozyten im peripheren Blut korreliert. Es zeigte sich eine signifikant negative Korrelationen zwischen CRP und dem prozentualen Anteil und der absoluten Anzahl der mDC. Die Korrelation von CRP mit prozentualen Anteil der mDC ist in **Abbildung 14** dargestellt. Es besteht hingegen keine signifikante Korrelation zwischen der absoluten Anzahl oder des prozentualen Anteils der pDC im peripheren Blut mit CRP (**Abb. 14**). Eine Korrelation zwischen Leukozyten oder Procalcitonin mit der absoluten Anzahl von pDC oder mDC bestand nicht (Daten nicht gezeigt).

3.6 Oberflächen- und intrazelluläre Marker

Bezüglich der Oberflächenmarker und intrazellulären Marker fand sich bei den Patienten mit Pneumonie zum Zeitpunkt 1 eine signifikant erniedrigte Expression von CD40 und eine signifikant erhöhte Expression von TLR9 in pDC im Vergleich zur Kontrollgruppe (**Tab. 26**).

Bezüglich der Oberflächenmarker und intrazellulären Marker fand sich bei den Patienten mit Pneumonie zum Zeitpunkt 1 eine signifikant erhöhte Expression von CD32 und CD64 und eine signifikant erniedrigte Expression von CD86 auf mDC im Vergleich zur Kontrollgruppe (**Tab. 26**).

Bei den Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie fand sich sowohl bei pDC als auch bei den mDC zum Zeitpunkt 2 eine signifikant erniedrigte Expression von CD40 und eine signifikant erhöhte Expression von BDCA-3 und CCR5 auf pDC im Vergleich zum Zeitpunkt 1 (**Tab. 26**).

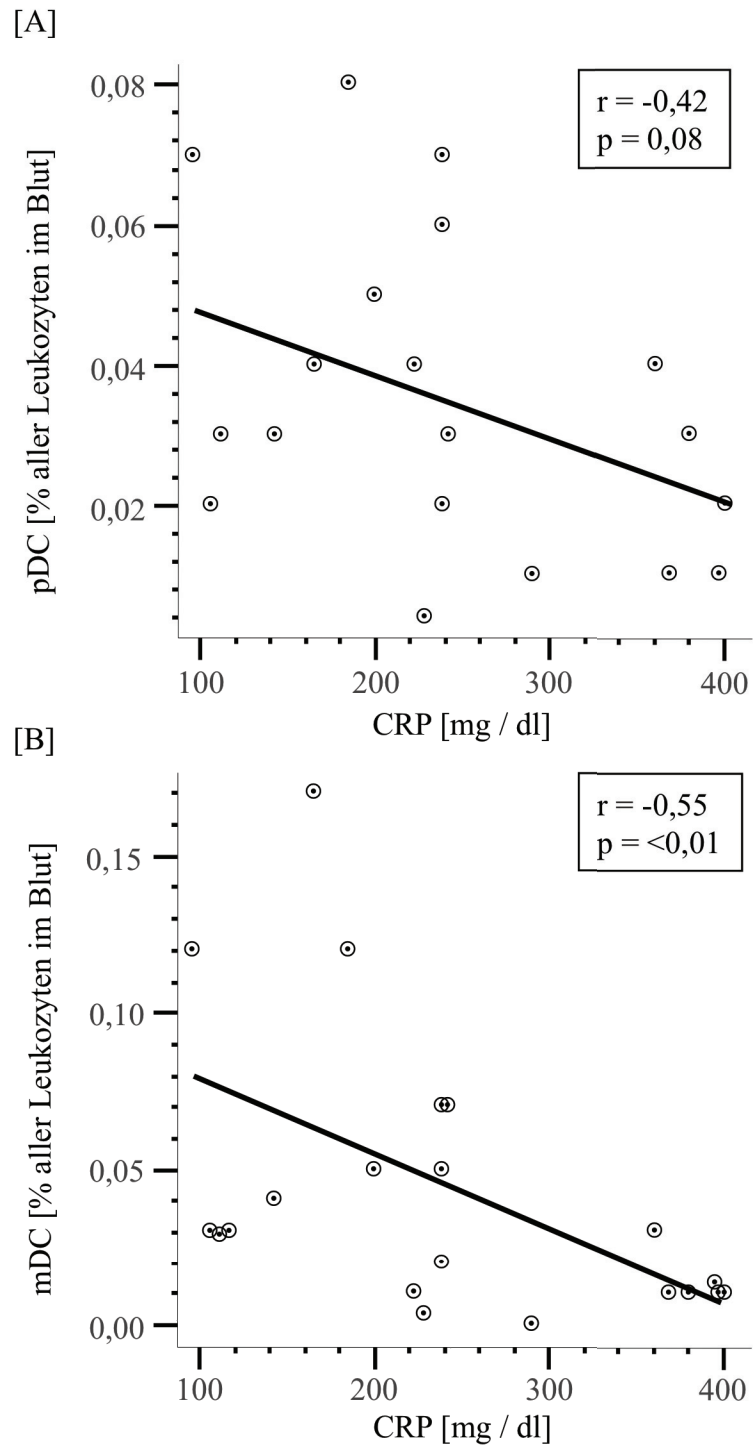


Abb. 14: Korrelation des CRP mit dem Prozentsatz der DC im Blut.

Dargestellt sind die Korrelationen von CRP mit dem prozentualen Anteil der pDC (A) und mDC (B) an der Anzahl aller Leukozyten im Blut der Patienten mit Pneumonie zum Zeitpunkt 1. *Abkürzungen:* CRP C-reaktives Protein.

3 Ergebnisse

Marker	K (n=19)	P1 (n=9)	H1 (n=20)	H2 (n=20)	p-Wert K-P1	p-Wert H1-H2
pDC-Marker [% aller pDC im Blut]						
CD32	2,4 (0-75)	3,7 (0,5-45,6)	0,7 (0-54,4)	0,6 (0-48,2)	0,243	0,281
CD40	56,3 (21,2-91)	32,8 (14,2-62,8)	54,8 (7,2-90)	43,6 (15,1-79)	<0,01*	<0,01*
CD64	3,4 (0-67,1)	6,9 (1,8-14)	5,9 (0-72,5)	3 (0-32,1)	0,129	0,263
CD80	0 (0-0,8)	0 (0-1,2)	0 (0-2,4)	0 (0-0,7)	0,923	0,680
CD83	0,6 (0-5,6)	0,6 (0-2,5)	0,2 (0-6)	0,85 (0-3,8)	1,000	0,231
CD86	5 (0-14,8)	4,1 (0,7-16,7)	2,1 (0-33,5)	3,9 (0-15)	0,699	0,052
BDCA-3	71,2 (45,3-97,7)	78,5 (27,6-97,9)	67 (31,8-97,2)	80,1 (48,5-96,6)	0,735	<0,001*
CCR5	94,6 (40,7-100)	85,3 (57,6-100)	94,4 (0-100)	98,8 (0-100)	0,198	<0,05*
CCR7	2,4 (0-16,4)	9,2 (0,7-66,8)	3,8 (0,3-47,4)	3,5 (0-46,7)	0,066	0,654
Granzym B (int.)	69,4 (28,9-94,3)	88,1 (49,1-97,9)	64,8 (18-89,6)	76,6 (13,2-93,3)	0,126	0,093
TLR9 (int.)	5,2 (0-58,8)	15,6 (0-38,5)	4,5 (0-25,4)	4,2 (0-25,9)	<0,05*	0,609
mDC-Marker [% aller mDC im Blut]						
BDCA-1	76,5 (51,6-96,9)	78,5 (36,5-86,1)	70 (41,9-93,6)	76 (49,8-95)	0,223	0,279
BDCA-3	41,2 (14-60,9)	51,7 (26,3-96,8)	32,1 (19,9-85,3)	42,1 (21-71,6)	0,282	<0,01*
CD32	27,3 (5,6-64,2)	48,4 (20,1-80,4)	29,9 (4,1-79,5)	31,8 (2-88,4)	<0,05*	0,079
CD40	37 (17,3-78,8)	30,3 (15,4-53,9)	31,1 (12,4-86,3)	30 (6,1-62,8)	0,410	<0,05*
CD64	67,9 (27,9-88,7)	80,2 (58,4-93)	50,3 (19,8-85,6)	57,8 (23,6-83,3)	<0,05*	0,057
CD80	0,3 (0-1,4)	0,3 (0-0,8)	0,2 (0-3)	0,4 (0-4,1)	0,815	0,236
CD83	0,35 (0-1,7)	0 (0-1,2)	0,5 (0-2,9)	0,4 (0-2,3)	0,498	0,248
CD86	29,7 (4,3-59,5)	8,6 (2,2-52,3)	10,8 (1,3-65,4)	22,3 (1,2-78,9)	<0,05*	0,709
CCR5	50,3 (0,3-87,1)	32,6 (6,3-86,9)	47,3 (0-90,3)	63,5 (0-94,5)	0,955	<0,05*
CCR7	0,62 (0-1,3)	0 (0-1,2)	0,28 (0-3,2)	0,5 (0-20,6)	0,237	0,813
TLR1	0,2 (0-7,2)	1,1 (0-2,6)	0,6 (0,2-4,6)	1,8 (0-12,8)	0,223	0,145
TLR2	20,1 (6,6-50,7)	21,6 (10,7-51,9)	31,1 (5,7-79)	25,6 (10,4-66,6)	0,562	0,218
TLR4	1,7 (0-45,5)	1,7 (0-7,8)	3,1 (0,4-49,5)	4,4 (0-30,3)	0,735	0,794

Tab. 26: Oberflächenmarker und intrazelluläre Marker der pDC und mDC.

Dargestellt sind die Medianwerte (Minimum-Maximum) der Expression der untersuchten Marker, als Prozentsatz der Marker-positiven DC an allen DC. *Abkürzungen:* **H1** Patienten zur Hyposensibilisierung zum Zeitpunkt 1; **H2** Patienten zur Hyposensibilisierung zum Zeitpunkt 2; **int.** Intrazellulär; **K** Kontrollgruppe; **P1** Patienten mit Pneumonie zum Zeitpunkt 1; **P2** Patienten mit Pneumonie zum Zeitpunkt 2.

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals die Regulation von DC im peripheren Blut bei Patienten mit akuter Pneumonie und Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie während der Hyposensibilisierungs-Therapie untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass bei den Patienten mit Pneumonie sowohl die pDC als auch die mDC im Vergleich zur Kontrollgruppe über mehrere Tage hochsignifikant erniedrigt waren. Der Abfall der mDC war am stärksten ausgeprägt, dazu passte auch die signifikante negative Korrelation zwischen mDC-Konzentrationen und CRP-Konzentrationen im peripheren Blut der Patienten mit Pneumonie. Neben diesen numerischen Veränderungen wurden in der vorliegenden Arbeit spezifische Veränderungen der Oberflächenmarker auf mDC und pDC während einer Pneumonie gezeigt. Bei den Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie konnte 3 Tage nach Beginn der Hyposensibilisierung ein signifikanter pDC-Abfall, jedoch kein mDC-Abfall verzeichnet werden. Auch bei diesen Patienten kam es zu spezifischen Veränderungen der Oberflächen- und intrazellulären Marker. Zusammenfassend liefert die vorliegende Arbeit grundlegende neue Erkenntnisse zur Regulation und Charakteristik von DC im peripheren Blut, und somit zur Pathophysiologie des adaptiven Immunsystems bei der Pneumonie und bei der Therapie der Hymenoptereingift-Allergie.

4.1 Methodenkritik

In der Studie wurden zwei wesentliche Vergleiche gezogen. Zum einen wurde die Gruppe der Kontrollpersonen (Gruppe 1) mit der Gruppe der Patienten mit Pneumonie (Gruppe 2) verglichen, zum anderen wurden die Zeitpunkte 1 und 2 innerhalb der Gruppe der Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie (Gruppe 3) miteinander verglichen.

Vergleichbarkeit der Gruppen

Die Größen der Kontrollgruppe und der Gruppe der Patienten mit Pneumonie sind mit je 19 Probanden identisch. Diese beiden Gruppen unterschieden sich nicht signifikant bezüglich Alter, Größe und Gewicht. Das Geschlechterverhältnis innerhalb der Kontrollgruppe (9 weibliche zu 10 männlichen Probanden) wich nur wenig vom Geschlechterverhältnis innerhalb der Gruppe der Patienten mit Pneumonie (7 weibliche zu 12 männlichen Patienten) ab. Bezüglich der Raucheranamnese bestand eine sehr gute Vergleichbarkeit, der Anteil an Rauchern, Ex-Rauchern und Nierauchern war nahezu identisch. Bei den Dauerdiagnosen und der Medikation bestanden jedoch Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der Gruppe

der Patienten mit Pneumonie. Sowohl bezüglich der Dauermedikation, als auch der antibiotischen Therapie bestanden keine Übereinstimmung. Eine antibiotische Therapie der Kontrollprobanden hätte theoretisch durchgeführt werden können. Die Rekrutierung einer Kontrollgruppe mit identischer Dauermedikation erschien jedoch logistisch in einem vertretbaren Zeitrahmen nicht durchführbar. Somit kann ein Einfluss der Dauermedikation und der Antibiotika auf die Ergebnisse der Studie (Zellzahlen und Zellcharakteristika) nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden.

Unterschiede zwischen den Zeitpunkten 1 (Tag der Aufnahme) und 2 (Tag 5) wurden nicht statistisch ausgewertet, da die Anzahl der Patienten zum Zeitpunkt 2 deutlich niedriger (<50% der Anfangspopulation) war als zum Zeitpunkt 1, und somit eine zu geringe Fallzahl für eine belastbare Auswertung vorlag. Ursache für die Abnahme der Patientenzahl war, dass viele Patienten zum Zeitpunkt 2 aufgrund des schnellen Ansprechens der Therapie nach Hause entlassen werden konnten und somit zum Zeitpunkt 2 nicht im Krankenhaus zur Verfügung standen.

Gruppenvergleich vor und nach Hyposensibilisierung

Die Gruppe der Patienten mit Hymenopterengift-Allergie wurde ausschließlich intraindividuell an den Zeitpunkten 1 und 2 verglichen, damit besteht folglich bezüglich der anthropometrischen und sonstigen erfassten Daten vollste Vergleichbarkeit, darüber hinaus beendete kein Proband zwischen dem ersten und zweiten Zeitpunkt die Studie. Daher konnten die Veränderungen der DC-Zahlen und Charakteristika der DC nach Einleitung der subcutanen spezifischen Immuntherapie sehr gut untersucht und verglichen werden.

Die Gruppe der Patienten mit Hymenopterengift-Allergie war schon allein aufgrund des medianen Alters und der sich daraus ergebenden Vorerkrankungen und Dauermedikationen nicht mit der Kontrollgruppe zu vergleichen. Eine weitere altersentsprechende Kontrollgruppe ohne Allergie wäre für die Patienten mit Hymenopterengift-Allergie wünschenswert gewesen, war jedoch nicht in der Planung der Studie berücksichtigt worden. Es ist vorgesehen, für die geplante Publikation der Hymenopteren-Daten eine Kontrollgruppe zu rekrutieren. Eine Kontrolle gegen Placebo ist allerdings unmöglich. Allein schon die Verblindung ist nicht durchführbar, da gesunden Probanden glaubhaft vermittelt werden müsste, dass sie unter einer Hymenopterengift-Allergie leiden.

Zeitpunkte

Mit dem gewählten Intervall zwischen den Zeitpunkten 1 und 2 bei der Gruppe der Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie ist der Kurzzeitverlauf für die gewählten Bestimmungen gut darzustellen. Darüber hinaus sind aber weder der anhaltende Effekt auf die DC-Zahlen im peripheren Blut, die Veränderung der Oberflächen- und intrazellulären Marker, noch der Effekt der Hyposensibilisierung auf das spezifische und gesamte IgE zu erfassen gewesen. Die Langzeiteffekte waren keine Fragestellung dieser Studie, die sich mit akuten Effekten auf DC im Blut befasste. Vielmehr ist eine Folgestudie mit einer Rekrutierung der Probanden dieser Studie zu einem späteren dritten Zeitpunkt nach 12 Monaten bereits in Planung.

Durchflusszytometrie (FACS)

Bei der FACS-Methode handelt es sich um eine für die Bestimmung der Zellzahl und der Marker etablierte und hochspezifische Methode. Durch die Gating-Strategie können pDC und mDC mit hoher Sicherheit identifiziert werden ^[3, 52, 81]. Einerseits können andere Zellen, wenn sie die Marker CD11c (mDC) oder CD123 (pDC) tragen, durch den Ausschluss der Lineage-positiven Zellen ausgeschlossen werden. Andererseits schließt die Methode tote Zellen automatisch in der Analyse aus, da tote Zellen durch ihre hohe Autofluoreszenz nicht im zu untersuchenden Gate zu finden sind ^[3, 52, 81]. Der Einsatz weiterer Marker bei dieser Studie wäre denkbar gewesen. Bei der Planung der Studie war aber keine ausreichend große DC-Anzahl zu erwarten, um ein sehr viel größeres Panel an Oberflächenmarkern zu untersuchen. Dieses wurde im nachhinein insbesondere in der Gruppe der Patienten mit Pneumonie bestätigt, die sehr geringe DC-Zahlen im Blut aufwiesen.

4.2 Pneumonie

4.2.1 Abfall der DC-Zahlen im Blut

Es wurden bei allen Probanden die absolute Anzahl der pDC und mDC im Blut und deren Anteil an allen Leukozyten im Blut zu den entsprechenden Zeitpunkten bestimmt. Sowohl ihr prozentueller Anteil an den Gesamtleukozyten, als auch die Gesamtzellzahlen an pDC und mDC im peripheren Blut waren bei den Patienten mit Pneumonie an beiden Zeitpunkten im Vergleich zur Kontrollgruppe hochsignifikant erniedrigt. Zum Zeitpunkt 1 waren bei Patienten mit Pneumonie die medianen Gesamt-mDC-Zahlen stärker erniedrigt (25% der Kontrollgruppe) als die Gesamt-pDC-Zahlen (51% der Kontrollgruppe). Die oben beschriebenen erniedrigten DC im peripheren Blut sind wahrscheinlich mit einem Abfall durch eine Abwanderung in die Lunge zurückzuführen. Dies wurde jedoch nicht spezifisch in

dieser Studie untersucht, insbesondere wurde keine BAL oder Biopsie der Lunge durchgeführt.

Die Dynamik der DC im peripheren menschlichen Blut bei Pneumonie ist bisher nicht in der Literatur beschrieben. Ein Abfall der DC in entsprechender Art ist allerdings bei anderen Erkrankungen beschrieben. Es gibt zwei Studien, die parallel eine Untersuchung von Blut-DC und BAL-DC nach Antigen-Exposition durchführten [3, 82]. In der einen Studie wurden Patienten mit allergischem Asthma mit einem spezifischen Allergen segmental provoziert [3], in der anderen Studie wurden chronische Raucher einer hohen Dosis Zigarettenrauch exponiert. In beiden Studien wurde ein Abfall der Blut-mDC und ein paralleler Anstieg der BAL-mDC gezeigt [82]. Daher kann also in der Tat ein Abfall von mDC im Blut eine Rekrutierung dieser Zellen in der Lunge anzeigen [3, 82].

In der vorliegenden Studie fand sich ein Abfall sowohl von mDC als auch pDC im peripheren Blut, dies wäre also mit einer Rekrutierung beider DC-Subpopulationen in die Lunge erklärbar. Im Gegensatz dazu fand sich in einer Studie über DC in der BAL von Patienten mit Pneumonie nur ein Anstieg der pDC, aber nicht der mDC in der BAL [81]. Dafür gibt es zwei mögliche Erklärungen. Die erste Erklärung bezieht sich auf die unterschiedlichen Zeitpunkte der Untersuchung in der aktuellen Studie und in der bereits publizierten Studie. In der Vorstudie lag der Beginn der Symptome bei den Patienten bis zu 14 Tage, in der aktuellen Studie lag der Symptombeginn maximal 3 Tage vor Blutentnahme zurück. Aufgrund dieser Umstände könnte der Befund der Vorstudie einen späteren Zeitpunkt im Rahmen des Krankheitsverlaufs widerspiegeln. Es wäre denkbar, dass es bei der Pneumonie zu einem frühen Influx der mDC und zu einem späten Influx der pDC kommt [83]. Diese Hypothese wird dadurch unterstützt, dass der Medianwert der mDC nach 5 Tagen bereits anstieg, derweil der Medianwert der pDC nach 5 Tagen noch weiter abfiel. Die zweite Hypothese bezieht sich auf die unterschiedlichen Kompartimente der Lunge, die wahrscheinlich eine unterschiedliche Regulation der DC aufweisen [54]. Entsprechend dieser Hypothese könnte es zu einer präferentiellen Rekrutierung der pDC in das Atemwegslumen und dem gegenüber zu einer präferentiellen Rekrutierung von mDC in das Lungenparenchym kommen.

4.2.2 Korrelation mit systemischen inflammatorischen Parametern

Leukozyten, CRP und Procalcitonin wurden jeweils mit dem prozentualen Anteil der pDC und der mDC korreliert. Es fand sich eine signifikant negative Korrelation zwischen CRP und

mDC-Zahlen im peripheren Blut, CRP und pDC korrelierten dagegen nicht signifikant. Die Ursache für die alleinige Korrelation mit mDC könnte im proinflammatorischen Charakter der mDC, im Gegensatz zum angenommenen antiinflammatorischen Charakter der pDC begründet sein ^[84]. Die Hypothese, dass pDC eine antiinflammatorische Rolle spielen, ist bislang aber nur in Tiermodellen untermauert worden. Die Rolle der pDC im Menschen ist bislang weitgehend unklar. So ist zum Beispiel der gleichzeitige Anstieg von mDC und pDC in der BAL bei Patienten mit allergischem Asthma nach Allergenexposition bislang pathophysiologisch nicht geklärt, eine antiinflammatorische Rolle der pDC in diesem Zusammenhang ist rein spekulativ ^[3].

Darüber hinaus wird durch die starke Korrelation zwischen CRP und den mDC-Zahlen die Hypothese bekräftigt, dass der Abfall der DC nicht nur ein (z.B. medikamentös bedingtes) Artefakt ist, sondern spezifisch im Infekt begründet liegt. Ob ebenfalls eine Korrelation mit DC in der Lunge oder in der BAL mit der CRP-Konzentration im Blut besteht, wäre sehr interessant, wurde aber in dieser Studie nicht untersucht.

4.2.3 Marker

Das Expressionsmuster der intrazellulären und Oberflächen-Marker der Patienten mit Pneumonie war im Vergleich zu Kontrollgruppe in vielen Punkten unverändert. Allerdings fanden sich bei den Patienten mit Pneumonie eine signifikant erniedrigte Expression von CD40 und eine signifikant erhöhte Expression von TLR9 in pDC im Vergleich zur Kontrollgruppe. Des Weiteren fanden sich bei den Patienten mit Pneumonie signifikant erhöhte Expressionen des Typ I-Fc γ -Rezeptors (CD64) und des Typ II-Fc γ -Rezeptors (CD32) und eine signifikant erniedrigte Expression von CD86 auf mDC im Vergleich zur Kontrollgruppe. In den nachfolgenden Abschnitten sollen die einzelnen Marker diskutiert werden.

4.2.3.1 Die co-stimulatorischen Moleküle CD40 und CD86

CD40 gehört zur Familie der TNF-Rezeptoren und ist ein co-stimulatorisches Protein welches vor allem von Antigen-Präsentierenden-Zellen (wie z.B. DC), aber auch auf nicht hämatopoetischen Zellen exprimiert wird ^[85-87]. Der entsprechende Ligand für CD40 ist CD40L (CD154). Es ist als Teil der immunologischen Synapse wesentlich an der Auslösung einer spezifischen Immunantwort als notwendiges Aktivierungssignal bei der antigenspezifischen Aktivierung von B- und T-Lymphozyten beteiligt ^[88]. Auf DC ist CD40

wahrscheinlich für eine gesteigerte Zytokinproduktion verantwortlich, die zu einer T-Zell-Proliferation führt [87, 89]. CD86 ist ein co-stimulatorisches Protein auf Antigen-präsentierenden Zellen und wird während der Reifung von DC exprimiert. CD86 ist Ligand für das auf T-Zellen exprimierte CD28 und wirkt im Zusammenspiel mit CD28 co-stimulatorisch bei der T-Zell-Stimulation [90]. Man geht davon aus, dass die zunehmende Expression von CD40 und CD86 eine Reifung der DC widerspiegelt [91]. Somit könnte die verminderte Expression von CD40 und CD86 Hinweis auf einen unreifen Zustand der DC sein. Weitere Reifungsmarker, wie zum Beispiel CD80 oder CD83, wurden von den DC in beiden Gruppen nicht signifikant exprimiert, und konnten daher nicht zur weiteren Beurteilung des Reifungszustandes der DC herangezogen werden. Die geringere Expression von CD40 und CD86 auf den DC bei Patienten mit Pneumonie im peripheren Blut könnte zum einen daran liegen, dass die reiferen DC in die Lunge ausgewandert sind, zum anderen, dass es zu einem Einstrom von unreiferen DC in das periphere Blut kommt.

4.2.3.2 TLR9

Der TLR9 ist sowohl auf der Zelloberfläche von pDC [92-97] als auch intrazellulär in pDC vorhanden [98]. Im Gegensatz dazu findet sich keine TLR9-Expression in humanen mDC. Toll-like Rezeptoren erkennen PAMPS („pathogen-associated molecular patterns“, pathogenassoziierte molekulare Strukturen), wie zum Beispiel lösliche bakterielle Faktoren, LPS, Flagellin und Lipoproteine. TLR9 kann hauptsächlich bakterielle und virale DNA erkennen. Die Aktivierung der Rezeptoren führt zur Ausschüttung von Zytokinen und letztlich zur Initiierung von angeborenen und adaptiven Immunreaktionen. Die Reifung und Differenzierung von DC wird von diesen Gefahrensignalen entscheidend beeinflusst [99, 100]. Dieses Postulat wird dadurch unterstützt, dass DC den TLR9 im Verlauf des Reifungsprozesses vermehrt exprimieren [96]. Die Hochregulation von TLR9 in pDC bei Patienten mit Pneumonie scheint aber nicht unbedingt Ausdruck einer höheren Reife der pDC im Blut zu sein, da wir andere Hinweise auf eine geringe Reife der DC gefunden haben (**siehe 4.2.3.1**). Vielmehr könnte der Anstieg von TLR9 eine spezifische Reaktion des Immunsystems auf die Pneumonie sein, und die pDC sensibler und aktiver gegenüber bakteriellen oder viralen Antigenen machen. Vermittelt werden könnte diese Hochregulation unter anderem durch Interferon- γ , welches im Entzündungsprozess vermehrt produziert wird und zumindest im Tiermodell die TLR9-Expression stimuliert [101].

4.2.3.3 CD32 und CD64

Es konnte in dieser Studie erstmals gezeigt werden, dass CD64 (FcγI-Rezeptor) und CD32 (FcγII-Rezeptor) bei Patienten mit Pneumonie signifikant vermehrt auf mDC exprimiert werden. Diese beiden Fc-Rezeptoren für IgG sind wichtige Bestandteile des Abwehrsystems gegen Pathogene. Eine Aktivierung dieser Rezeptoren bewirkt ein breites Spektrum an Reaktionen, wie zum Beispiel Phagozytose von Antikörper-Antigen-Komplexen, antikörperabhängige-Zytotoxizität oder die Ausschüttung proinflammatorischer Mediatoren ^[102]. Die Expression von CD32 und CD64 auf humanen DC und die durch diese Rezeptoren vermittelte Phagozytose konnte bereits in der Vergangenheit nachgewiesen werden ^[103]. Diese Phagozytose ist zwar schwächer als die von Monozyten, es gibt jedoch Hinweise darauf, dass das T-Zell-stimulatorische Potential der DC nach Stimulation der Fcγ-Rezeptoren deutlich gesteigert ist ^[103, 104]. Es lässt sich daher vermuten, dass die CD64- und CD32-vermittelte Phagozytose das T-Zell-stimulatorische Potential der DC steigert ^[105]. Somit haben wir die Hypothese aufgestellt, dass die gesteigerte Expression von CD32 und CD64 auf DC im peripheren Blut von Patienten mit Pneumonie ein Zeichen für ein gesteigertes Vermögen zur Prozessierung von Antigen-Antikörper-Komplexen und somit Ausdruck einer verstärkten Fähigkeit zur Ausbildung einer T-Zell-Antwort gegen die entsprechenden Antigene ist.

4.2.4 Hypothese (Pneumonie)

Die beschriebenen signifikant erniedrigten DC-Zahlen im peripheren Blut von Patienten mit Pneumonie sind auf eine Abwanderung der DC zum Ort der lokalen Entzündung in der Lunge zurückzuführen (**siehe Hypothese, Abb. 15**). Durch die verstärkte Expression von TLR9 und Fcγ-Rezeptoren können Pathogene bzw. opsonierte Pathogene schneller und besser verarbeitet werden. Dadurch kann eine schnellere und effektivere T-Zell-Antwort ausgelöst werden (**siehe Hypothese, Abb. 15 und 16**).

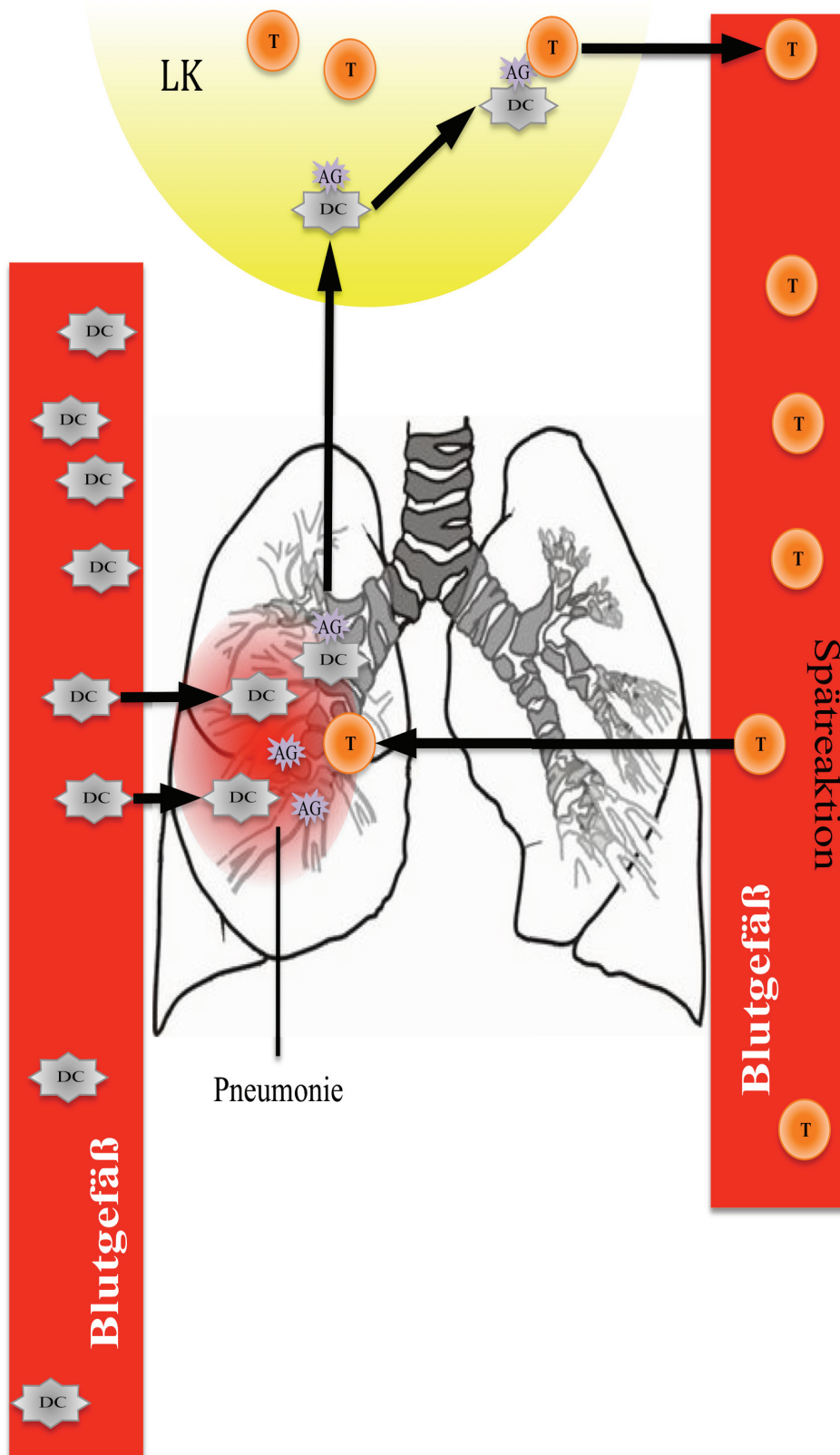


Abb. 15: Hypothese Pneumonie.

Auf der linken Seite ist die Migration von DC aus dem peripheren Blut in die Lunge bei Patienten mit Pneumonie dargestellt. Das phagozytierte und auf der Oberfläche präsentierte Antigen führt in den regionalen LK zur Reifung von T-Zellen. Auf der rechten Seite ist zu erkennen, wie diese T-Zellen aus dem peripheren Blut zum Ort der Entzündung auswandern. *Abkürzungen:* AG Antigen; LK Lymphknoten; T T-Lymphozyt.

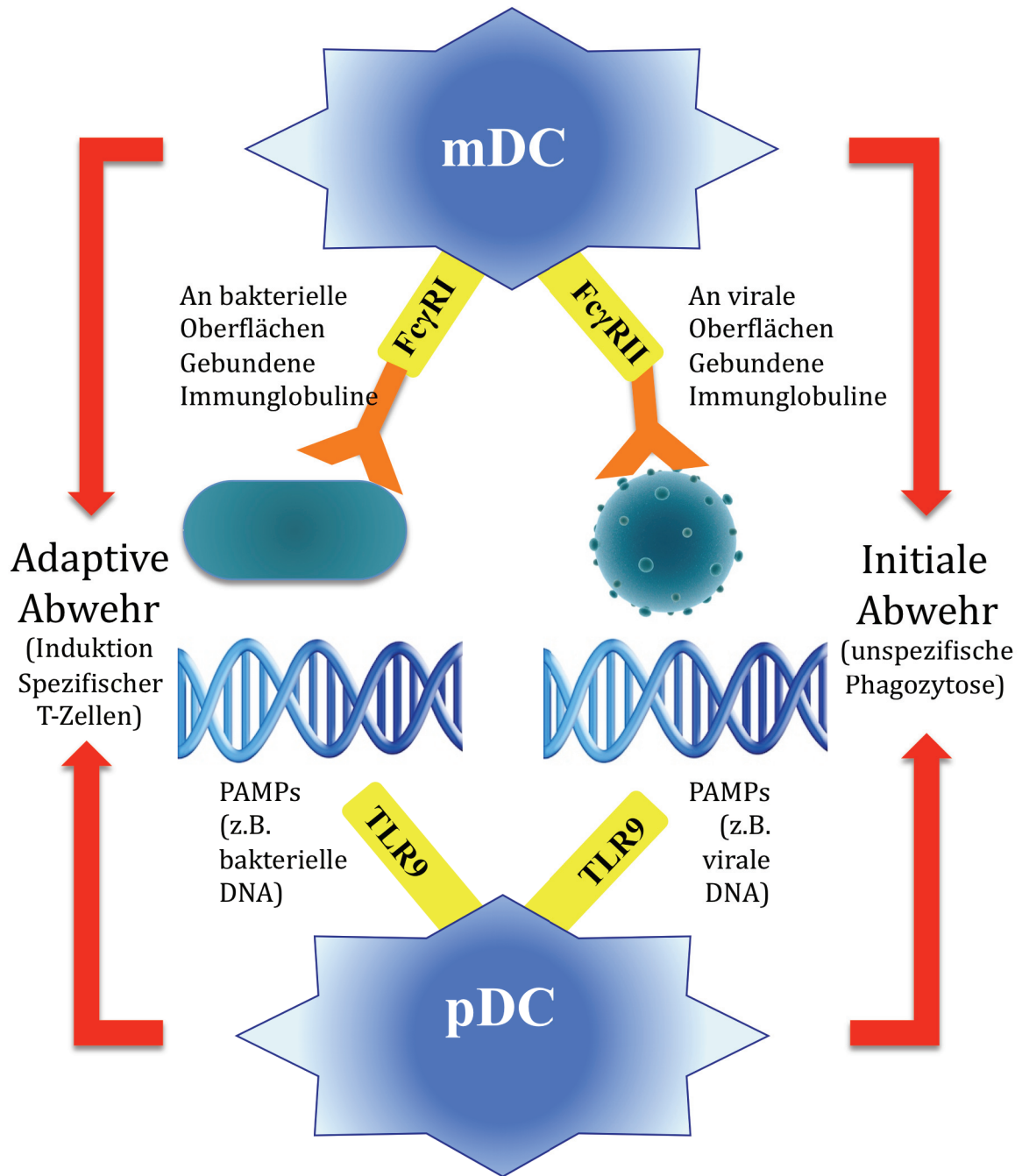


Abb. 16: Hypothese zur Bedeutung funktioneller Moleküle auf DC bei Pneumonie.

Dargestellt sind die signifikant vermehrt exprimierten Rezeptoren auf den DC-Subpopulationen mit den entsprechenden Liganden. *Abkürzungen:* **Ag:** Antigen; **DNA** Desoxyribonucleinsäure; **PAMP** pathogen-associated molecular patterns; **TLR** Toll like receptor.

4.3 Allergie

4.3.1 Spezifischer Abfall der pDC nach Einleitung der Hyposensibilisierung

Bei den Patienten mit Hymenopterengift-Allergie kam es nach 3 Tagen Hyposensibilisierung (Zeitpunkt 2) zu einem signifikanten Abfall der absoluten Anzahl der pDC im peripheren Blut im Vergleich zum Zeitpunkt 1, jedoch zu keinem Abfall der Gesamt-mDC im Vergleich zum Zeitpunkt 1. Dieses Phänomen ist wahrscheinlich auf eine Abwanderung der pDC in den geimpften Arm zurückzuführen. Der Nachweis von DC im entzündeten Oberarm, wie zum Beispiel durch eine Biopsie, wurde jedoch nicht durchgeführt. Die Konstellation lässt aber vermuten, dass die pDC aus dem Blut zum Allergen in den Arm wandern.

Die Dynamik der DC im peripheren menschlichen Blut bei Hyposensibilisierung ist bisher nicht in der Literatur beschrieben. Dieser spezifische pDC-Abfall ist bemerkenswert, da es in keiner bisherigen Studie in der Akutphase zu einem alleinigen Abfall dieser DC-Subpopulation kam [3, 82, 106]. Sowohl in der Studie von Bratke 2007 als auch Farrell 2007 zeigte sich ein gleichzeitiger Abfall von mDC und pDC nach inhalativer Allergenprovokation von Patienten mit allergischem Asthma. Der spezifische Abfall der pDC nach subcutaner Allergeninjektion könnte mehrere Ursachen haben. Zum einen handelt es sich hier um ein anderes Organ (Haut statt Lunge). Weiterhin ist ein anderes Allergen beteiligt (Wespen- und Bienengift). Schließlich ist auch die subcutan applizierte Dosis höher als die Allergendosen bei inhalativer Challenge.

Bei der Hyposensibilisierung entwickelt sich eine Toleranz gegenüber dem Allergen, damit könnte ein präferentieller pDC-Einstrom durchaus darauf hinweisen, dass pDC an dieser Toleranzentwicklung beteiligt sind. Dieses Konzept ist bislang spekulativ und stützt sich auf Tiermodelle des Asthma bronchiale [3, 107]. Aufgrund von diesen Studien wurde postuliert, dass pDC im Tiermodell anti-allergisch wirken [84, 108]. Demnach könnten pDC ein oder der Stimulus für die Bildung von T_{reg} sein. Die Übertragbarkeit dieser Annahme auf den Menschen mit Hymenopterengift-Allergie bleibt aber aufgrund bisher fehlender humaner Daten fraglich. Speziell für die Haut bei allergischer Reaktion existieren keine Studien bezüglich der Regulation der pDC. Weitere Studien mit zusätzlicher Untersuchung der Veränderungen der T_{reg} und der Immunglobuline, vor allem auch im Langzeitverlauf, sind geplant, um die Rolle der DC bei der Hyposensibilisierung des Menschen aufzudecken.

Eine Korrelation des spezifischen und Gesamt-IgE mit mDC und pDC im Blut besteht zu den Zeitpunkten 1 und 2 nicht. Die Langzeiteffekte mit dem Augenmerk auf eine möglicherweise später auftretende Korrelation zwischen IgE und DC sollen in einer Folgestudie mit Rekrutierung der Probanden dieser Studie zu einem späteren dritten Zeitpunkt nach 12 Monaten untersucht werden.

4.3.2 Veränderungen der Oberflächenmarker auf DC

Das Expressionsmuster der untersuchten intrazellulären und Oberflächenmarker der Patienten mit Hymenopterengift-Allergie war im Vergleich der beiden Zeitpunkte weitestgehend unverändert. Es fand sich aber sowohl bei pDC als auch bei den mDC zum Zeitpunkt 2 eine signifikant erniedrigte Expression von CD40. Zudem fand sich eine signifikant erhöhte Expression von BDCA-3 und CCR5 auf pDC im Vergleich zum Zeitpunkt 1. In den nachfolgenden Abschnitten sollen die einzelnen Marker diskutiert werden.

4.3.2.1 CD40

CD40 ist ein wichtiges co-stimulatorisches Molekül auf DC, welches für die Induktion einer spezifischen T- und B-Zell-Antwort wichtig ist und welches bereits im **Abschnitt 4.3.2.1** diskutiert wurde. Da CD40 mit zunehmender Reife auf DC exprimiert wird, könnte die verringerte CD40-Expression eine Unreife sowohl der mDC, als auch der pDC im Blut widerspiegeln. Bezüglich der pDC könnte dies sowohl an einem Einstrom reiferer pDC in den geimpften Arm, als auch an einer Freisetzung unreifer pDC aus dem Knochenmark liegen. Da es zu keinem signifikanten Abfall der Gesamt-mDC-Zahlen im Blut kam, könnte die verminderte CD40-Expression auf mDC beide Phänomene gleichzeitig widerspiegeln.

4.3.2.2 BDCA-3

BDCA-3 (Thrombomodulin, CD141) ist ein Rezeptor, der 1:1 Komplexe mit Thrombin bilden kann ^[110] und in hoher Konzentration auf der Oberfläche des vaskulären Epithels exprimiert wird ^[111]. In dieser Form kann der Komplex Protein C in die aktive Form überführen und damit antikoagulatorisch wirken. Blut-DC zeigen eine relativ niedrige Ausprägung des Rezeptors ^[112]. Nach Stimulation mit Hausstaubmilbenkot konnte bei Atopikern eine stärkere Expression auf DC im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden. In der selben Studie wurde beschrieben, dass isolierte BDCA-3-positive DC in vitro eine starke TH2-polarisierte Zytokin-Antwort auslösen. In vivo konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass die Stärke der BDCA-3-Expression bei Exacerbation eines Asthma bronchiale

stärker war, als nach 6 Wochen Rekonvaleszenz ^[112]. Schließlich wurde ein signifikanter Anstieg von BDCA-3-positiven Zellen nach segmentaler Allergenprovokation bei Patienten mit allergischem Asthma in der BAL nachgewiesen ^[3]. Somit könnte BDCA-3 an allergischen Entzündungsprozessen pathogenetisch bedingt sein. Über die genaue Bedeutung von BDCA-3 bei allergischen Erkrankungen liegen bislang keine Literaturdaten vor.

4.3.2.3 CCR5

CCR5 (CD195) ist Chemokinrezeptor für die proinflammatorischen Chemokine CCL3, CCL5 und CCL8 und wird unter anderem auf T-Zellen, Makrophagen und DC exprimiert ^[114, 115]. CCR5 gilt als Homing-Rezeptor unreifer DC ^[115]. Nach Antigen-Aufnahme und mit höherer Reife wird dieser Rezeptor herunter reguliert, dafür CCR7 vermehrt exprimiert. Die signifikant erhöhte Expression bei Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie könnte daher einerseits Ausdruck der erhöhten Bereitschaft zur Migration und Antigenaufnahme sein, andererseits einfach auf eine geringe Reife der DC hinweisen ^[116]. Letztere Hypothese wird auch durch die geringere CD40-Expression auf pDC gestützt.

4.3.3 Hypothese (Hyposensibilisierung)

Der spezifische Abfall der pDC im Blut ist auf einen akuten Einstrom der pDC in den mit Hymenoptereingift exponierten Arm zurückzuführen. Die Rekrutierung und Funktion von pDC führt im Verlauf zur Induktion von regulatorischen T-Zellen (T_{reg}), die eine allergische Reaktion auf Hymenoptereingift bei erneutem Stich durch eine Biene oder Wespe supprimieren (**siehe Hypothese, Abb. 17**).

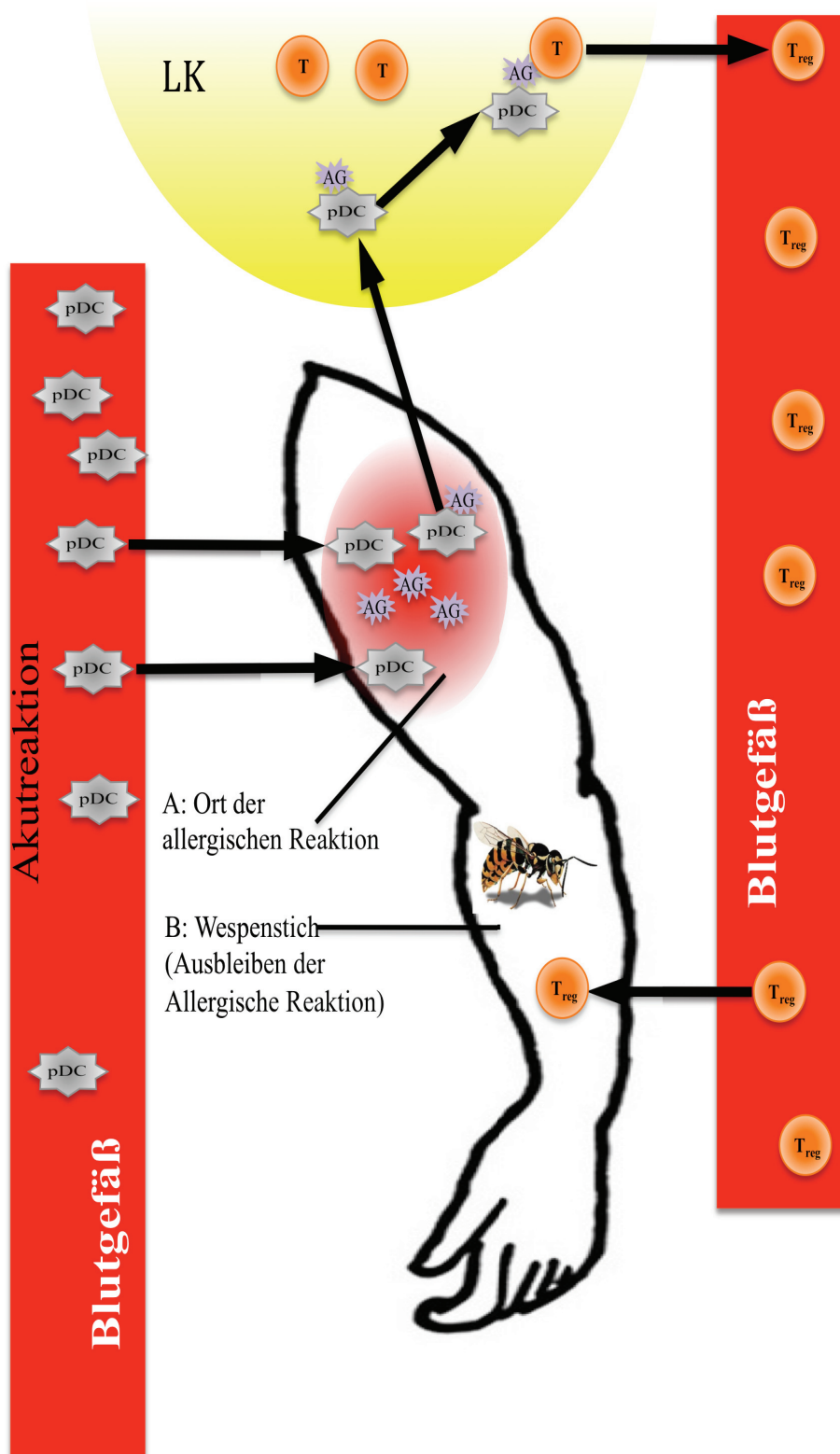


Abb. 17: Hypothese subcutane spezifische Immuntherapie.

Auf der linken Seite ist die Migration von DC aus dem peripheren Blut in die Haut nach subcutaner Allergeninjektion bei Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie (A) dargestellt. Das auf der Oberfläche präsentierte Antigen führt in den regionalen LK zur Bildung von T_{reg}. Auf der rechten Seite ist zu erkennen, wie diese T_{reg} aus dem peripheren Blut nach erneutem Insektenstich zum Ort der Entzündung auswandern und eine überschießende allergische Reaktion unterdrücken (B). *Abkürzungen:* AG Antigen; LK Lymphknoten; T T-Zelle; T_{reg} Regulatorische T-Zelle.

5 Zusammenfassung

Dendritische Zellen (DC) spielen eine zentrale Rolle bei der angeborenen und der erworbenen Immunität des Menschen. In der vorliegenden Arbeit wurde mittels Durchflusszytometrie die Dynamik von DC im peripheren Blut von Patienten mit akuter Pneumonie (vor und während antibiotischer Therapie) und Patienten mit Hymenopterengift-Allergie (vor und nach 3-tägiger stationärer Einleitung einer subcutanen spezifischen Immuntherapie) erstmalig untersucht.

Die Patienten mit Pneumonie zeigten einen signifikanten Abfall von pDC und mDC im peripheren Blut. Dies könnte auf einen Einstrom der DC in die Lunge hinweisen. Darüber hinaus korrelierte die Anzahl der mDC signifikant negativ mit dem CRP. Diese Konstellation könnte möglicherweise in einem proinflammatorischen Charakter der mDC begründet sein. Die mDC der Patienten mit Pneumonie zeigten eine signifikant verstärkte Expression des FcγI-Rezeptors (CD64) und des FcγII-Rezeptors (CD32). Weiterhin exprimierten die pDC der Patienten signifikant mehr TLR9. DC im Blut der Patienten mit Pneumonie sind somit durch eine Hochregulation von Molekülen gekennzeichnet, die Pathogen-assoziierte molekulare Muster (TLR9) und opsonierte Antigene (CD64 und CD32) erkennen können. Wir stellen anhand der Ergebnisse die These auf, dass die DC bei einer akuten Pneumonie in die Lunge migrieren und dort aufgrund der vermehrten Expression von TLR9, CD64 und CD32 zu einer effektiveren Antigen-Aufnahme und T-Zell-Aktivierung fähig sind.

Bei den Patienten mit Hymenopterengift-Allergie war ein spezifischer Abfall der pDC-Zahlen nach 3 Tagen subcutaner spezifischer Immuntherapie zu verzeichnen. Dies könnte auf eine selektive Rekrutierung von pDC in den Arm bei Einleitung der Hyposensibilisierung hindeuten. Bezüglich der Oberflächenmarker fand sich im Verlauf der Behandlung bei den pDC eine signifikant erniedrigte Expression des Reifemarkers CD40, als auch eine signifikant erhöhte Expression von BDCA-3 (Thrombomodulin) und CCR5. Diese Veränderungen (CD40 und CCR5) könnten auf eine verminderte Reife der pDC hinweisen. Die Bedeutung der Hochregulation von BDCA-3 auf pDC, die mit den Daten von Patienten mit allergischem Asthma übereinstimmen, ist bislang noch unklar.

Zusammenfassend konnte erstmals der Einfluss einer akuten Pneumonie bzw. einer akuten Einleitung einer Hyposensibilisierungs-Therapie auf Anzahl und die Pathophysiologie von DC im Blut des Menschen gezeigt werden.

6 Literaturverzeichnis

1. Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med* 1973;137:1142-62.
2. Bell D, Young JW, Banchereau J. Dendritic cells. *Adv Immunol* 1999;72:255-324.
3. Bratke K, Lommatzsch M, Julius P, et al. Dendritic cell subsets in human bronchoalveolar lavage fluid after segmental allergen challenge. *Thorax* 2007;62:168-75.
4. Meyers RA. *Immunology: from cell biology to disease*. Weinheim: Wiley-VCH; 2007.
5. Takeda K, Akira S. TLR signaling pathways. *Semin Immunol* 2004;16:3-9.
6. Pasare C, Medzhitov R. Toll-like receptors and acquired immunity. *Semin Immunol* 2004;16:23-6.
7. Nicod LP. Lung defenses: an overview. *European Respiratory Review* 2005;95:45-50.
8. Schurch S, Gehr P, Im Hof V, et al. Surfactant displaces particles toward the epithelium in airways and alveoli. *Respir Physiol* 1990;80:17-32.
9. Holt PG. Pulmonary dendritic cells in local immunity to inert and pathogenic antigens in the respiratory tract. *Proc Am Thorac Soc* 2005;2:116-20.
10. Lippmann M, Yeates DB, Albert RE. Deposition, retention, and clearance of inhaled particles. *Br J Ind Med* 1980;37:337-62.
11. Lehnert BE. Pulmonary and thoracic macrophage subpopulations and clearance of particles from the lung. *Environ Health Perspect* 1992;97:17-46.
12. Blank F, Rothen-Rutishauser B, Gehr P. Dendritic cells and macrophages form a transepithelial network against foreign particulate antigens. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007;36:669-77.
13. Tuskan GA, Difazio S, Jansson S, et al. The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). *Science* 2006;313:1596-604.
14. Yang S, Yang Y, Raycraft J, et al. Melanoma cells transfected to express CD83 induce antitumor immunity that can be increased by also engaging CD137. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:4990-5.
15. Bienenstock J, McDermott MR. Bronchus- and nasal-associated lymphoid tissues. *Immunol Rev* 2005;206:22-31.
16. Heier I, Malmstrom K, Pelkonen AS, et al. Bronchial response pattern of antigen presenting cells and regulatory T cells in children less than 2 years of age. *Thorax* 2008;63:703-9.
17. Miossec P. IL-17 and Th17 cells in human inflammatory diseases. *Microbes Infect* 2009;11:625-30.

18. Spits H, Couwenberg F, Bakker AQ, et al. Id2 and Id3 inhibit development of CD34(+) stem cells into predendritic cell (pre-DC)2 but not into pre-DC1. Evidence for a lymphoid origin of pre-DC2. *J Exp Med* 2000;192:1775-84.
19. Robinson SP, Patterson S, English N, et al. Human peripheral blood contains two distinct lineages of dendritic cells. *Eur J Immunol* 1999;29:2769-78.
20. Robinson TE, Kolb B. Alterations in the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and prefrontal cortex following repeated treatment with amphetamine or cocaine. *Eur J Neurosci* 1999;11:1598-604.
21. Vermaelen K, Pauwels R. Pulmonary dendritic cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:530-51.
22. Cochand L, Isler P, Songeon F, et al. Human lung dendritic cells have an immature phenotype with efficient mannose receptors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;21:547-54.
23. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2001;1:135-45.
24. Beg AA. Endogenous ligands of Toll-like receptors: implications for regulating inflammatory and immune responses. *Trends Immunol* 2002;23:509-12.
25. Biragyn A, Ruffini PA, Leifer CA, et al. Toll-like receptor 4-dependent activation of dendritic cells by beta-defensin 2. *Science* 2002;298:1025-9.
26. Okamura Y, Watari M, Jerud ES, et al. The extra domain A of fibronectin activates Toll-like receptor 4. *J Biol Chem* 2001;276:10229-33.
27. Termeer CC, Hennies J, Voith U, et al. Oligosaccharides of hyaluronan are potent activators of dendritic cells. *J Immunol* 2000;165:1863-70.
28. Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu Rev Immunol* 1991;9:271-96.
29. Fearnley DB, McLellan AD, Mannering SI, et al. Isolation of human blood dendritic cells using the CMRF-44 monoclonal antibody: implications for studies on antigen-presenting cell function and immunotherapy. *Blood* 1997;89:3708-16.
30. Hock BD, Starling GC, Daniel PB, et al. Characterization of CMRF-44, a novel monoclonal antibody to an activation antigen expressed by the allostimulatory cells within peripheral blood, including dendritic cells. *Immunology* 1994;83:573-81.
31. Said JW, Rettig MR, Heppner K, et al. Localization of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in bone marrow biopsy samples from patients with multiple myeloma. *Blood* 1997;90:4278-82.
32. Witmer-Pack MD, Valinsky J, Olivier W, et al. Quantitation of surface antigens on cultured murine epidermal Langerhans cells: rapid and selective increase in the level of surface MHC products. *J Invest Dermatol* 1988;90:387-94.

33. Inaba K, Steinman RM. Resting and sensitized T lymphocytes exhibit distinct stimulatory (antigen-presenting cell) requirements for growth and lymphokine release. *J Exp Med* 1984;160:1717-35.
34. Larsen CP, Ritchie SC, Pearson TC, et al. Functional expression of the costimulatory molecule, B7/BB1, on murine dendritic cell populations. *J Exp Med* 1992;176:1215-20.
35. Young JW, Koulova L, Soergel SA, et al. The B7/BB1 antigen provides one of several costimulatory signals for the activation of CD4+ T lymphocytes by human blood dendritic cells in vitro. *J Clin Invest* 1992;90:229-37.
36. Caux C, Massacrier C, Vanbervliet B, et al. Activation of human dendritic cells through CD40 cross-linking. *J Exp Med* 1994;180:1263-72.
37. Inaba K, Inaba M, Witmer-Pack M, et al. Expression of B7 costimulator molecules on mouse dendritic cells. *Adv Exp Med Biol* 1995;378:65-70.
38. Bilyk N, Holt PG. Inhibition of the immunosuppressive activity of resident pulmonary alveolar macrophages by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med* 1993;177:1773-7.
39. Veres TZ, Shevchenko M, Krasteva G, et al. Dendritic cell-nerve clusters are sites of T cell proliferation in allergic airway inflammation. *Am J Pathol* 2009;174:808-17.
40. Kadowaki N, Ho S, Antonenko S, et al. Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens. *J Exp Med* 2001;194:863-9.
41. Langerhans P. Über die Nerven der menschlichen Haut. *Virchows Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie, und für klinische Medicin* 1868;44:325-37.
42. Bauer J, Bahmer FA, Worl J, et al. A strikingly constant ratio exists between Langerhans cells and other epidermal cells in human skin. A stereologic study using the optical disector method and the confocal laser scanning microscope. *J Invest Dermatol* 2001;116:313-8.
43. Katz SI, Tamaki K, Sachs DH. Epidermal Langerhans cells are derived from cells originating in bone marrow. *Nature* 1979;282:324-6.
44. Caux C, Massacrier C, Vanbervliet B, et al. CD34+ hematopoietic progenitors from human cord blood differentiate along two independent dendritic cell pathways in response to granulocyte-macrophage colony-stimulating factor plus tumor necrosis factor alpha: II. Functional analysis. *Blood* 1997;90:1458-70.
45. Thepen T, Van Rooijen N, Kraal G. Alveolar macrophage elimination in vivo is associated with an increase in pulmonary immune response in mice. *J Exp Med* 1989;170:499-509.
46. Schon-Hegrad MA, Oliver J, McMenamin PG, et al. Studies on the density, distribution, and surface phenotype of intraepithelial class II major histocompatibility complex antigen (Ia)-bearing dendritic cells (DC) in the conducting airways. *J Exp Med* 1991;173:1345-56.

47. Holt PG, Schon-Hegrad MA. Localization of T cells, macrophages and dendritic cells in rat respiratory tract tissue: implications for immune function studies. *Immunology* 1987;62:349-56.
48. Holt PG, Haining S, Nelson DJ, et al. Origin and steady-state turnover of class II MHC-bearing dendritic cells in the epithelium of the conducting airways. *J Immunol* 1994;153:256-61.
49. van Haarst JM, de Wit HJ, Drexhage HA, et al. Distribution and immunophenotype of mononuclear phagocytes and dendritic cells in the human lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994;10:487-92.
50. Sertl K, Takemura T, Tschachler E, et al. Dendritic cells with antigen-presenting capability reside in airway epithelium, lung parenchyma, and visceral pleura. *J Exp Med* 1986;163:436-51.
51. Demedts IK, Bracke KR, Van Pottelberge G, et al. Accumulation of dendritic cells and increased CCL20 levels in the airways of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:998-1005.
52. Bratke K, Klug M, Bier A, et al. Function-associated surface molecules on airway dendritic cells in cigarette smokers. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2008;38:655-60.
53. Casolaro MA, Bernaudin JF, Saltini C, et al. Accumulation of Langerhans' cells on the epithelial surface of the lower respiratory tract in normal subjects in association with cigarette smoking. *Am Rev Respir Dis* 1988;137:406-11.
54. Demedts IK, Joos GF, Brusselle GG. Pulmonary dendritic cells: playing ball in the BAL? *Eur Respir J* 2007;30:823-4.
55. Soler P, Valeyre D. Adult pulmonary Langerhans' cell histiocytosis. *Rev Med Interne* 2003;24:230-6.
56. Coombs. The Classification of allergic reactions underlying disease. *Clinical aspects of immunology* 1963.
57. Eisenbarth SC, Piggott DA, Huleatt JW, et al. Lipopolysaccharide-enhanced, toll-like receptor 4-dependent T helper cell type 2 responses to inhaled antigen. *J Exp Med* 2002;196:1645-51.
58. Robinson D, Hamid Q, Bentley A, et al. Activation of CD4+ T cells, increased TH2-type cytokine mRNA expression, and eosinophil recruitment in bronchoalveolar lavage after allergen inhalation challenge in patients with atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:313-24.
59. Canonica GW. Introduction to nasal and pulmonary allergy cascade. *Allergy* 2002;57 Suppl 75:8-12.
60. Golden DB, Valentine MD. Insect sting allergy. *Ann Allergy* 1984;53:444-9.
61. Schafer T, Przybilla B. IgE antibodies to Hymenoptera venoms in the serum are common in the general population and are related to indications of atopy. *Allergy* 1996;51:372-7.

62. Ring J. Angewandte Allergologie. Urban & Vogel 2004;3. Auflage:140-2; 62-64.
63. Rueff F. Diagnose und Therapie der Wespengiftallergie. Positionspapier der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAI). Allergo J 2000;9:458-72.
64. Golden DB, Kagey-Sobotka A, Valentine MD, et al. Dose dependence of Hymenoptera venom immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 1981;67:370-4.
65. Mosbech H, Malling HJ, Biering I, et al. Immunotherapy with yellow jacket venom. A comparative study including three different extracts, one adsorbed to aluminium hydroxide and two unmodified. Allergy 1986;41:95-103.
66. Muller U, Berchtold E, Helbling A. Honeybee venom allergy: results of a sting challenge 1 year after stopping successful venom immunotherapy in 86 patients. J Allergy Clin Immunol 1991;87:702-9.
67. Muller U, Helbling A, Berchtold E. Immunotherapy with honeybee venom and yellow jacket venom is different regarding efficacy and safety. J Allergy Clin Immunol 1992;89:529-35.
68. Akdis CA, Blaser K. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. Allergy 2000;55:522-30.
69. Gleich GJ, Zimmermann EM, Henderson LL, et al. Effect of immunotherapy on immunoglobulin E and immunoglobulin G antibodies to ragweed antigens: a six-year prospective study. J Allergy Clin Immunol 1982;70:261-71.
70. Bousquet J, Braquemond P, Feinberg J, et al. Specific IgE response before and after rush immunotherapy with a standardized allergen or allergoid in grass pollen allergy. Ann Allergy 1986;56:456-9.
71. Muller U, Helbling A, Bischof M. Predictive value of venom-specific IgE, IgG and IgG subclass antibodies in patients on immunotherapy with honey bee venom. Allergy 1989;44:412-8.
72. Bellinghausen I, Metz G, Enk AH, et al. Insect venom immunotherapy induces interleukin-10 production and a Th2-to-Th1 shift, and changes surface marker expression in venom-allergic subjects. Eur J Immunol 1997;27:1131-9.
73. Jutel M, Pichler WJ, Skrbic D, et al. Bee venom immunotherapy results in decrease of IL-4 and IL-5 and increase of IFN-gamma secretion in specific allergen-stimulated T cell cultures. J Immunol 1995;154:4187-94.
74. Secrist H, Chelen CJ, Wen Y, et al. Allergen immunotherapy decreases interleukin 4 production in CD4+ T cells from allergic individuals. J Exp Med 1993;178:2123-30.
75. McGuirk P, Mills KH. Pathogen-specific regulatory T cells provoke a shift in the Th1/Th2 paradigm in immunity to infectious diseases. Trends Immunol 2002;23:450-5.
76. Walsh PT, Taylor DK, Turka LA. Tregs and transplantation tolerance. J Clin Invest 2004;114:1398-403.

77. (DGAKI) LdDGAukI. Die spezifische Immuntherapie (Hyposensibilisierung) bei IgE-vermittelten allergischen Erkrankungen. *Allergo J* 2006;15:56-74.
78. Przybilla B, Bergmann K.-Ch. *Kutane Tests. Praktische allergologische Diagnostik* Steinkopff Verlag Darmstadt 2000:9-22.
79. Elsner J SA, Petering H, Schäfer T, et al. Ultrarush SIT in venom allergy. *Allergy* 2000;55:582-3.
80. Przybilla B RF, Fuchs T, Pfeiffer C, et al. Insektengiftallergie – Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAI). *Allergo J* 2004;13:186-90.
81. Lommatzsch M, Bratke K, Bier A, et al. Airway dendritic cell phenotypes in inflammatory diseases of the human lung. *Eur Respir J* 2007;30:878-86.
82. Lommatzsch M, Bratke K, Knappe T, et al. Acute effects of tobacco smoke on human airway dendritic cells in vivo. *Eur Respir J* 2009.
83. Sanchez PJ, McWilliams JA, Haluszczak C, et al. Combined TLR/CD40 stimulation mediates potent cellular immunity by regulating dendritic cell expression of CD70 in vivo. *J Immunol* 2007;178:1564-72.
84. de Heer H, Soullié T, Vos N, et al. Essential Role of Lung Plasmacytoid Dendritic Cells in Preventing Asthmatic Reactions to Harmless Inhaled Antigen. *J Exp Med* 2004;200:89-98.
85. Alderson MR, Armitage RJ, Tough TW, et al. CD40 expression by human monocytes: regulation by cytokines and activation of monocytes by the ligand for CD40. *J Exp Med* 1993;178:669-74.
86. Hess S, Rensing-Ehl A, Schwabe R, et al. CD40 function in nonhematopoietic cells. Nuclear factor kappa B mobilization and induction of IL-6 production. *J Immunol* 1995;155:4588-95.
87. O'Sullivan B, Thomas R. Recent advances on the role of CD40 and dendritic cells in immunity and tolerance. *Curr Opin Hematol* 2003;10:272-8.
88. Schoenberger SP, Toes RE, van der Voort EI, et al. T-cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD40-CD40L interactions. *Nature* 1998;393:480-3.
89. Banchereau J, Bazan F, Blanchard D, et al. The CD40 antigen and its ligand. *Annu Rev Immunol* 1994;12:881-922.
90. van der Merwe PA, Bodian DL, Daenke S, et al. CD80 (B7-1) binds both CD28 and CTLA-4 with a low affinity and very fast kinetics. *J Exp Med* 1997;185:393-403.
91. Reis e Sousa C. Dendritic cells in a mature age. *Nat Rev Immunol* 2006;6:476-83.
92. Austyn JM. Antigen uptake and presentation by dendritic leukocytes. *Semin Immunol* 1992;4:227-36.

93. Bauer S, Kirschning CJ, Hacker H, et al. Human TLR9 confers responsiveness to bacterial DNA via species-specific CpG motif recognition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:9237-42.
94. Crow MK, Kunkel HG. Human dendritic cells: major stimulators of the autologous and allogeneic mixed leucocyte reactions. *Clin Exp Immunol* 1982;49:338-46.
95. Dalgaard J, Beckstrom KJ, Jahnsen FL, et al. Differential capability for phagocytosis of apoptotic and necrotic leukemia cells by human peripheral blood dendritic cell subsets. *J Leukoc Biol* 2005;77:689-98.
96. Hornung V, Rothenfusser S, Britsch S, et al. Quantitative expression of toll-like receptor 1-10 mRNA in cellular subsets of human peripheral blood mononuclear cells and sensitivity to CpG oligodeoxynucleotides. *J Immunol* 2002;168:4531-7.
97. Romani N, Schuler G. The immunologic properties of epidermal Langerhans cells as a part of the dendritic cell system. *Springer Semin Immunopathol* 1992;13:265-79.
98. O'Neill. After the toll rush. *Science* 2004;303:1481-2.
99. Gangloff M, Gay NJ. Baseless assumptions: activation of TLR9 by DNA. *Immunity* 2008;28:293-4.
100. Kumagai Y, Kumar H, Koyama S, et al. Cutting Edge: TLR-Dependent viral recognition along with type I IFN positive feedback signaling masks the requirement of viral replication for IFN- α production in plasmacytoid dendritic cells. *J Immunol* 2009;182:3960-4.
101. Schroder K, Lichtinger M, Irvine KM, et al. PU.1 and ICSBP control constitutive and IFN- γ -regulated Tlr9 gene expression in mouse macrophages. *J Leukoc Biol* 2007;81:1577-90.
102. Joshi T, Butchar JP, Tridandapani S. Fc γ receptor signaling in phagocytes. *Int J Hematol* 2006;84:210-6.
103. Fanger NA, Wardwell K, Shen L, et al. Type I (CD64) and type II (CD32) Fc γ receptor-mediated phagocytosis by human blood dendritic cells. *J Immunol* 1996;157:541-8.
104. Pickl WF, Majdic O, Kohl P, et al. Molecular and functional characteristics of dendritic cells generated from highly purified CD14⁺ peripheral blood monocytes. *J Immunol* 1996;157:3850-9.
105. Fanger NA, Liu C, Guyre PM, et al. Activation of human T cells by major histocompatibility complex class II expressing neutrophils: proliferation in the presence of superantigen, but not tetanus toxoid. *Blood* 1997;89:4128-35.
106. Farrell E, O'Connor TM, Duong M, et al. Circulating myeloid and plasmacytoid dendritic cells after allergen inhalation in asthmatic subjects. *Allergy* 2007;62:1139-45.
107. Lambrecht BN, van Rijt LS. Infections and asthma pathogenesis: a critical role for dendritic cells? *Novartis Found Symp* 2006;279:187-200; discussion -5, 16-9.

108. Kool M, van Nimwegen M, Willart MA, et al. An anti-inflammatory role for plasmacytoid dendritic cells in allergic airway inflammation. *J Immunol* 2009;183:1074-82.
109. Mosca PJ, Hobeika AC, Clay TM, et al. A subset of human monocyte-derived dendritic cells expresses high levels of interleukin-12 in response to combined CD40 ligand and interferon-gamma treatment. *Blood* 2000;96:3499-504.
110. Esmon NL. Thrombomodulin. *Semin Thromb Hemost* 1987;13:454-63.
111. Uygur F, Noyan N, Celikoz B, et al. Expression of the endothelial thrombomodulin (TM) on the ischemic rat flap model: preliminary study. *Ann Plast Surg* 2009;62:693-8.
112. Yerkovich ST, Roponen M, Smith ME, et al. Allergen-enhanced thrombomodulin (blood dendritic cell antigen 3, CD141) expression on dendritic cells is associated with a TH2-skewed immune response. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:209-16 e4.
113. Dzionek A, Fuchs A, Schmidt P, et al. BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood. *J Immunol* 2000;165:6037-46.
114. Yoneyama H, Matsuno K, Matsushimaa K. Migration of dendritic cells. *Int J Hematol* 2005;81:204-7.
115. Randolph GJ, Angeli V, Swartz MA. Dendritic-cell trafficking to lymph nodes through lymphatic vessels. *Nat Rev Immunol* 2005;5:617-28.
116. Chen T, Guo J, Yang M, et al. Cyclosporin A impairs dendritic cell migration by regulating chemokine receptor expression and inhibiting cyclooxygenase-2 expression. *Blood* 2004;103:413-21.

7 Abkürzungsverzeichnis

*	p < 0,05
ACVB	Aorto-coronaren Venenbypass
AF	Atemfrequenz
AG	Antigen
APC	Allophycocyanin
BALF	Bronchoalveolären Lavage-Flüssigkeit
BALT	Bronchus-associated lymphoid tissue
BDCA	Blood dendritic cell antigen
BG	Birbeck Granula
BPH	Benigne Prostatahyperplasie
CAP-RAST	Cellulose carrier polymer-radio Allergo sorbent test
CCL	Chemokinligand
CCR	Chemokinrezeptor
CD	Cluster of differentiation
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease (Chronisch obstruktive Lungenerkrankung)
CpG	Cytosin-phosphatidyl-Guanosin
CRP	C-reaktives Protein
Cy5	Cytochrom-5
DC	Dendritic cell (Dendritische Zelle)
DC-SIGN	Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-grabbing nonintegrin
DNA	Desoxyribonucleinsäure
ECF	Eosinophil chemotactic factors
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FACS	Fluorescence activated cell sorting
FC-Rezeptor	Fragment, crystallizable-Rezeptor
FCS	Fetales Kälberserum
FEV ₁	Einsekundenkapazität
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
Flt	FMS (fibromyalgia syndrome) related tyrosine kinase
Foxp3	Forkhead family transcription factor
FSC	Forward scatter
GALT	Gut-associated lymphoid tissue
GM-CSF	Granulocyt-macrophage colony stimulating factor
HDM	House dust mite
HLA-DR	Human leukocyte antigen-DR
ICAM	Inter-cellular adhesion molecule
ICB	Intracranielle Blutung
ICOS-L	Inducible costimulator-ligand
IFN	Interferon
IgA	Immunglobulin A
IgE	Immunglobulin E
IgE _{ges}	Gesamtes Immunglobulin E
IgE _{spez}	Sezifisches Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IL	Interleukin
IL-7R	Interleukin-7-Rezeptor
IQA	Interquartilenabstand

KHK	Koronare Herzkrankheit
LALT	Larynx-associated lymphoid tissue
LC	Langerhans-Zelle
LFA	Leukozyte function associated antigen
Li-Heparin	Litium-Heparin
Lin	Lineage
LK	Lymphknoten
LPS	Lipopolysaccharid
m	Männlich
MALT	Mucosa-associated lymphoid tissue
MCH	Mean corpuscular haemoglobin
MCHC	Mean corpuscular haemoglobin concentration
MCV	Mean corpuscular volume
mDC	Myeloide Dendritische Zelle
MHC	Major histocompatibility complex
MIP3beta	Macrophage Inflammatory Protein 3 beta
n.d.	Nicht durchgeführt
NaCl	Natriumchlorid
NALT	Nose-associated lymphoid tissue
NaN ₃	Natriumazid
NCF	Neutrophil chemotactic factors
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
OP	Operation
P	Puls
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
p(c)-SMAC	Peripheral (central) Supramolecular Activation Cluster
PAF	Platelet activating factor
PAMP	Pathogen-associated molecular patterns
PBS	Phosphate-buffered saline
PCT	Procalcitonin
PD-L1	Programmed death-ligand 1
pDC	Plasmazytoide Dendritische Zelle
PE	Phytoerythrin
PEG	Perkutane Entero-Gastrostomie
PerCP	Perinidin-Chlorophyll-A-Protein
PGE2	Prostaglandin E2
PY	Pack years
RNA	Ribonukleinsäure
RR	Blutdruck
SALT	Skin-associated lymphoid tissue
SCIT	Subcutane spezifische Immuntherapie
SSC	Sideward scatter
T	Temperatur
TCR	T-cell-receptor
TGF	Transforming growth factor
TH	T-Helferzellen
TLR	Toll-like Rezeptoren
TNF α	Tumornekrosefaktor α
T _{reg}	Regulatorische T-Zelle
TSLP	Thymic stromal lymphopietin
VHF	Vorhofflimmern

w	Weiblich
Z.n.	Zustand nach
ZP	Zeitpunkt

8 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Das Immunsystem.	4
Abb. 2: Abwehrstrukturen in den Atemwegen.....	6
Abb. 3: Aufbau des Epithels.	7
Abb. 4: Abstammung und Ontogenese dendritischer Zellen.	10
Abb. 5: Migration und Reifung von DC.	12
Abb. 6: Formen der T-Zell Aktivierung durch DC.	14
Abb. 7: Die immunologische Synapse.	15
Abb. 8: Materialien zur Blutentnahme.	27
Abb. 9: Dotplot-Darstellung der durchflusszytometrisch bestimmten Parameter.	35
Abb. 10: Beispiel eines typischen Boxplot-Diagramms.	38
Abb. 11: Entzündungsparameter im Blut.	51
Abb. 12: Absolute Anzahl der DC im Blut.	53
Abb. 13: Absolute Anzahl der DC im Blut der Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie.	54
Abb. 14: Korrelation des CRP mit dem Prozentsatz der DC im Blut.	56
Abb. 15: Hypothese Pneumonie.	65
Abb. 16: Hypothese zur Bedeutung funktioneller Moleküle auf DC bei Pneumonie.	66
Abb. 17: Hypothese subcutane spezifische Immuntherapie.	70

9 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Oberflächenmarker von Subgruppen dendritischer Zellen.	10
Tab. 2: Einteilung der Überempfindlichkeitsreaktionen.	18
Tab. 3: Einteilung der Schweregrade der allergischen Reaktion.	19
Tab. 4: Indikationen und Kontraindikationen für die Subcutane spezifische Immuntherapie.	26
Tab. 5: Beschreibung und Wertung der lokalen Hautreaktion des Prick-Tests.	29
Tab. 6: Schema der Hyposensibilisierungs-Einleitung (Rush-Schema).	31
Tab. 7: Analytierte Parameter der Klinischen Chemie	32
Tab. 8: Konzentrationsgrenzen der RAST-Klassen für spezifisches CAP-IgE.	32
Tab. 9: Verwendete monoklonale Maus-anti-Human-Antikörper mit Markierung.	34
Tab. 10: Ansätze zur Bestimmung der pDC.	37
Tab. 11: Ansätze zur Bestimmung der intrazellulären Marker.	37
Tab. 12: Ansätze zur Bestimmung der mDC.	37
Tab. 13: Anthropometrie und Raucheranamnese der Kontrollpersonen.	39
Tab. 14: Dauerdiagnosen und Medikation der Kontrollpersonen.	40
Tab. 15: Anthropometrie und Raucheranamnese der Patienten mit Pneumonie.	41
Tab. 16: Dauerdiagnosen und Medikation der Gruppe der Patienten mit Pneumonie.	43
Tab. 17: Spezifische Therapie der Patienten mit Pneumonie.	44
Tab. 18: Anthropometrie und Raucheranamnese der Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie.	45
Tab. 19: Dauerdiagnosen und Medikation der Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie.	46
Tab. 20: Gesamt- und spezifisches IgE der Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie.	47
Tab. 21: Vitalparameter der Kontrollpersonen.	48
Tab. 22: Vitalparameter der Patienten mit Pneumonie.	48
Tab. 23: Vitalparameter der Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie.	49
Tab. 24: Laborparameter.	50
Tab. 25: Anzahl und Prozentsatz von pDC und mDC im peripheren Blut.	52
Tab. 26: Oberflächenmarker und intrazelluläre Marker der pDC und mDC.	57

10 Publikationsverzeichnis

Dreschler K, Bratke K, **Petermann S**, Thamm P, Kuepper M, Virchow J C, Lommatzsch M.
Blood dendritic cells in patients with acute infectious pneumonia. Eingereicht zur Publikation
September 2009.

11 Curriculum vitae

Schulische Ausbildung

1981–1990	Polytechnische Oberschule Rastow
1990–1994	Spezialschule mathematisch-naturwissenschaftlicher Richtung (später Christophorus-Gymnasium) Rostock
07 / 1994	Allgemeine Hochschulreife

Wehrdienst

1994–1995	Grundwehrdienst in Lüneburg
-----------	-----------------------------

Universitäre Ausbildung

10 / 1995	Immatrikulation für das Studium der Humanmedizin an der Universität Rostock
09 / 1997	Abschluss der Ärztlichen Vorprüfung
09 / 1998	Abschluss des 1. Abschnittes der Ärztlichen Prüfung
09 / 2000	Abschluss des 2. Abschnittes der Ärztlichen Prüfung
06 / 2002	Abschluss des 3. Abschnittes der Ärztlichen Prüfung

Klinische Ausbildung

02 / 1995 – 04 / 1996	Famulaturen an den Kliniken und Polikliniken für Chirurgie, Innere Medizin und Pädiatrie der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock und in einer Allgemeinchirurgischen Praxisgemeinschaft
04 / 2001 – 03 / 2002	Praktisches Jahr an den Kliniken und Polikliniken für Chirurgie, Innere Medizin und Orthopädie der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock
10 / 2002 – 03 / 2004	Arzt im Praktikum an der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock
04 / 2004 – dato	Assistenzarzt an der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

12 Danksagung

Ich möchte mich bei Herrn PD Dr. M. LOMMATZSCH für die Möglichkeit der Bearbeitung dieses sehr interessanten Themas sowie für die Schaffung der Voraussetzungen zur Durchführung der Untersuchungen bedanken.

Mein besonderer Dank gebührt Frau Dipl. biol. K. DRESCHLER und Frau Dr. ZINGLER für die engagierte Betreuung der experimentellen Arbeiten sowie die Unterstützung bei der Auswertung der erhobenen Daten.

Letztendlich möchte ich mich sehr bei meiner gesamten Familie bedanken. Meiner Frau und meinen drei Töchtern möchte ich für die liebevolle und tatkräftige Unterstützung sowie die Toleranz der zeitlichen Einschnitte in jeder Phase dieser Arbeit meinen ganz besonderen Dank aussprechen.

13 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt und verfasst habe. Ich habe keine Hilfsmittel außer den genannten verwendet.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

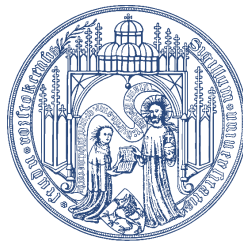
Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass keine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades vorliegt.

Aus der Abteilung für Pneumologie der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock
Direktor der Abteilung: Prof. Dr. med. habil. J.C. VIRCHOW

**Über die Regulation dendritischer Zellen im Blut
von Patienten mit Pneumonie
und Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie**

Eine klinisch-experimentelle Studie

THESEN ZUR DISSERTATION



von

Sebastian Petermann

Rostock 2009

1. Dendritische Zellen nehmen eine zentrale und unverzichtbare Rolle im Immunsystem ein. Als antigenpräsentierende Zellen sind sie der wichtigste Auslöser der adaptiven, spezifischen Immunantwort. Zusätzlich spielen sie auch eine entscheidende Rolle in der angeborenen, unspezifischen Immunabwehr.
2. Tierexperimentelle Studien der letzten Jahre haben gezeigt, dass DC eine zentrale Bedeutung in der Pathogenese allergischer Erkrankungen und in der Immunabwehr von pathogenen Keimen haben. Daten zur Regulation und Bedeutung der DC beim Menschen sind bislang jedoch sehr spärlich.
3. Anhand von Patienten mit Pneumonie konnte in der vorliegenden klinischen Studie erstmals gezeigt werden, dass die Anzahl der DC im peripheren Blut bei einer schweren Infektion signifikant abfällt. Der Abfall der myeloiden DC war besonders ausgeprägt und korrelierte mit dem Anstieg des systemischen, inflammatorischen Parameters CRP. Wir haben die Hypothese aufgestellt, dass der DC-Abfall im Blut auf eine Rekrutierung dieser Zellen in die Lunge zurückzuführen ist.
4. Es konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit Pneumonie auch 5 Tage nach Beginn der erfolgreichen Antibiotika-Therapie die signifikante Erniedrigung der DC-Konzentration im Peripheren Blut persistiert. Somit wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Migration der DC in die Lunge über mehrere Tage anhält.
5. Bei Patienten mit Pneumonie wurde festgestellt, dass sich das Muster der Oberflächenantigene ändert, wobei es unter anderem zu einer verstärkten Ausprägung von Fc γ -Rezeptoren (CD32 und CD64) und von TLR9 (Erkennung von pathogenassoziierten molekularen Mustern) kommt. Es wird vermutet, dass es dadurch zu einer besseren Phagozytoseleistung der DC kommt. Dies könnte zu einer Intensivierung der Primärreaktion und einer effektiveren spezifischen Immunantwort führen.

6. Bei Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie wurde in der vorliegenden Studie erstmals gezeigt, dass es 3 Tage nach Einleitung einer spezifischen Hyposensibilisierung zu einem spezifischen Abfall der plasmazytoiden DC (nicht jedoch der myeloiden DC) kommt. Diese Erniedrigung im peripheren Blut, könnte auf eine Rekrutierung von zirkulierenden DC in die Haut, als Organ der Lokalreaktion, zurückzuführen sein. Da pDC in Tiermodellen eine antiallergische Rolle spielen, könnte die Rekrutierung von pDC bei der Entwicklung von immunologischer Toleranz eine Rolle spielen.
7. Bei Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie ist festzustellen, dass sich das Muster der Oberflächenantigene der DC ändert, wobei es unter anderem zu einer signifikant verminderten Ausprägung des Reifemarkers CD40 kommt. Es wird vermutet, dass dieses Phänomen eine Abwanderung reifer DC in das entzündete Gewebe und eine Rekrutierung unreifer DC aus den KM widerspiegelt.
8. Es konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit Hymenoptereingift-Allergie nach Einleitung der Hyposensibilisierung zu einer Hochregulation des Homingrezeptors CCR5 kommt. Dies könnte einer erhöhten Bereitschaft zur Infiltration des entzündeten Gewebes entsprechen. Die Bedeutung der Hochregulation von BDCA-3, welche bereits bei anderen allergischen Erkrankungen gezeigt wurde, ist noch unklar.
9. Eine Studie zur Untersuchung der Langzeiteffekte der Hyposensibilisierung auf die Zahl, die Oberflächenmarker-Expression und die Funktionen der DC ist anzustreben, um die langfristigen Effekte der Hyposensibilisierung auf das adaptive Immunsystem noch besser zu verstehen.
10. Zusammenfassend zeigen die vorliegenden Untersuchungen, dass akute Infektionen und akute allergische Entzündungen einen profunden Einfluss auf die Anzahl und den Phänotyp zirkulierender DC haben. Diese Daten bilden die Grundlage für zukünftige Studien über die Bedeutung des adaptiven Immunsystems bei infektiösen und allergischen Erkrankungen des Menschen.