

Aus dem Institut für Medizinische Immunologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Sekretorisches Immunglobulin A und
Immunglobulin A-Subklassen in Patienten mit rezidivierenden
Infektionen der Atemwege

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Philipp Emanuel Schaar
aus Saarbrücken

Datum der Promotion: 7. Dezember 2018

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	4
Zusammenfassung	6
Summary	8
1 Einleitung.....	10
1.1 Sekretorische Immunität	10
1.2 Das MALT	10
1.3 Immunglobulin A	12
1.4 Sekretorisches Immunglobulin A.....	13
1.5 Selektiver Immunglobulin A Mangel.....	16
1.6 SIgA-Messungen im Speichel.....	19
1.7 MBL und MBL-Mangel	20
1.8 Infektanfälligkeit	21
1.9 Ziele und Fragesetzung	22
2 Methodik.....	23
2.1 Ethik und Datenschutz	23
2.2 Rekrutierung	23
2.2.1 Patientenkohorte.....	23
2.2.2 Kontrollgruppe.....	23
2.3 Ergänzung von anamnestischen Daten	24
2.4 Labortechnische Untersuchungen	25
2.4.1 Speichelsammlung und Blutentnahme.....	25
2.4.2 Messungen von sekretorischem IgA und IgA-Subklassen	26
2.4.3 Messungen von Albumin.....	26
2.4.4 Referenzlaborwerte.....	26
2.5 Ergänzung von Laborwerten	27
2.6 Statistische Auswertung.....	28

2.7	Klinische Daten	29
3	Ergebnisse	31
3.1	Sekretorisches IgA	31
3.1.1	Ergebnisse der sIgA- und Albuminmessungen	31
3.1.2	sIgA/Albumin-Quotienten	34
3.1.3	Abwesenheit von sekretorischem IgA bei Patienten mit RRTI	36
3.1.4	Abhängigkeit der gemessenen Werte vom Alter	37
3.1.5	Abhängigkeit der gemessenen Werte vom Geschlecht	38
3.2	Immunglobulin A	39
3.2.1	Ergebnisse der IgA-Messungen	39
3.2.2	Korrelation von sIgA, IgA und IgA-Subklassen	41
3.3	Immunglobuline G und M	42
3.4	MBL	43
4	Diskussion	44
4.1	sIgA/Albumin-Quotienten versus absolute sIgA-Konzentrationen	44
4.2	Erniedrigte sIgA/Albumin-Quotienten bei Patienten mit RRTI	48
4.3	Kein Einfluss von Alter und Geschlecht auf sIgA/Albumin-Quotienten	49
4.4	Korrelation von sIgA mit IgA und IgA-Subklassen	50
4.5	Korrelation von sIgA mit IgG und IgG-Subklassen	51
4.6	MBL-Mangel und RRTI	51
4.7	Zusammenfassung und Ausblick	52
5	Literaturverzeichnis	54
6	Abbildungsverzeichnis	61
7	Tabellenverzeichnis	62
8	Eidesstattliche Erklärung	63
9	Lebenslauf	64
10	Danksagung	65

Abkürzungsverzeichnis

APRIL	A proliferation inducing ligand
AS	Aminosäure
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
BAFF	B-cell activating factor
BALT	Bronchus-associated lymphoid tissue
CD	Cluster of Differentiation
CFS	Chronic Fatigue Syndrome
CVID	Common Variable Immunodeficiency
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ELVIS	Erreger, Lokalisation, Verlauf, Intensität, Summe
ESID	European Society for Immunodeficiencies
Fab	Antigen-binding fragment
Fc	Crystallisable Fragment
GALT	Gut-associated lymphoid tissue
GIT	Gastrointestinaltrakt
GII.	Glandulae
IDF	Immune Deficiency Foundation
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
JMF	Jeffrey Modell Foundation
KG	Kontrollgruppe
LRTI	Lower respiratory tract infection
MALT	Mucosa-associated lymphoid tissue
MBL	Mannose-bindendes Lektin
MW	Mittelwert
NALT	Nasopharynx-associated lymphoid tissue
p	p-Wert, Überschreitungswahrscheinlichkeit, Signifikanzwert
PC	Plasma Cell
pIgR	polymerer Immunglobulin-Rezeptor
r	Korrelationskoeffizient nach Spearman
rez.	rezidivierend
RID	Radiale Immundiffusion
RRTI	Recurrent respiratory tract infections
SC	Secretory Component

SD	Standard Deviation
sekr.	sekretorisch
slgA	Sekretorisches Immunglobulin A
slgAD	Selective Immunglobulin A deficiency
TACI	Transmembrane activator and CAML interactor
TLR	Toll-like receptor
URTI	Upper respiratory tract infection
vs.	versus

Zusammenfassung

Einleitung

Die immunologischen Grundlagen für rezidivierende Infektionen der Atemwege (RRTI) bei Erwachsenen sind unzureichend erforscht. Eine Ursache kann selektiver Immunglobulin A Mangel (slgAD) sein. Er ist durch die Abwesenheit von IgA im Serum definiert und gilt als der häufigste primäre Immundefekt. Symptomatische Patienten leiden vor allem unter RRTI, ein Teil der Patienten bleibt allerdings asymptomatisch. IgA im Serum ist jedoch nur bedingt aussagekräftig, da sekretorisches IgA (slgA) von lokalen Plasmazellen in der Schleimhaut sezerniert wird, während systemisch zirkulierendes IgA von Plasmazellen aus dem Knochenmark stammt.

Weitere Ursachen für rezidivierende Infektionen der Atemwege können erniedrigte Serumspiegel von IgG, IgG-Subklassen oder Mannose-bindendem Lektin (MBL) darstellen.

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen sekretorischem IgA, rezidivierenden Infektionen der Atemwege sowie weiteren immunologischen Laborparametern bei Patienten, die sich in der Ambulanz für Immundefekte am Institut für Medizinische Immunologie der Charité Universitätsmedizin Berlin vorstellten.

Methodik

Mit Hilfe der Salivette wurden von 50 Patienten mit RRTI und 50 gesunden Probanden Speichelproben gewonnen und slgA mit einem radialen Immundiffusionsverfahren sowie Albumin mit einem ELISA bestimmt. In Serumproben der Patientengruppe wurden IgA1 und IgA2 durch radiale Immundiffusion bestimmt. Es konnte bei 38 Patienten mit RRTI und 24 gesunden Probanden Albumin im Speichel nachgewiesen und der slgA/Albumin-Quotient berechnet werden, um die IgA-Werte zu normieren. In der Patientengruppe wurden zusätzlich die Serumspiegel der Immunglobuline A, G, G1, G2, G3, G4, M und von MBL erfasst und mit den slgA/Albumin-Quotienten korreliert.

Ergebnisse

In den Albumin-positiven Proben hatten 39% (15/38) der Patienten mit RRTI, aber nur 21% (5/24) der gesunden Kontrollen, eine nicht nachweisbare IgA-Sekretion. Die sIgA/Albumin-Quotienten waren in der Patientengruppe signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe ($p=0,0188$). Im Serum zeigten insgesamt 20 Patienten einen Mangel an IgA- (n=8), IgG- (n=7) und/oder der IgG-Subklassen (n=13). Erniedrigte Serumspiegel von IgG2 und IgG4 korrelierten signifikant mit vermindertem Serum-IgA. Patienten ohne Immunglobulinmangel im Serum zeigten zu 27% (5/18) keine IgA-Sekretion, Patienten mit Immunglobulinmangel im Serum zu 50% (10/20). IgA2 im Serum korrelierte stärker mit den sIgA/Albumin-Quotienten als IgA1. Alle Patienten mit erniedrigtem IgA2 im Serum zeigten eine fehlende IgA-Sekretion im Speichel. 21% (8/38) der Patienten hatten einen MBL-Mangel, der nicht mit sIgA im Speichel oder IgA im Serum korrelierte.

Schlussfolgerung

Sekretorisches IgA scheint mit erhöhter Anfälligkeit für RRTI einherzugehen. Bei Patienten mit RRTI könnte deshalb die IgA-Sekretion die Diagnostik ergänzen. Die Sensitivität der Albuminbestimmung muss verbessert werden, da sIgA/Albumin-Quotienten besser zu standardisieren sind als absolute sIgA-Konzentrationen im Speichel.

Summary

Introduction

The immunological causes of recurrent respiratory tract infections (RRTI) in adults are poorly understood. One cause may be selective immunoglobulin A deficiency (slgAD). This is defined by the absence of IgA in serum and is considered the most common primary immunodeficiency. Symptomatic patients suffer mainly from RRTI but some patients remain asymptomatic. Serum levels of IgA are of limited diagnostic value because secretory IgA (slgA) derives from local plasma cells in the mucosa while circulating IgA is produced by plasma cells in the bone marrow.

Other causes of RRTI may be deficiencies of IgG, IgG subclasses or mannose-binding lectin (MBL).

The aim of this study is the investigation of the connection between secretory IgA in saliva, RRTI and other immunological laboratory parameters in patients who presented to the Outpatient Clinic for Immunodeficiencies at the Institute for Medical Immunology.

Methods

We obtained saliva in 50 patients with RRTI and 50 healthy controls and measured slgA by radial immunodiffusion and albumin by ELISA. Additionally we measured IgA1 and IgA2 in patients' sera by radial immunodiffusion. We could calculate slgA/albumin ratios in 38 patients suffering of RRTI, as well as 24 controls. In the patient group we additionally obtained serum levels of the immunoglobulins A, G, G1, G2, G3, G4, M as well as MBL.

Results

In the albumin positive samples 39% (15/38) of the patients with RRTI showed a missing sIgA secretion, but only 21% (5/24) of the healthy controls. SIgA/albumin ratios were significantly lower in patients with RRTI than in controls ($p=0.0188$). Decreased immunoglobulins in serum were IgA ($n=8$), IgG ($n=7$) and IgG-subclasses ($n=13$). IgG2 and IgG4 correlated significantly with IgA in serum.

27% (5/18) of patients with normal immunoglobulins in serum showed no sIgA secretion, but 50% (10/20) of patients with decreased immunoglobulins in serum. IgA2 in serum correlated stronger with the sIgA/albumin ratios than IgA1. All patients with decreased IgA2 in serum showed a missing sIgA secretion in saliva. 21% (8/38) of the patients had MBL deficiency which neither correlated with sIgA in saliva or IgA in serum.

Conclusion

Decreased secretory IgA seems to be associated with recurrent respiratory tract infections. In Patients with RRTI the evaluation of sIgA secretion could therefore enhance clinical diagnostics. Sensitivity of albumin measurement needs to be improved since sIgA/albumin ratios are better to be standardised than absolute sIgA concentrations in saliva.

1 Einleitung

1.1 Sekretorische Immunität

Die Schleimhäute des menschlichen Körpers bilden eine Fläche von ca. 300m² und beherbergen in ihrer symbiontischen Flora bis zu 36.000 verschiedene Bakterienspezies.¹ Sie bilden die erste Verteidigungslinie des Körpers gegen fast alle Pathogene. Ihre zweite Hauptaufgabe besteht im Gegensatz dazu in der Aufnahme und Abgabe von körperfremden und körpereigenen Stoffen. Neben mechanischen Barrieren wie den Epithelien, der Produktion von Schleim und dessen Abtransport durch Zilienschlag und Peristaltik sowie anderen unspezifischen Abwehrmechanismen wie der Glykokalix, der Magensäure, Lysozymen, Defensinen und dem Komplementsystem, spielt die spezifische Immunantwort eine entscheidende Rolle in der sekretorischen Immunität. Deren Effizienz und Differenzierung ist elementar mit der Produktion von Immunglobulin A verknüpft. Anfälligkeit und Fehlfunktionen dieses Systems haben schwerwiegende Folgen, da fast alle Krankheitserreger über die Schleimhäute in den menschlichen Organismus gelangen. Infektionen der Schleimhäute sind auch heute weltweit noch die häufigste Todesursache bei Kindern unter fünf Jahren und in 60% der Fälle ist immer noch keine Impfung verfügbar.² Forschung an sekretorischer Immunität ist für die Medizin also weiterhin von großer Wichtigkeit.

1.2 Das MALT

Das anatomische Korrelat zum sekretorischen Immunsystem bildet das Mucosa-associated lymphoid tissue (MALT). Man kann es funktionell in zwei unterschiedliche Kompartimente unterteilen: Auf der einen Seite spricht man von einem Induktionskompartiment aus Peyer-Plaques und einzelnen Lymphfollikeln sowie dem spezialisierten Epithel der Schleimhäute, in denen nach Antigenkontakt eine Immunantwort induziert wird. Das Effektorkompartiment auf der anderen Seite hingegen besteht aus den Lymphozyten der Lamina propria und den Drüsen des Nasopharynx und anderer Effektororgane.²

Peyer-Plaques und Lymphfollikel des MALT zeigen, ähnlich wie Lymphknoten, eine Architektur aus B-Zell-Follikeln, intermediären T-Zell-Zonen und Antigen-präsentierenden Zellen, wie dendritischen Zellen und Makrophagen, besitzen allerdings keine afferenten Lymphbahnen.^{2,3} Pathogene gelangen physiologisch

stattdessen über sogenannte Microfold-Zellen in die Mukosa, welche apikal über Endozytose Antigene aufnehmen und basal an die Effektorzellen abgeben.⁴ Auch dendritische Zellen übernehmen diese Aufgabe, indem sie das Epithel mit ihren Fortsätzen penetrieren, apikal Antigene aufnehmen und prozessiert basal präsentieren.⁵

Anatomisch lässt sich das MALT in NALT (nasopharynx-associated lymphoid tissue), BALT (bronchus-associated lymphoid tissue) und GALT (gut-associated lymphoid tissue) unterteilen. Aktivierte B-Zellen migrieren durch efferente Lymphbahnen und das periphere Blut in diese Schleimhautkompartimente.⁶ Die sekretorische Immunantwort bleibt selten auf ein solches begrenzt, sondern erfolgt an verschiedenen Stellen, je nachdem welche Adhäsionsmoleküle exprimiert werden und welche Homing-Rezeptoren die B-Zellen eines Induktionskompartiments besitzen.⁷ Durch diesen Mechanismus wird gewährleistet, dass auch in Kompartimenten, welche noch keinen direkten Antigen-Kontakt hatten, spezifische Antikörper vorhanden sind. Eine besonders potente sekretorische Immunisierung erfolgt nach Antigen-Kontakt in den Peyer-Plaques des Gastrointestinaltrakts, nach welcher man auch spezifische Effektorzellen und Antikörper in nicht-intestinalen Schleimhäuten des Nasopharynx und der Bronchien nachweisen kann.⁸

Jedoch hat diese weitläufige Immunisierung auch ihre Grenzen. So ist für die Immunantwort der Speicheldrüsen auch die lokale Induktion im NALT am potentesten.⁹ Zu seinem Induktionskompartiment gehören insbesondere die Tonsillen und Adenoide sowie der Waldeyer Ring.¹⁰ Nach direkter Antigen-Aufnahme, zum Beispiel durch nasale Applikation, lassen sich spezifische B-Zell-Reaktionen lokal und systemisch nachweisen, allerdings nicht in den Schleimhäuten des Gastrointestinaltrakts.¹¹ Grund dafür sind die verschiedenen Homing-Profile, die aktivierte B-Zellen aus NALT und GALT aufweisen. Aktivierte B-Zellen aus dem NALT exprimieren weder $\alpha 4\beta 7$ -Integrin noch Chemokin-Rezeptor CCR9, welche für das Homing in die Schleimhäute des GIT eine zentrale Rolle spielen.¹² Stattdessen werden vor allem die Homing-Moleküle CCR10 und $\alpha 4\beta 1$ exprimiert, deren Liganden nur in den Speicheldrüsen und den Bronchien nachzuweisen sind.¹³ NALT-spezifische B-Zellen exprimieren zudem die systemischen Homing-Moleküle L-Selektin (CD26L) und CCR7.¹⁰ Das NALT induziert deshalb auch eine systemische Immunisierung, ein Ansatz der bereits in der

sublingualen Applikation bei Pollen-Desensibilisierung und Schluckimpfungen genutzt wird.¹⁴

1.3 Immunglobulin A

IgA bildet im Serum mit Konzentrationen von 70 - 400 mg/dl (Labor Berlin) die zweitgrößte Antikörperfraktion nach IgG. Allerdings übersteigt die IgA-Produktion von 66 mg/kg am Tag die aller anderen Immunglobuline zusammen.¹⁵ Diese Konstellation kommt dadurch zustande, dass ein Großteil des gebildeten IgA direkt über die Schleimhäute sezerniert und mit den Sekreten des Körpers ausgeschieden wird.

Der Klassenwechsel zu IgA+ B-Zellen benötigt in der Regel zwei Signale. Das erste Signal wird durch Zytokine gegeben, welche die Transkription in den B-Zellen aktivieren. Hier sind insbesondere TGF- β , sowie die Interleukine 2, 4, 5, 6 und 10 von großer Bedeutung.¹⁶ Ihre Wirkung wird von den dendritischen Zellen der Mukosa durch die Freisetzung von Retinoiden verstärkt.¹⁷ Das zweite Signal erfolgt in der Regel durch C40-CD40L-Interaktionen, kann jedoch auch T-Zell-unabhängig erfolgen. Die Anwesenheit von B-cell activating factor (BAFF) und A proliferation inducing ligand (APRIL) und deren Bindung an die B-Zell-Rezeptoren Transmembrane activator and CAML interactor (TACI), BAFF-Rezeptor und B-cell maturation antigen (BCMA) kann die Rolle von CD40-CD40L-Interaktionen beim IgA-Klassenwechsel ersetzen.¹⁸ BAFF und APRIL werden von dendritischen Zellen und Makrophagen, aber auch von Epithelzellen der Schleimhäute nach Toll-like receptor (TLR)-Aktivierung sezerniert.¹⁹

Ein IgA Molekül besteht aus zwei leichten und zwei schweren Ketten, welche jeweils aus einer V-Domäne und einer (im Falle der leichten Ketten) oder drei (im Falle der schweren Ketten) C-Domänen bestehen und hat ein molekulares Gewicht von 160kDa. Die schweren Ketten sind entweder α 1-Ketten oder α 2-Ketten und werden auf Chromosom 14 codiert.²⁰ Sie differenzieren die beiden IgA-Subklassen IgA1 und IgA2. Am C-Terminus der α -Ketten besitzen diese ein 18 Aminosäuren (AS) langes Schwanzstück sowie zwischen den Domänen CH1 und CH2 eine Hinge-Region, die bei α 1-Ketten aus 26 AS und in α 2-Ketten aus 13 AS besteht. Durch die längere Hinge-Region ist IgA1 anfälliger für proteolytische Enzyme, die von vielen humanpathogenen Organismen gebildet werden, aber auch flexibler als IgA2 und somit effektiver in der Antigen-Bindung.²¹ Neben diesen strukturellen Unterschieden gibt es auch funktionale Unterschiede zwischen den IgA-Subklassen. So stammen IgA-Antikörper für

Protein-Antigene meistens IgA1, Antikörper für Lipopolysaccharide häufiger aus der IgA2-Subklasse.²² Beide IgA-Subklassen haben gemeinsam, dass sie sehr glykanreich sind. Glykane machen ca. 7% (IgA1) bzw. 9% (IgA2) der Molekülmasse aus.²³

Systemisch zirkulierendes IgA besteht zu ungefähr 84% aus der IgA1-Subklasse.²⁴ Dies spiegelt das Verhältnis von IgA1+ und IgA2+ Plasmazellen (PC) im Knochenmark wider und legt nahe, dass systemisch zirkulierendes IgA ausschließlich dort produziert wird.²⁵

Sowohl IgA1 als auch IgA2-Moleküle sind fähig Polymere zu bilden. Dazu existiert in polymeren IgA-Molekülen die J Chain, eine Polypeptid-Kette von 15-16kDa, über welche die IgA-Monomere an ihrem C-Terminus über Disulfidbrücken verbunden werden.²⁶ Die Polymerisation erfolgt bereits in der B-Zelle am endoplasmatischen Retikulum. Hier scheint die Transkription der J Kette entscheidend dafür zu sein, ob eine Zelle monomeres oder polymeres IgA produziert. In Plasmazellen im Knochenmark kann man dementsprechend keine J Kette nachweisen, Plasmazellen in Schleimhäuten sind fast immer J Ketten positiv.²⁷ Serum-IgA liegt deshalb zu 80-99% in seiner monomeren Form vor, während sekretorisches IgA meist dimer vorliegt.²⁴

Über die Aufgaben von IgA im Serum ist nur wenig bekannt. Wahrscheinlich erfüllt es dort vor allem regulatorische Aufgaben. So kann es zum Beispiel an Monozyten die Freisetzung von inflammatorischen Zytokinen wie TNF- α und IL-6 unterbinden und die IgG- bzw. IgM-vermittelte Inflammation sowohl über die Blockade von Epitopen als auch seine modulatorische Wirkung auf Phagozyten modulieren.²⁸

1.4 Sekretorisches Immunglobulin A

Sekretorisches IgA kann in allen Sekreten des menschlichen Körpers als dominantes Immunglobulin nachgewiesen werden.²⁹ Seine Verteilung unterscheidet sich jedoch in verschiedenen Sekreten und korreliert mit der Verteilung von IgA+ PC. In den Tränendrüsen und der Mukosa des Darms ist die Dichte an IgA+ PC und damit auch die IgA-Sekretion ungefähr sieben Mal höher als in den Speicheldrüsen.³⁰ Unter den Speicheldrüsen zeigen die Gll. submandibulares und sublinguales eine etwa doppelt so hohe Dichte an IgA+ Plasmazellen wie die Gll. parotidaeae, tragen aber auch weniger zur Gesamtspeichelsekretion bei.^{31,32}

Ungefähr 86% aller Immunglobuline im Speichel sind IgA. Die restlichen Immunglobuline sind IgM mit 6%, IgG mit 5% und IgD mit 3%.³³ Im Gegensatz zu

anderen Immunglobulinen werden IgA und IgM zu 95% über einen selektiven Rezeptor sezerniert. IgG, welches in Körpersekreten nachgewiesen werden kann, gelangt hingegen nur über Transsudation und deshalb in geringen Mengen auf die luminal Seite des Epithels.³³

Bereits 1961 wurden im Labor molekulare Unterschiede zwischen Immunglobulin A in seiner sekretorischen und seiner Serumform entdeckt.³⁴ Ein ca. 80kDa schweres Epitop unterscheidet sekretorisches von systemischem IgA und wird secretory component genannt.³⁵ Diese secretory component stammt aus der Sekretion des IgA durch spezialisierte Epithelzellen des Drüsengewebes, welche auf ihrer basolateralen Zellmembran einen polymeren Immunglobulin-Rezeptor (pIgR) von 100kDa besitzen, welcher aus fünf extrazellulären Domänen, einer transmembranösen Domäne und einem zytoplasmatischen Schwanz besteht.^{36,37} Die erste Domäne des pIgR bindet nicht-kovalent an die J Chain sowie spezifische Domänen des IgA. Das so gebundene IgA-Polymer wird inklusive pIgR endozytiert, in einem Endosom durch die Zelle transportiert und auf der luminalen Seite wieder exozytiert. Dieser Vorgang heißt Transzytose.³⁶ Dabei verbleiben die extrazellulären Domänen des pIgR am IgA-Polymer und bilden die secretory component. Sie ist zusätzlich über Disulfidbrücken gebunden und bietet aufgrund ihrer kohlenhydratreichen Struktur Schutz vor bakterieller Proteolyse. Der pIgR gehört genetisch ebenfalls zur Immunglobulin-Superfamilie.³⁸

Da der pIgR nur an die J Kette binden kann, werden auf diesem Weg nur IgA Dimere sezerniert, weshalb im Speichel nachweisbares sIgA grundsätzlich dimer ist. Messbare Spuren an monomerem IgA im Speichel resultieren zum größten Teil aus dessen Transsudation.³⁹ Die IgA-Subklassen-Verteilung unterscheidet sich zwischen den verschiedenen Schleimhäuten, jedoch ist IgA2 im Speichel im Gegensatz zum Serum die dominante IgA-Subklasse.^{12,20}

Der ständige Kontakt der Schleimhäute mit zahlreichen pathogenen und apathogenen Antigenen hat die Entwicklung von spezialisierten Toleranzmechanismen unumgänglich gemacht.⁴⁰ Dabei kann man grundsätzlich zwei verschiedene Mechanismen unterscheiden: Immuntoleranz und Immunexklusion. Immuntoleranz, oft auch als orale Toleranz bezeichnet, hängt hauptsächlich von regulatorischen T-Zellen ab, welche nach Antigen-Präsentation durch dendritische Zellen proliferieren.⁴¹ Ähnliche Mechanismen greifen sowohl bei der Nahrungsmitteltoleranz als auch bei der Toleranzbildung

gegenüber der mutualistischen Schleimhautflora.⁴² Die Immunexklusion hingegen läuft auf humoraler Ebene ab und ist ein Hauptwirkmechanismus von Immunglobulin A. Im Rahmen dieses Vorgangs bindet sIgA an pathogene Epitope und neutralisiert diese ohne eine Immunreaktion hervorzurufen, da sIgA grundsätzlich anti-inflammatorisch wirkt.²⁰ Es kann das Komplement-System nicht über den klassischen Weg und nur eingeschränkt über den alternativen Weg aktivieren. Allerdings konnte gezeigt werden, dass IgA in seiner polymeren Form über MBL zu einer Aktivierung des Komplementsystems führen kann.⁴³ Viele Phagozyten exprimieren zwar einen Fc α -Rezeptor (CD89) für IgA, zeigen aber nur geringe Affinität zu IgA/Antigen-Komplexen. Erst nachdem der Fc α -Rezeptor in Phagozyten hochreguliert und diese aktiviert wurden, besitzt IgA opsonierende und inflammatorische Wirkung. Dies geschieht durch die Ausschüttung von TNF- α und IL-8 durch Epithelzellen, zum Beispiel nach Kontakt mit aggressiven Pathogenen über TLR.²⁸

Dimeres sIgA besitzt vier antigen-bindende Epitope (Fab) und kann dadurch besonders gut Antigene binden und agglutinieren. Diese Antigen-Antikörper-Komplexe schirmen die Pathogene durch den hohen Anteil an Glykanen der α -Ketten und der SC effektiv ab und erleichtern deren Abtransport im Schleim über Zilienschlag und Peristaltik. Diese Wirkung wird insbesondere dadurch verstärkt, dass sIgA zudem gezielt Muzine bindet.⁴⁴ SIgA belegt Mikroben mit einem negativ geladenen hydrophilen Mantel, welcher ihre Adhäsion an den Schleimhäuten unterbindet. Die Agglutination betrifft sowohl kommensale als auch pathogene Mikroben und verhindert deren Penetration des Schleimhautepithels. So zeigen gestillte Kinder eine geringere Infektionsrate an systemischen und respiratorischen Infektionen, da mit der Muttermilch aufgenommenes sIgA pathogene Epitope schon luminal blockiert.⁴⁵ SIgA kann aber auch an kritische Epitope von zum Beispiel Viren oder Toxinen binden und dadurch ihre pathogene Aktivität direkt blockieren.²⁴ Zudem besitzt sIgA die Fähigkeit, während seiner Transzytose mit Hilfe des pIgR intrazelluläre Viren zu neutralisieren, was in vivo für viele Viren nachgewiesen werden konnte.⁴⁶ Bei alledem weist IgA eine hohe Kreuzreaktivität auf.⁴⁷

1.5 Selektiver Immunglobulin A Mangel

SIgAD (sekretorische IgA Defizienz - ICD10 D80.2) ist definiert durch ein Serum-IgA von unter 0,7 mg/dl (0,07g/L), bei gleichzeitig normalen IgG- und IgM-Werten.⁴⁸ Die Diagnose kann erst ab einem Alter von vier Jahren diagnostiziert werden, da die IgA-Spiegel im Serum zuvor großen Schwankungen unterliegen.²⁰ Seine Prävalenz beträgt unter Europäern durchschnittlich 1:600, schwankt aber zwischen verschiedenen ethnischen Gruppen stark.⁴⁹⁻⁵¹ SIgAD ist der häufigste primäre Immundefekt.²⁰

Patienten mit selektivem IgA-Mangel leiden vor allem an rezidivierenden Infektionen. In einer neueren Studie waren dabei Infekte der oberen und unteren Atemwege (RRTI) am häufigsten.⁵² Eine Studie von Jorgensen et al. mit 32 SIgAD-Patienten und 63 gematchten Kontrollen zeigte eine 3,5-fach höhere Infektionsanfälligkeit über die letzten fünf Jahre bei SIgAD-Patienten. Dies betraf sowohl Infekte der oberen Atemwege, wie Laryngitis und Pharyngitis, als auch Infekte der unteren Atemwege, wie Bronchitiden und Pneumonien.⁵³ Auch die Inzidenz von radiologisch bestätigten Pneumonien über die letzten zwei Jahre war in der SIgAD-Gruppe signifikant höher. Zystitiden und gastrointestinale Infektionen spielten eher eine untergeordnete Rolle. Zum selben Ergebnis kamen auch Follow-Up-Studien von Aghammohammadi et al. und Koskinen et al.^{54,55}

Störungen der Immuntoleranz stellen die zweithäufigste Komplikation bei SIgAD dar. Insbesondere Patienten mit systemischem Lupus erythematoses, Morbus Basedow, glutensensitiver Enteropathie und juveniler idiopathischer Arthritis sind signifikant häufiger IgA-defizient als die Normalbevölkerung.⁵⁶ In der Studie von Jorgensen et al. reagierten Patienten mit SIgAD zudem mehr als doppelt so häufig auf mindestens ein Antigen in einen Pricktest als die Kontrollgruppe.⁵³ Es ist nicht geklärt, ob der SIgAD tatsächlich ursächlich dafür ist.⁵⁷ Es wird vermutet, dass SIgAD und Autoimmunerkrankungen eher eine gemeinsame genetische Ursache haben, als sich gegenseitig zu bedingen.⁵⁶

Patienten mit SIgAD können außerdem anti-IgA-Antikörper entwickeln und dann anaphylaktisch auf Bluttransfusionen reagieren. Dieses Risiko besteht auch bei Plasma- und Immunglobulintransfusionen, da diese trotz Aufbereitung IgA enthalten können.⁵⁸ Anti-IgA-Antikörper können auch bei der Common variable immunodeficiency (CVID) auftreten.⁵⁹

Die Ursache des sIgAD ist auf Stammzellebene zu suchen, da er bei einer Knochenmarktransplantation übertragen werden kann.⁶⁰ Auffälligkeiten der α 1- und α 2-Gene auf Chromosom 14 sind bei sIgAD-Patienten in der Regel nicht zu beobachten und treten nur in Fällen auf, in denen gleichzeitig andere Immunglobulinklassen wie Ig2 und Ig4 betroffen sind.⁶¹ Bei Patienten mit sIgAD können IgA-exprimierende B-Zellen nachgewiesen werden. Diese sind allerdings von einem unreifen Typ, der gleichzeitig noch IgD und IgM exprimiert und den vollständigen Klassenwechsel zu IgA+ PCs nicht vollziehen kann.^{62,63} Studien belegten in vitro zahlreiche Auffälligkeiten im Zytokinmuster dieser B-Zellen, so zum Beispiel bei IL-4, IL-6, IL-7, IL-10 und TGF- β , eine entscheidende Rolle scheint aber IL-21 zuzukommen.²⁰ So konnte gezeigt werden, dass IL-21 im Serum von Patienten mit sIgAD ex vivo zu einem Klassenwechsel der IgA+ PCs führen kann.⁶⁴

Die genetische Ursache für sIgAD konnte noch nicht eindeutig identifiziert werden. Bei betroffenen Patienten konnte ein gehäuftes Auftreten des HLA A1-B8-DR3-DQ2-Haplotyps (MHC 8.1) beobachtet werden.⁶⁵ Der HLA B7-DR15-DQ6-Haplotyp hingegen korreliert negativ mit dem Auftreten der Krankheit. Weitere Gene, die nicht MHC-assoziiert sind, wie zum Beispiel IFIH1 und CLEC16A, sind nach neuen Erkenntnissen ebenfalls mit sIgAD assoziiert.⁶⁶ SIgAD und CVID weisen familiäre Häufungen und Ähnlichkeiten in prädisponierenden Allelen auf. Da beide Störungen ineinander übergehen können, wird vermutet, dass in ihrer Pathogenese Gemeinsamkeiten bestehen oder sie sogar zum selben Krankheitsbild gehören.⁵⁹

Die Mehrheit der Patienten mit sIgAD bleibt jedoch symptomfrei, weshalb sIgAD in der Regel als milder Immundefekt angesehen wird. Die genaue Prozentzahl schwankt zwischen den verschiedenen Quellen stark. Bis heute gab es keine repräsentative Untersuchung zu diesem Thema, auch wenn neuere Studien vermuten lassen, dass die Symptomatik des sIgAD lange unterschätzt wurde.^{20,53,54} Für diese Diskrepanz zwischen immunologischem und klinischem Phänotyp gibt es mehrere Erklärungsversuche, allerdings bleibt die genaue Ursache weiterhin unbekannt. Patienten bei denen neben der IgA-Produktion auch die Produktion einer weiteren Immunglobulinklasse eingeschränkt ist, weisen insgesamt häufiger Symptome auf.⁶⁷ Eine Rolle spielt auch, dass bei Patienten mit IgA-Mangel IgM zu Teil dessen Aufgaben übernimmt und von Patienten mit sIgAD auch vermehrt sezerniert wird.⁶⁸ Wie IgA kann

es mit Hilfe der J-Kette polymerisieren und durch den pIgR sezerniert werden. Es ist allerdings schlechter vor bakterieller Proteolyse geschützt, da die SC keine Disulfidbrücken mit ihm ausbilden kann.⁶⁹ Polymeres IgM liegt zudem vorwiegend in Form von Pentameren vor, welche aufgrund ihrer Größe schlechter durch die stromale Matrix der Schleimhäute diffundieren können und dadurch schlechteren Zugang zu basolateralen pIgR der Epithelien haben.⁷⁰ Eine Studie unter IgA-defizienten Probanden konnte allerdings keinen Zusammenhang zwischen IgM-Konzentrationen im Speichel und deren Infektanfälligkeit feststellen.⁷¹ Ein weiterer Grund für die Symptomlosigkeit bei einigen Patienten mit sIgAD ist, dass auch Menschen ohne nachweisbares IgA im Serum zuweilen trotzdem lokale IgA+ PC und genügend sIgA besitzen.⁷² In diesem Fall liegt die Ursache für die Abwesenheit systemischen IgA möglicherweise in einem gestörten Homing der B-Zellen ins Knochenmark.

Galt selektiver IgA-Mangel lange noch als leichter Immundefekt, so zeigen neuere Studien signifikante Defizite der Betroffenen in den Bereichen Mortalität und Morbidität.⁷³ Eine große Studie zur health-related quality of life (HRQL) von Jorgensen et al. zeigte große Beeinträchtigungen von Patienten mit selektivem IgA-Mangel.⁷⁴ Die Verbesserung von Diagnostik und Behandlung des IgA-Mangels ist also von Bedeutung.

1.6 SIgA-Messungen im Speichel

Die Bestimmung von SIgA im Speichel ist schwierig und mit vielen methodischen Problemen bezüglich unterschiedlicher Handhabung von Sammlung, Verarbeitung und Lagerung behaftet. Zudem unterscheiden sich die erhobenen Konzentrationen je nach verwendeter Messmethode, zum Beispiel ELISA, Immundiffusion und Nephelometrie.⁷⁵ Bis heute konnte sich kein Standard etablieren.³³ Hinzu kommt, dass neben der unterschiedlichen Verdünnung des Speichels je nach aktueller Sekretionsleistung der Speicheldrüsen, der absolute SIgA-Spiegel im Speichel offenbar auch durch zahlreiche weitere Faktoren beeinflusst wird. So wurden zum Beispiel in verschiedenen Studien signifikante Unterschiede bezüglich Alter, körperlicher und geistiger Verfassung, Aktivität, Ernährung sowie Alkohol- und Nikotinabusus festgestellt.⁷⁶⁻⁸² Absolute SIgA-Konzentrationen scheinen daher von geringer klinischer Aussagekraft zu sein.

Bei der Messung des sekretorischen IgA im Speichel sind zwei verschiedene Verfahren zu unterscheiden, was die Vergleichbarkeit von Studien stark einschränkt. Es lässt sich sowohl die Sekretionsrate von SIgA als auch die absolute SIgA-Konzentration im Speichel messen. Die Messung der absoluten Konzentration stellt das einfachere Verfahren dar, da nur ein Wert bestimmt werden muss. Um die Sekretionsrate an SIgA zu bestimmen, muss zusätzlich zur Speichelentnahme, in welcher die SIgA-Konzentration gemessen wird, eine weitere Speichelsammlung erfolgen, bei welcher der gesamte produzierte Speichel über einen gewissen Zeitraum abgenommen werden muss. Durch Division von Menge und Zeit erhält man so den Speichelfluss. Dieser ist mit der gemessenen SIgA-Konzentration zu multiplizieren um die SIgA-Sekretionsrate zu erhalten.⁷⁹

Neben der Messung im Gesamt-Speichel, gibt es auch die Möglichkeit die SIgA-Konzentration des Parotis-Sekrets direkt zu messen oder auch die SIgA-Sekretionsrate der Parotis zu messen. Dieses Verfahren liefert aufgrund der unterschiedlichen Verteilung an IgA+ PC durchschnittlich höhere SIgA-Spiegel als die Messung im Gesamt-Speichel und ist insgesamt aufwendiger in der Durchführung.⁸³ Je nachdem welche Methode zur Speichelsammlung gewählt wird, verändert sich die durchschnittliche Verdünnung des Speichels und damit die gemessenen Konzentrationen.⁸⁴

Da die Messung der Sekretionsraten der Speicheldrüsen ebenfalls sehr aufwendig ist, wird meistens die einfacher zu bestimmende absolute Konzentration gemessen. Diese kann mit der Albumin-Konzentration des Speichels in Bezug gesetzt werden, um eventuelle Verfälschungen, zum Beispiel durch Verdünnungen oder individuell unterschiedliche Speichelkonsistenzen, zu verhindern. Albumin wird nicht aktiv sezerniert, sondern gelangt durch Transsudation aus den Kapillaren in den Speichel.⁸⁵ Albumin-Konzentrationen im Speichel hängen im Gegensatz zu sIgA-Konzentrationen allerdings nur wenig von Faktoren wie Geschlecht und Alter ab.^{86,87} Albumin bleibt trotzdem der am einfachsten zu bestimmende Parameter um Schwankungen der Speichelsekretion und -konsistenz auszugleichen und die gemessenen absoluten sIgA-Konzentrationen vergleichbar zu machen.³³

1.7 MBL und MBL-Mangel

Mannose-bindendes Lektin ist ein Akute-Phase-Protein, das strukturelle Ähnlichkeit mit dem Komplementfaktor C1 aufweist. Es bindet an bakterielle Monosaccharide wie Mannose und Fucose, kann so polymerisieren und über Serinproteasen wie MASP-2 und MASP-1 den klassischen Weg des Komplementsystems aktivieren. Dieser Umweg wird auch Lektin-Weg genannt.⁸⁸ Mutationen im MBL-2 Gen werden autosomal kodominant vererbt und führen zum MBL-Mangel, heterozygote Träger (A/0) der Mutation haben noch ungefähr 10% des normalen MBL-Spiegels, homozygote Träger (0/0) unter 1%.⁸⁹ Unter Kaukasiern tragen ca. 60% den A/A-Wildtyp, 30% den A/0-Genotyp und 10% 0/0-Genotyp.⁹⁰

MBL spielt insbesondere in den ersten sechs Lebensmonaten, bevor sich eine adaptive Immunantwort etablieren kann, eine entscheidende Rolle in der unspezifischen Immunabwehr. Auch bei anderweitig beeinträchtigtem Immunsystem, zum Beispiel im Rahmen einer HIV-Infektion oder einer Chemotherapie, stellt der MBL-Mangel eine wichtige Komorbidität dar.⁹¹ Allerdings zeigen Studien, dass ein Mangel an MBL auch bei Patienten ohne Komorbidität Ursache für häufigere und fulminantere Infektionen sein kann.⁹²

sIgA kann, indem es MBL bindet, ebenfalls den Lektin-Weg des Komplementsystems aktivieren.⁴³ In Studien konnte bisher allerdings kein Synergismus von sIgAD und MBL-Mangel festgestellt werden.⁶⁷

1.8 Infektanfälligkeit

Einen akzeptierten Konsens, ab wann eine Infektanfälligkeit der Atemwege als pathologisch anzusehen ist, gibt es nicht. Die sichersten Daten zur physiologischen Häufigkeit von Infektionserkrankungen der Atemwege stammen aus einer prospektiven Kohortenstudie von Monto et al. aus den USA, die über 5363 Personenjahre die Infektanfälligkeit für Atemwegsinfektionen dokumentierte. Im Alter von 0 bis 4 Jahren betrug die Infektionshäufigkeit durchschnittlich 4,9 pro Jahr, im Alter von 5 bis 19 Jahren 2,8 pro Jahr, im Alter von 20 bis 39 Jahren 2,2 pro Jahr und im Alter über 40 Jahre 1,6 pro Jahr.⁹³

2008 wurden von der ESID (European Society for Immunodeficiencies) sechs Warnzeichen für einen primären Immundefekt bei Erwachsenen vorgestellt.⁹⁴ Eines dieser Warnzeichen sind rezidivierende Infektionen, allerdings macht die ESID keine Angaben darüber, ab wann solche als pathologisch anzusehen sind. Selbiges gilt für die drei Warnzeichen der amerikanischen Immune Deficiency Foundation (IDF) von 2009.⁹⁵ Die genannten Listen basieren auf Expertenmeinungen und sind nicht wissenschaftlich überprüft oder bestätigt.

Wichtig für den Verdacht auf einen Immundefekt sind laut der AWMF Leitlinie „Diagnostik von primären Immundefekten“ vor allem die sog. ELVIS-Kriterien (Erreger, Lokalisation, Verlauf, Intensität und Summe).⁹⁶ Unter Summe wird dabei die Frequenz der Infekte verstanden, jedoch konnte bislang kein evidenzbasierter Standard etabliert werden, welche Frequenz als pathologisch anzusehen ist. Laut dieser Leitlinie gelten bei Kleinkindern mehr als acht Minor-Infektionen, also unkomplizierte Infektionen der Atemwege, pro Jahr als auffällig und abklärungsbedürftig. In genannter Studie von Monto et al. war die durchschnittliche Infektionshäufigkeit bei Erwachsenen weniger als halb so hoch als im Kleinkindalter. Es wurden deshalb mehr als 4 anamnestische Infektionen der Atemwege pro Jahr als Grenze zwischen physiologischer und pathologischer Infektanfälligkeit der Atemwege gewählt.

1.9 Ziele und Fragesetzung

Ziel dieser Arbeit ist die experimentelle Untersuchung der sekretorischen Immunität bei Patienten mit rezidivierenden Infekten der Atemwege, die sich in der Ambulanz für Immundefekte am Institut für Medizinische Immunologie vorstellten.

Folgende Fragestellungen wurden untersucht:

1. Weisen Patienten mit rezidivierenden Infekten der Atemwege im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe eine verminderte Immunglobulin A-Sekretion im Speichel auf?
2. Wie korrelieren die Immunglobuline im Serum von Patienten mit rezidivierenden Infekten der Atemwege mit sekretorischem Immunglobulin A?

2 Methodik

2.1 Ethik und Datenschutz

Die Studie wurde durch die Ethik-Kommission der Charité bewilligt (Ethikvotum EA1/269/11 vom 01.08.2012) und steht in Einklang mit der Helsinki Erklärung von 1964 und ihren Ergänzungen. Alle Probanden gaben vollständig informiert und aufgeklärt ihr Einverständnis zur Studienteilnahme. Die Speicherung und Verarbeitung von personenbezogenen Daten wurde unter Einhaltung der Datenschutzbestimmungen des Landes Berlin in der aktuellen Fassung und des §212 des deutschen Strafgesetzbuches (StGB) durchgeführt. Personenbezogene Daten wurden, eine Einwilligung vorausgesetzt, zentral und anonymisiert in einer sicheren Umgebung in der Charité gespeichert.

2.2 Rekrutierung

2.2.1 Patientenkohorte

Eingeschlossen wurden 50 Patienten mit einem Mindestalter von 18 Jahren, welche sich von September 2011 bis Januar 2012 in der Immundefekt-Ambulanz des Instituts für Medizinische Immunologie der Charité Universitätsmedizin Berlin erstmalig zur Abklärung rezidivierender Infekte der Atemwege vorstellten und zur Teilnahme an der Studie bereit erklärten sowie aktuell anamnestisch unter keinem Infekt litten. Voraussetzung zum Einschluss in die Studie war eine Frequenz von mindestens 5 anamnestischen Infektionen der Atemwege pro Jahr. Kein Studienteilnehmer erhielt eine Immunglobulin-Substitution. Weitere Ein- und Ausschlusskriterien bestanden nicht.

2.2.2 Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe wurde aus Laborangestellten des Berlin-Brandenburger Centrums für Regenerative Therapien und Medizinstudierenden der Charité Universitätsmedizin Berlin rekrutiert. Sie umschloss 50 gesunde Probanden, welche aktuell anamnestisch unter keinem Infekt litten. Weitere Ein- und Ausschlusskriterien bestanden nicht.

2.3 Ergänzung von anamnestischen Daten

Die Arztbriefe der Patienten sind elektronisch auf einem Laufwerk der Ambulanz in standardisierter Form gespeichert oder befinden sich im SAP Front End System der Charité. Zur Extraktion von anamnestischen Daten und Laborwerten wurde eine datenbankgestützte Stichwortsuche benutzt und danach manuell überprüft und ergänzt.

Folgende anamnestische Daten wurden zur Analyse herangezogen:

- Art und Frequenz von Atemwegsinfektionen
- Alter
- Geschlecht

2.4 Labortechnische Untersuchungen

2.4.1 Speichelsammlung und Blutentnahme

Die Speichelentnahme erfolgte stets vormittags und zusammen mit der routinemäßigen Blutentnahme nach dem ärztlichen Gespräch. Dadurch wurde gewährleistet, dass IgA- und Albuminkonzentrationen im Speichel nicht durch Nahrungs- oder Flüssigkeitsaufnahme sowie durch Nikotin beeinflusst wurden. Die Speichelsammlung erfolgte gemäß der Gebrauchsanweisung des Herstellers durch einminütiges Kauen auf einem rollenförmigen Speichelkollektor aus Watte, welcher danach in ein zentrifugierbares Plastikröhrchen (Salivette, 51.1534.001, Sarstedt, Nürnberg, Deutschland) gegeben und fest verschlossen wurde. Zur Stimulation des Speichelflusses war dieser Speichelkollektor mit Zitronensäure versetzt. Es wurde so pro Spender ca. 1 ml Speichel gewonnen. Bei der ebenfalls vormittäglichen Sammlung der Speichelproben der Kontrollgruppe wurde ebenso darauf geachtet, dass in den letzten 60 Minuten keine Nahrungs- oder Flüssigkeitsaufnahme erfolgt war sowie nicht geraucht wurde.

Die Blutentnahme erfolgte in der Patientengruppe im Rahmen der routinemäßigen Blutentnahme mit einem zusätzlichen 3,5 ml Serum-Röhrchen (Vacutainer SST 2 Advance, 367957, Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA). In der Kontrollgruppe wurde kein Blut entnommen.

Serum und Speichelproben wurden stets innerhalb von 6 Stunden zentrifugiert (Serumröhrchen bei 2000 G für 10 Minuten, Speichelröhrchen bei 1000 G für 2 Minuten), zu je 20 µl pipettiert und bei -20 °C tiefgefroren.

2.4.2 Messungen von sekretorischem IgA und IgA-Subklassen

sIgA, IgA1 und IgA2 wurden mit Hilfe radialer Immundiffusion bestimmt. Zur Messung wurden Platten mit monospezifischen Antikörpern für das ganze sIgA-Molekül (Human Secretory IgA RID Bindarid Kit, RN148.3, The Binding Site, Birmingham, UK) bzw. IgA1 und IgA2 (Human IgA Subclass NL Bindarid RID KitRK015, The Binding Site, Birmingham, UK) benutzt. Die sIgA-Platten wurden mit 20 µl aufgetautem Speichel versehen, die IgA1- und IgA2-Platten mit jeweils 20 µl aufgetautem Serum. Sowohl Speichel als auch Serum lagerten nicht länger als zwei Monate bei -20 °C. Die Durchmesser der Präzipitationsringe wurden manuell nach 96 Stunden mit einem Lineal mit einer Genauigkeit von 0,1 mm ausgemessen. Die Konzentrationen wurden durch Vergleich mit den Referenztabellen des Herstellers graphisch evaluiert.

2.4.3 Messungen von Albumin

Die Albumin-Bestimmung im Speichel erfolgte durch einem ELISA (AssayMax Human Albumin ELISA Kit, EA3201-1, Assaypro, Saint Charles, USA). Zuerst wurde mit purem Albumin vom Hersteller eine Standardkurve erstellt. Zur Untersuchung wurde der Speichel 1:20 verdünnt und zu je 50 µl auf den ELISA aufgetragen. Die weitere Untersuchungsprozedur wurde gemäß der Anleitung durchgeführt. Anschließend wurden mit einem Microplate Reader die Absorption bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen. Die Albumin-Konzentrationen wurden anschließend mit Hilfe der erstellten Standardkurve aus den Absorptionswerten errechnet und mit der Verdünnung multipliziert.

2.4.4 Referenzlaborwerte

Als Kontrolle wurden, wenn nicht anders angegeben, die Referenzparameter des Labors Berlin - Charité Vivantes GmbH herangezogen. Diese Parameter werden regelmäßig von gesunden Kontrollprobanden aus dem Berliner Raum und Umgebung nach standardisiertem Verfahren ermittelt. Alle Referenzgruppen liegen, sofern nicht anders angegeben, im 95%igen Konfidenzintervall.

2.5 Ergänzung von Laborwerten

Insgesamt konnten für 38 Probanden der Patientengruppe und 24 Kontrollen sIgA/Albumin-Quotienten berechnet werden. Um einen möglichen Zusammenhang zwischen sIgA/Albumin-Quotienten und systemischen Immunglobulinen zu untersuchen wurden bei diesen Patienten soweit vorhanden folgende, routinemäßig vom Labor Berlin - Charité Vivantes GmbH erhobene, Laborwerte aus den elektronischen Patientenakten extrahiert und ebenfalls zur Analyse herangezogen:

- Immunglobulin G
- Immunglobulin G1
- Immunglobulin G2
- Immunglobulin G3
- Immunglobulin G4
- Immunglobulin A
- Immunglobulin M
- MBL

2.6 Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung wurde mit Prism 6 (GraphPad Software Inc., California, USA) zunächst eine deskriptive Analyse aller Laborparameter durchgeführt. Alle Angaben zur deskriptiven Statistik der Ergebnisse werden, wenn nicht anders vermerkt, mit Mittelwert (mean) \pm Standardabweichung (SD) und die entsprechenden Referenzbereiche mit einem Konfidenzintervall (Vertrauensintervall) von 95% angegeben.

Zur Testung auf Normalverteilung von Gruppenanalysen wurde das Kolmogorov-Smirnov Testverfahren benutzt. Bei nicht normalverteilten Stichproben wurden die Gruppenunterschiede zweiseitigem Mann-Whitney U Test auf Signifikanz getestet. Beim Vergleich der sIgA/Albumin-Quotienten wurde ein Hypothesen-gestützter, einseitiger Mann-Whitney U Test zur Prüfung auf Signifikanz verwendet. Zur Berechnung der Signifikanz bei mehr als zwei Gruppen wurde eine Varianzanalyse (Kruskal-Wallis-Test) durchgeführt. Für eine statistische Signifikanz wurde immer ein p-Wert von unter 0,05 angenommen. Die Ergebnisse von Gruppenanalysen werden stets als Streudiagramme mit Median, unterem und oberem Quartil (25% bis 75% der Messwerte) dargestellt.

Zur Überprüfung von Korrelationen wurden parameterfreie Korrelationsanalysen nach Spearman durchgeführt. Darüber hinaus wurde in manchen Fällen eine univariate Korrelationsanalyse (simple regression) durchgeführt. Diese wurde dann als Graph im orthogonalen Koordinatensystem dargestellt.

Für Kontingenzanalysen wurde ein einseitiger Chi-Quadrat-Test benutzt.

2.7 Klinische Daten

Tabelle 1 zeigt die Alters- und Geschlechterverteilung aller ursprünglich rekrutierten Studienteilnehmer.

Tabelle 1: Gruppenspezifische Alters- und Geschlechterverteilung aller Probanden

Parameter	RRTI	KG
Anzahl	50	50
Alter	41 ± 13	29 ± 7
Geschlecht	♂17 ♀33	♂14 ♀36
URTI	44	-
LRTI	15	-
Sinusitis	6	-

RRTI: Patienten mit rezidivierenden Infektionen der Atemwege, KG: Kontrollgruppe, URTI: upper respiratory tract infections, LRTI: lower respiratory tract infections.

Insgesamt konnte bei 38 der 50 Patienten und 24 der 50 Kontrollen Albumin nachgewiesen werden und somit sIgA/Albumin-Quotienten erstellt werden (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Gruppenspezifische Alters- und Geschlechterverteilung aller Probanden mit positivem Albuminnachweis

Parameter	RRTI	KG
Anzahl	38	24
Alter	41 ± 10	31 ± 8
Geschlecht	♂14 ♀24	♂9 ♀15
URTI	34	-
LRTI	13	-
Sinusitis	4	-

RRTI: Patienten mit rezidivierenden Infektionen der Atemwege, KG: Kontrollgruppe, URTI: upper respiratory tract infections, LRTI: lower respiratory tract infections.

Der Altersunterschied zwischen Patienten mit RRTI und der Kontrollgruppe war signifikant ($p=0,0008$). Dies musste bei der Auswertung der Studie berücksichtigt werden. Die Geschlechterverteilung war in beiden Gruppen ausgeglichen. Im Rahmen der weiteren Auswertung wurde die Patientengruppe in Patienten mit und ohne serologisch erniedrigte Immunglobulinspiegel unterteilt (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Gruppenspezifische Alters- und Geschlechterverteilung aller Patienten mit RRTI mit positivem Albuminnachweis

Parameter	RRTI mit Ig-Mangel	RRTI ohne Ig-Mangel
Anzahl	20	18
Alter	44 ± 13	39 ± 11
Geschlecht	♂8 ♀12	♂6 ♀12
URTI	16	18
LRTI	5	8
Sinusitis	4	0

RRTI: Patienten mit rezidivierenden Infektionen der Atemwege, KG: Kontrollgruppe, Ig-Mangel: erniedrigte Spiegel von IgG, IgG-Subklassen, IgM oder IgA im Serum, URTI: upper respiratory tract infections, LRTI: lower respiratory tract infections.

Rezidivierende Infektionen der oberen Atemwege (URTI), wie Pharyngitis und Laryngitis, stellten den häufigsten Konsultationsgrund dar, Infektionen der unteren Atemwege (LRTI), wie Bronchitis und Pneumonie, waren seltener Grund zur Vorstellung. Alle Patienten, welche sich aufgrund einer chronischen Sinusitis vorstellten, litten unter einen Immunglobulinmangel im Serum.

3 Ergebnisse

3.1 Sekretorisches IgA

3.1.1 Ergebnisse der sIgA- und Albuminmessungen

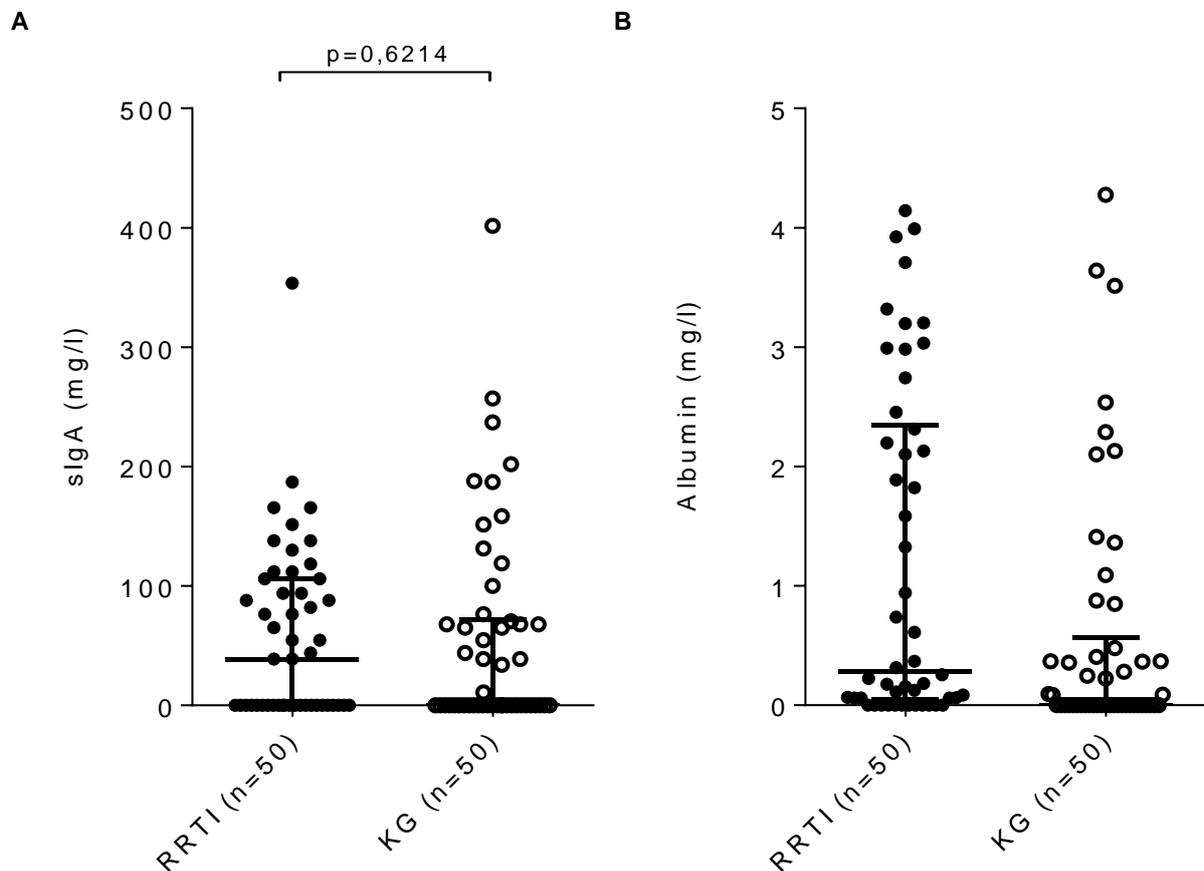


Abbildung 1: sIgA (A) und Albumin (B) im Speichel von Patienten mit RRTI und der Kontrollgruppe

Streudiagramm mit Median, unterem und oberem Quartil. RRTI: Patienten mit rezidivierenden Infektionen der Atemwege, KG: Kontrollgruppe, p: Mann-Whitney U, zweiseitig, sIgA: sekretorisches Immunglobulin A.

Insgesamt wurden bei 50 Patienten und 50 gesunden Kontrollen sIgA und Albumin im Speichel bestimmt. Abbildung 1A zeigt die Ergebnisse der sIgA-Messungen. Aufgrund vieler negativer Ergebnisse lag der Median in der Kontrollgruppe bei 0, in der Patientengruppe bei 38,95. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p=0,6214$).

Abbildung 1B zeigt die Ergebnisse der Albuminmessungen. Aufgrund vieler negativer Ergebnisse, vor allem in der Kontrollgruppe, lag in dieser der Median bei 0 und in der Patientengruppe bei 0,28.

Abbildung 2 zeigt die Korrelation von sIgA und Albumin in Patienten- und Kontrollgruppe.

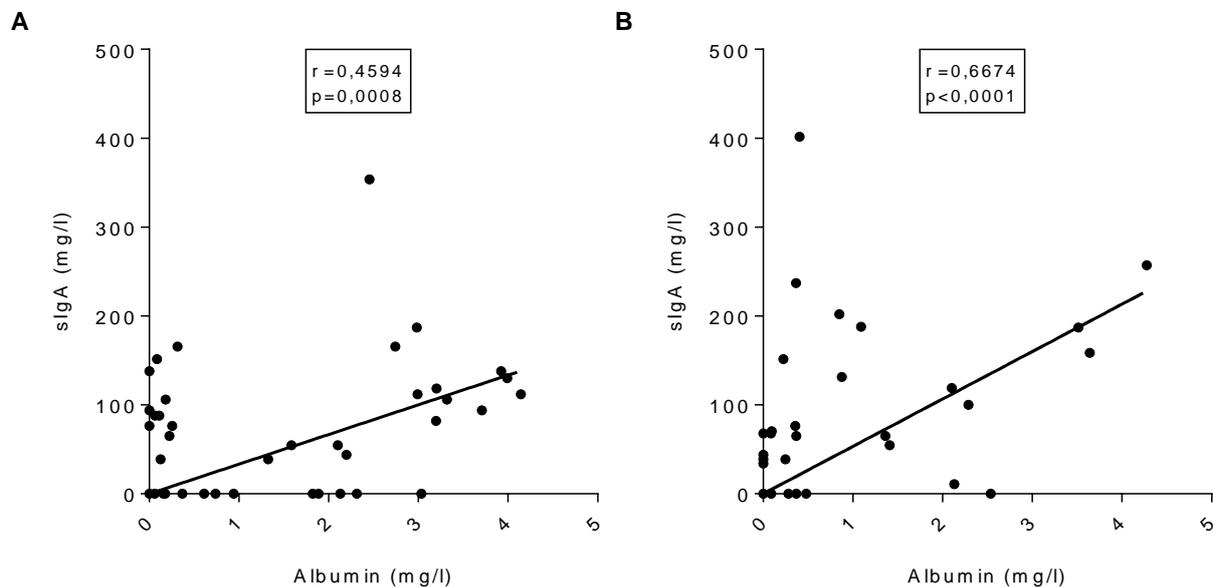


Abbildung 2: Korrelation von sIgA und Albumin im Speichel von Patienten mit RRTI (A) und der Kontrollgruppe (B)

Jeder Punkt stellt eine Probe der Patienten- (A, n=50) oder Kontrollgruppe (B, n=50) dar. r: Korrelationskoeffizient nach Spearman, p: zweiseitig, Graph: lineare Regression, sIgA: sekretorisches Immunglobulin A.

Sekretorisches IgA und Albumin korrelierten in beiden Gruppen. Punkte auf der y-Achse repräsentieren Proben, in denen kein Albumin nachgewiesen werden konnte. Zur Erstellung des sIgA/Albumin-Quotienten werden sIgA- und Albuminkonzentration dividiert. Für diese Proben konnte deshalb aus mathematischen Gründen kein sIgA/Albumin-Quotient berechnet werden. Dies betraf 12 Proben der Patientengruppe und 26 Proben der Kontrollgruppe, also insgesamt 38 Proben. In nur acht dieser Proben ohne Albumin-Nachweis konnte sIgA nachgewiesen werden, in drei Proben der Patienten- und fünf Proben der Kontrollgruppe. Somit verringerten sich die Fallzahlen für die sIgA/Albumin-Quotienten auf 38 (RRTI) und 24 (KG).

Abbildung 3 vergleicht sIgA- und Albuminkonzentrationen dieser Albumin-positiven Proben, für welche sIgA/Albumin-Quotienten berechnet werden konnten. Auch hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied der absoluten sIgA-Konzentrationen von Patienten und Kontrollen (Median 54,50 vs. 73,50, $p=0,0917$).

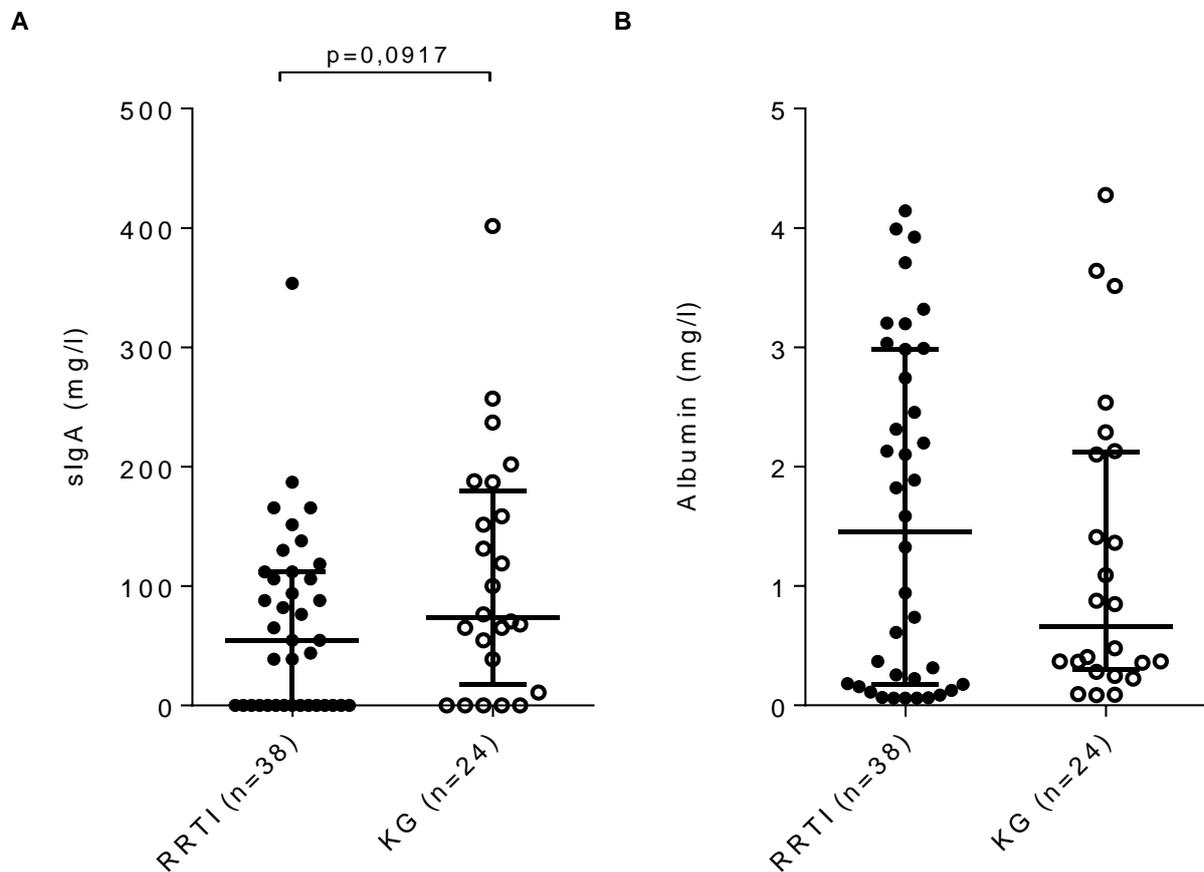


Abbildung 3: sIgA (A) und Albumin (B) in Albumin-positiven Proben von Patienten- und Kontrollgruppe

Streudiagramm mit Median, unterem und oberem Quartil. RRTI: Patienten mit rezidivierenden Infektionen der Atemwege, KG: Kontrollgruppe, p: Mann-Whitney U, zweiseitig, sIgA: sekretorisches Immunglobulin A.

3.1.2 SIgA/Albumin-Quotienten

Bei Patienten mit RRTI wurden niedrigere SIgA/Albumin-Quotienten als in der Kontrollgruppe erwartet und deshalb ein einseitiger p-Test durchgeführt.

Abbildung 4A stellt die SIgA/Albumin-Quotienten der Patienten- und der Kontrollgruppe vergleichend dar. Die Werte der Patientengruppe (n=38) waren etwa halb so hoch und signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe (Median 26,49 vs. 58,37, p=0,0188).

In Abbildung 4B wird die Patientengruppe weiter in Patienten mit (n=20) und ohne Immunglobulinmangel (n=18) aufgeteilt und erneut mit der Kontrollgruppe verglichen. Die Quotienten der Patienten mit Immunglobulinmangel waren signifikant niedriger als die der Kontrollgruppe (Median 12,97 vs. 58,37, p=0,0364) und durchschnittlich nur noch ein Viertel so hoch wie in der Kontrollgruppe. Patienten ohne Immunglobulinmangel im Serum hatten ebenfalls signifikant niedrigere SIgA/Albumin-Quotienten als die Kontrollgruppe (28,22 vs. 58,37, p=0,0450).

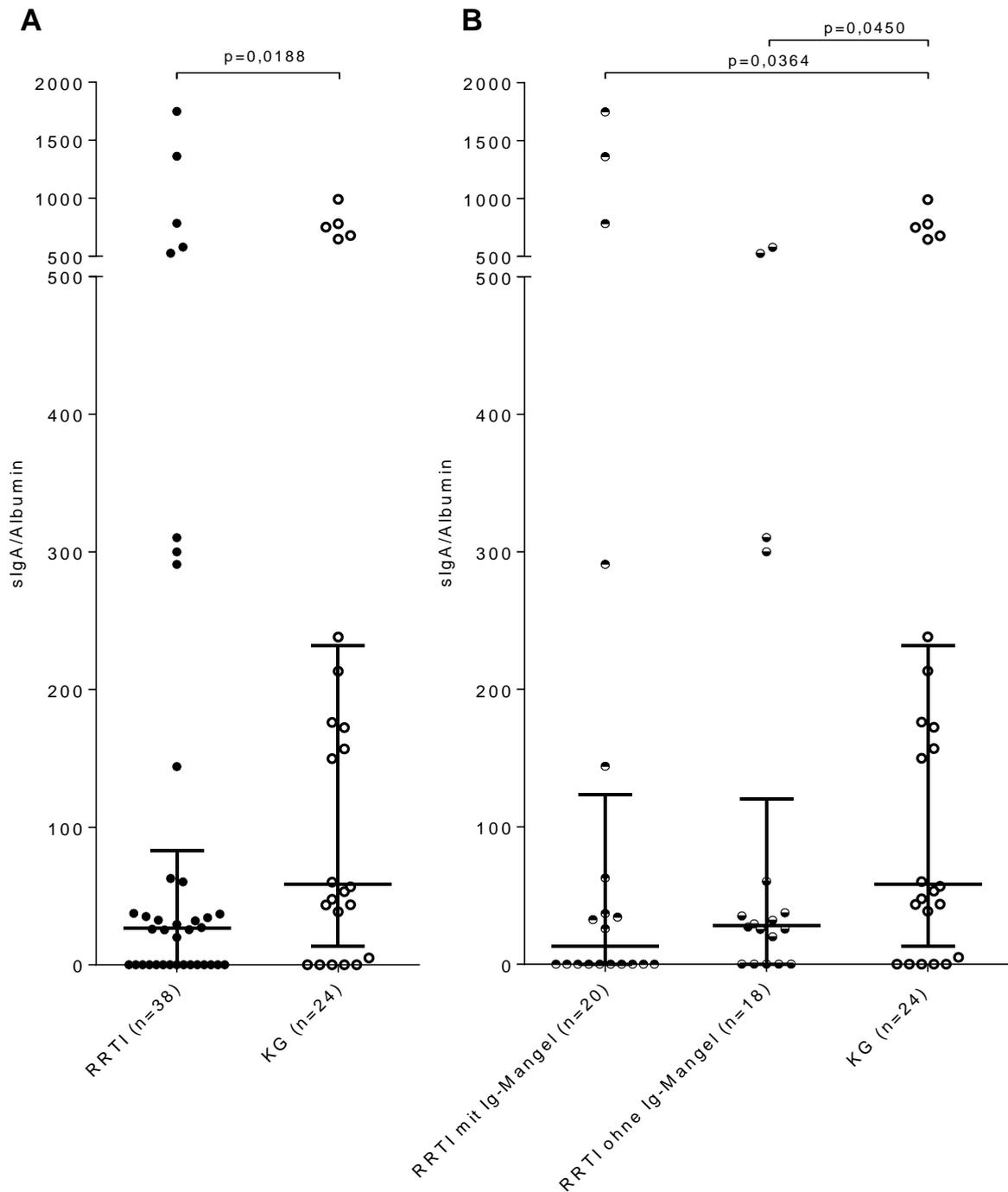


Abbildung 4: sIgA/Albumin-Quotienten von Patienten mit RRTI (A), sowie Patienten mit RRTI mit und ohne Immunglobulinmangel im Serum (B) und der Kontrollgruppe

Streudiagramm mit Median, unterem und oberem Quartil. RRTI: Patienten mit rezidivierenden Infektionen der Atemwege, Ig: Immunglobulin, sIgA: sekretorisches Immunglobulin A, Ig-Mangel: erniedrigte Spiegel von IgG, IgG-Subklassen, IgM oder IgA im Serum, KG: Kontrollgruppe, p: Mann-Whitney U, einseitig.

3.1.3 Abwesenheit von sekretorischem IgA bei Patienten mit RRTI

Bei Betrachtung der sIgA/Albumin-Quotienten fiel die große Anzahl an negativen sIgA-Messungen in der Patientengruppe und die daraus resultierende große Anzahl von sIgA/Albumin-Quotienten von 0 auf. Dies betraf 15 von 38 (39%) der Patienten mit RRTI, jedoch nur 5 von 24 (21%) Probanden der Kontrollgruppe (siehe Tabelle 4). Die Mehrzahl der Patienten ohne nachweisbares sIgA gehörte der Patientengruppe mit Immunglobulinmängeln im Serum an (n=10/20). Bei Patienten ohne Immunglobulinmangel im Serum war zu einem ähnlich hohen Anteil wie in der Vergleichsgruppe kein sIgA nachweisbar (n=5/18).

Ein durchgeführter Chi-Quadrat-Test mit einseitigem p-Test konnte einen Trend, aber keinen signifikanten Zusammenhang zeigen ($p=0,0631$).

Tabelle 4: Kontingenztabelle zur Beziehung von RRTI und sIgA-Nachweis

	rez. Infekte (RRTI)	keine rez. Infekte (KG)	Total
sIgA/Albumin = 0	15	5	20
sIgA/Albumin > 0	23	19	42
Total	38	24	62

Vierfeldertafel mit Gegenüberstellung aller Proben in denen Albumin nachgewiesen konnte und in denen sIgA nicht nachweisbar (Zeile 1) oder nachweisbar war (Zeile 2), bei Patienten mit RRTI (Spalte 1) und der Kontrollgruppe (Spalte 2). RRTI: Patienten mit rezidivierenden Infektionen der Atemwege, KG: Kontrollgruppe, sIgA: sekretorisches Immunglobulin A, rez.: rezidivierend.

3.1.4 Abhängigkeit der gemessenen Werte vom Alter

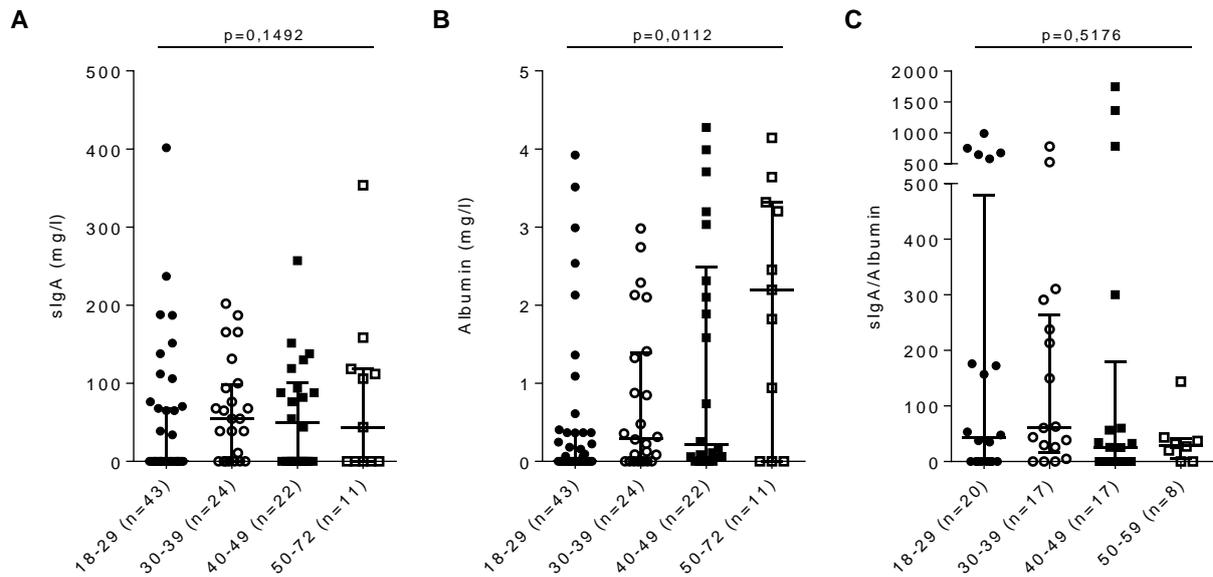


Abbildung 5: sIgA (A), Albumin (B) und sIgA/Albumin-Quotienten (C) in Abhängigkeit vom Alter

Streudiagramm mit Median, unterem und oberem Quartil. Vergleichende Gegenüberstellung der absoluten sIgA- (A) und Albuminkonzentrationen (B), sowie der sIgA/Albumin-Quotienten (C) in den Altersgruppen 18-29, 30-39, 40-49 und 50-72 Jahre. Alle Patienten mit RRTI und die Kontrollgruppe wurden vollständig auf die Altersgruppen aufgeteilt. sIgA: sekretorisches Immunglobulin A, p: one-way ANOVA.

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen Alter und den gemessenen sIgA- und Albuminkonzentrationen im Speichel zu untersuchen, wurden die Ergebnisse aller Patienten und der Kontrollgruppe zusammen betrachtet und in vier Altersgruppen unterteilt (siehe Abbildung 5). SIgA und Albumin waren in den höheren Altersklassen durchschnittlich höher, bei Albumin war dieser Unterschied signifikant. Insbesondere die Altersgruppe zwischen 50 und 72 zeigte durchschnittlich höhere Albuminkonzentrationen im Speichel. Bei den sIgA/Albumin-Quotienten zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Altersgruppen. Außerdem zeigte sich keine Korrelation zwischen Alter und den sIgA/Albumin-Quotienten ($r=-0,1579$, $p=0,2203$).

3.1.5 Abhängigkeit der gemessenen Werte vom Geschlecht

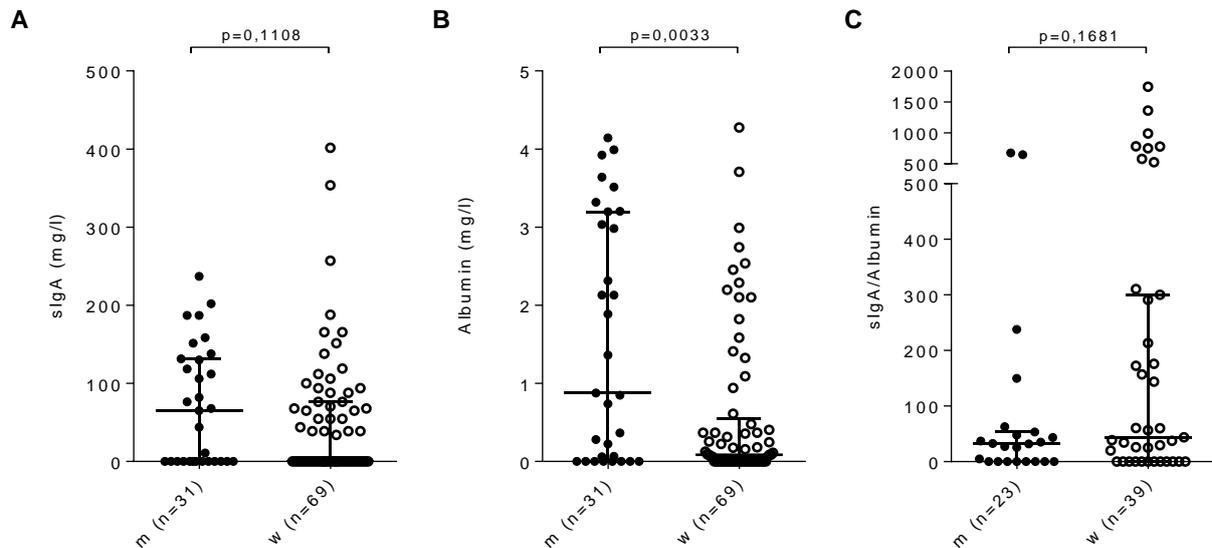


Abbildung 6: sIgA (A), Albumin (B) und sIgA/Albumin-Quotienten (C) in Abhängigkeit vom Geschlecht

Streudiagramm mit Median, unterem und oberem Quartil. Vergleichende Gegenüberstellung der absoluten sIgA- (A) und Albuminkonzentrationen (B), sowie der sIgA/Albumin-Quotienten (C) zwischen männlichen und weiblichen Probanden. Alle Patienten mit RRTI und die Kontrollgruppe wurden vollständig auf die geschlechterspezifischen Gruppen aufgeteilt. m: männlich, w: weiblich, sIgA: sekretorisches Immunglobulin A, p: Mann-Whitney U, zweiseitig.

Zur Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs zwischen Geschlecht, sIgA- und Albuminkonzentrationen im Speichel wurden die Ergebnisse aller Patienten und der Kontrollgruppe erneut zusammen betrachtet (siehe Abbildung 6). SIgA- und Albuminkonzentrationen waren im Speichel männlicher Probanden durchschnittlich höher, bei Albumin war dieser Unterschied signifikant. Die sIgA/Albumin-Quotienten zeigten keinen Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Probanden.

3.2 Immunglobulin A

3.2.1 Ergebnisse der IgA-Messungen

Tabelle 5 zeigt die Ergebnisse der IgA-Subklassenmessungen im Serum der Patienten mit RRTI. Die IgA2-Subklasse war bei 16 % der Patienten erniedrigt oder nicht nachweisbar, IgA1 bei 32%. 21% der Patienten zeigten einen erniedrigten Gesamt-IgA-Spiegel.

Tabelle 5: Immunglobuline A, A1 und A2

Parameter	n	MW ± SD	Einheit	Referenz	erniedrigt	%
IgA	37	165,84 ± 112,78	mg/dl	70-400	8	21%
IgA1	38	142,87 ± 106,72	mg/dl	60 - 294	12	32%
IgA2	38	25,73 ± 19,52	mg/dl	6 - 61	6	16%

n: Anzahl, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, IgA: Immunglobulin A.

Zur weiteren Untersuchung des Zusammenhangs zwischen sekretorischem und serologischem IgA wurden solche Proben verglichen, in denen IgA oder eine IgA-Subklasse erniedrigt war. Dies betraf 19 der 38 Proben der Patienten mit RRTI, bei denen sIgA/Albumin-Quotienten erstellt werden konnten. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in Tabelle 6 aufgelistet. Alle 8 Patienten mit IgA-Mangel wiesen auch einen IgA1-Mangel auf, 5 von 8 auch einen IgA2-Mangel, 6 von 8 auch einen sIgA/Albumin-Quotienten von 0. Alle Patienten mit erniedrigtem IgA2 zeigten sIgA/Albumin-Quotienten von 0.

Tabelle 6: Patienten mit RRTI und erniedrigten (s)IgA-Werten

IgA (mg/dl)	IgA1 (mg/dl)	IgA2 (mg/dl)	sIgA/Albumin
4*	0*	0*	0*
4*	0*	0*	0*
4*	0*	0*	0*
5*	0*	0*	0*
10*	0*	0*	0*
55*	54,1*	18,65	37
62*	54,1*	8,4	0*
64*	54,1*	12,6	784
78	54,1*	12	0*
83	108,8	13,9	0*
83	54,1*	0*	0*
85	54,1*	23,5	1362
89	92,2	10,95	0*
97	117,8	12,1	0*
123	135	22,9	0*
195	163,2	16,8	0*
224	153,6	22,1	0*
262	0*	41,6	25
263	290,6	25,2	0*

Patienten mit RRTI und erniedrigtem IgA, IgA1 oder IgA2, sowie Patienten mit sIgA/Albumin = 0. *:erniedrigt, (s)IgA: (sekretorisches) Immunglobulin A.

3.2.2 Korrelation von sIgA, IgA und IgA-Subklassen

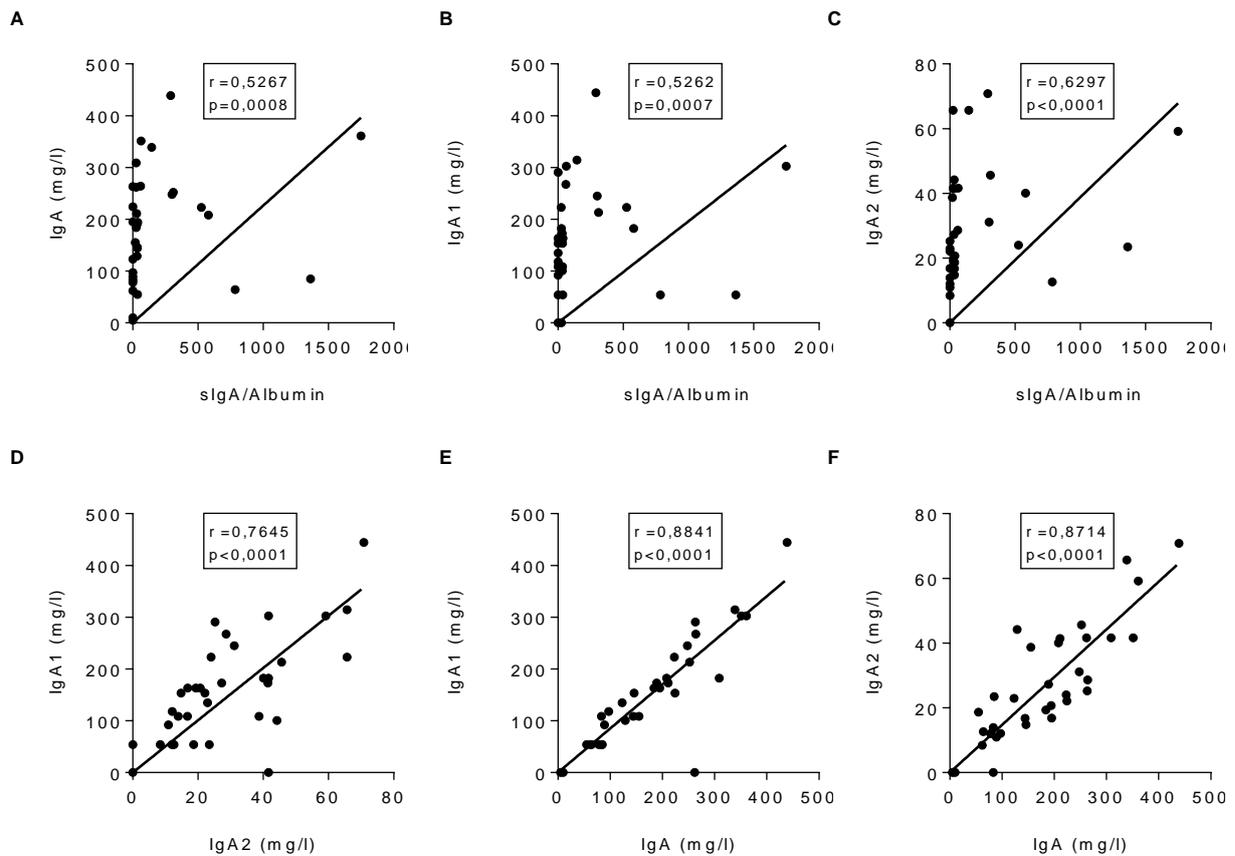


Abbildung 7: Korrelation von sekretorischem und serologischem IgA

Korrelation von sIgA/Albumin mit IgA (A, n=37), IgA1 (B, n=38) und IgA2 (C, n=38), sowie von IgA1 mit IgA2 (D, n=38), IgA (E, n=37) und von IgA2 mit IgA (F, n=37). r: Korrelationskoeffizient nach Spearman, p: zweiseitig, Graph: lineare Regression, (s)IgA: (sekretorisches) Immunglobulin A.

Die errechneten sIgA/Albumin-Quotienten korrelierten sowohl mit dem Gesamt-IgA als auch den IgA-Subklassen, wobei sie mit IgA2 am stärksten korrelierten (siehe Abbildung 7A-C). IgA, IgA1 und IgA2 im Serum zeigten durchweg eine starke Korrelation (siehe Abbildung 7D-F).

3.3 Immunglobuline G und M

IgG wurde bei 19% der Patienten erniedrigt gemessen, unter den IgG-Subklassen waren IgG3 mit 16% und IgG4 mit 24% am häufigsten erniedrigt. Insgesamt zeigten 34%, das heißt 13 von 38 der Patienten mit RRTI, eine oder mehrere erniedrigte IgG-Subklassen. IgM wurde in 14% der Fälle erniedrigt gemessen.

Tabelle 7: Immunglobuline G, G1, G2, G3, G4, M

Parameter	n	MW ± SD	Einheit	Referenz	erniedrigt	%
IgG	37	918,03 ± 303,44	mg/dl	700-1600	7	19%
IgG1	37	529,97 ± 183,49	mg/dl	280-800	3	8%
IgG2	37	344,54 ± 151,34	mg/dl	115-570	2	5%
IgG3	37	62,14 ± 40,09	mg/dl	24-125	6	16%
IgG4	37	37,04 ± 37,01	mg/dl	5,2-125	9	24%
IgM	37	112,08 ± 73,95	mg/dl	40-230	5	14%

n: Anzahl, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, IgG: Immunglobulin G, IgM: Immunglobulin M.

Die sIgA/Albumin-Quotienten korrelierten nicht mit IgG, IgG-Subklassen oder IgM. IgA im Serum korrelierte mit IgG2 und IgG4, nicht jedoch mit IgG1 und IgG3 (siehe Abbildung 8) oder IgG und IgM.

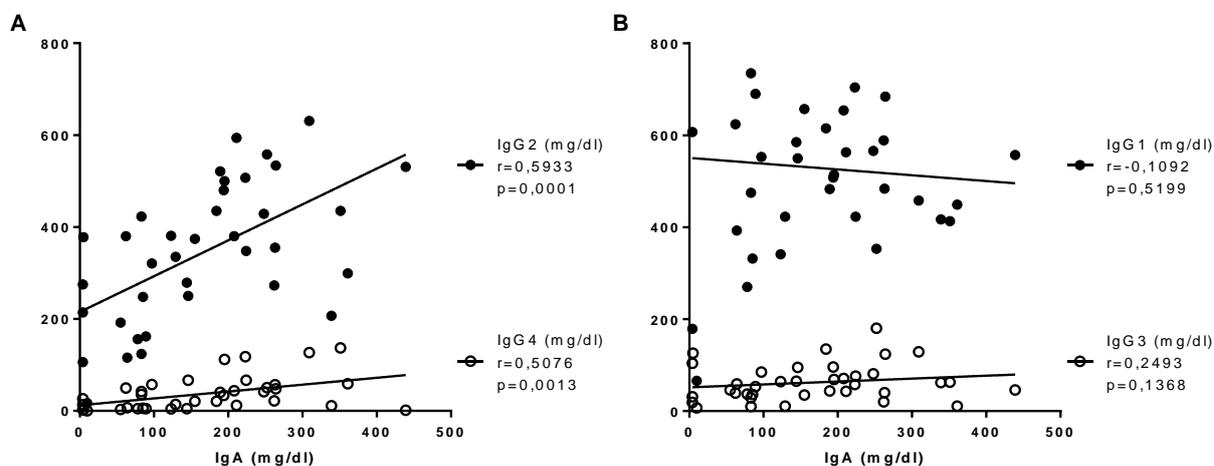


Abbildung 8: Korrelation von IgA mit IgG2 und IgG4 (A), sowie mit IgG1 und IgG3 (B)

Jeder Punkt stellt eine Probe der Patientengruppe dar. r: Korrelationskoeffizient nach Spearman, p: zweiseitig, Graph: lineare Regression, IgA: Immunglobulin A, IgG: Immunglobulin G.

3.4 MBL

21% der Patienten litten unter einem absoluten MBL-Mangel (siehe Tabelle 8). MBL korrelierte weder mit den sIgA/Albumin-Quotienten, noch mit einem Immunglobulin im Serum.

Tabelle 8: MBL

Parameter	n	MW \pm SD	Einheit	Referenz	erniedrigt	%
MBL	38	1562,83 \pm 1346,45	ng/ml	>100	8	21%

n: Anzahl, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, MBL: Mannose-bindendes Lektin.

4 Diskussion

4.1 IgA/Albumin-Quotienten versus absolute IgA-Konzentrationen

Die Variabilität der IgA-Konzentrationen im Speichel ist sowohl intraindividuell (in verschiedenen Proben einer Person) als auch interindividuell (in Proben von verschiedenen Personen) sehr hoch. Dwyer et al. ermittelten einen Variationskoeffizienten von 48% für die intraindividuelle Variabilität und empfehlen daher die Verwendung von IgA/Albumin-Quotienten.⁹⁷ Dies beruht auf der Tatsache, dass die IgA- und Albumin-Spiegel im Speichel im Tagesverlauf ähnlich steigen und fallen, wie auch Rantonen et al. und Richter et al. unabhängig voneinander zeigen konnten.^{98,99}

Prichtband et al. konnten nachweisen, dass zirkadiane Schwankungen die durchschnittlichen IgA-Konzentrationen im Speichel stärker beeinflussen als Faktoren wie Stress und körperliche Betätigung.¹⁰⁰ Außerdem fiel in der Studie von Dwyer et al. auf, dass sich postprandial gemessene IgA/Albumin-Quotienten stark von denen des restlichen Tagesverlaufs unterscheiden.⁹⁷ Zur Verminderung der intraindividuellen Variabilität erfolgte die Probenentnahme in unserer Studie deshalb stets vormittags und nach mindestens 60-minütiger Nahrungs-, Flüssigkeits- und Nikotinkarenz.

Die interindividuelle Variabilität lässt sich durch die Verwendung von IgA/Albumin-Quotienten ebenfalls senken. Ergebnisse dazu liefern Francis et al. in einer Studie über IgA und Albumin im Speichel von Sportlern und verschiedenen aktiven Kontrollgruppen. Die IgA-Konzentrationen fielen in den verschiedenen Gruppen mit dem Aktivitätslevel signifikant ab. Gleichzeitig fielen analog dazu aber auch die erhobenen Albumin-Spiegel.⁷⁶ Da die Konsistenz des Speichels sich durch chemische und hormonelle Reize ändert, sind vergleichbare Ergebnisse also am besten durch Quotientenbildung zweier Speichelproteine zu erhalten.

Die Vergleichbarkeit unserer IgA-Messungen mit anderen Studien ist aufgrund der Abnahmemethode erschwert, da zur Sammlung des Speichels die Salivette verwendet wurde. Es handelt sich bei der Salivette um einen Watteschwamm, welcher für eine Minute gekaut werden muss und mit Zitronensäure versetzt ist, um den Speichelfluss zu verstärken. Somit kann schneller die benötigte Abnahmemenge erreicht werden, allerdings möglicherweise auf Kosten einer höheren Verdünnung der Speichelprobe.

Diese Art der Speichelentnahme erhielt in einer Studie von Strazdins et al. von den Studienteilnehmern in den Punkten „Pleasantness“ und „Willingness“ durchschnittlich nur 3,06 bzw. 3,50 von 5 Punkten.¹⁰¹ Topkas et al. stellten in einer Studie fest, dass Speichel, der mit der Salivette gewonnen wurde, signifikant niedrigere Proteinspiegel enthielt als bei Sammlung ohne Zitronensäure. Zudem diskutieren sie in ihrer Studie eine mögliche Absorption von Proteinen durch den Baumwollschwamm und dadurch im Vergleich zu anderen Verfahren niedrigere gemessene Proteinspiegel.⁸⁴ Auch Aufricht et al. berichten über signifikante Unterschiede je nach Methode der Speichelentnahme. Die von uns verwendete Salivette lieferte in ihrer Studie nur halb so hohe sIgA-Werte im Speichel wie bei Absaugung oder Sammlung durch Spucken.¹⁰² Kugler et al. bestätigten in ihrer Studie einen gegenläufigen Zusammenhang zwischen Speichelsekretion aufgrund der Zitronensäure und den gemessenen sIgA-Konzentrationen.¹⁰³ Die Zentrifugierung des Speichels, wie sie sowohl bei der Benutzung der Salivette, als auch des RID-Verfahrens vorgesehen ist, kann durch Verklumpung von sIgA-Molekülen ebenfalls zu niedrigeren erhobenen sIgA-Werten führen.⁸⁷

Eine weitere Einschränkung der Vergleichbarkeit ergibt sich aus den unterschiedlichen Verfahren, die zur Messung von sIgA verwendet werden. Am häufigsten werden die von uns angewandte radiale Immundiffusion oder ELISA benutzt, deren Ergebnisse in einer Studie von Miletic et al. allerdings signifikant korrelierten ($r=0,875$).⁷⁹ Gefrieren und Auftauen haben laut einer Studie von Booth et al. keinen Einfluss auf die sIgA-Konzentration. Zudem evaluierten sie die Stabilität der sIgA-Konzentrationen bei verschiedenen Temperaturen. Sie waren bei Raumtemperatur nur ca. sechs Stunden stabil. Allerdings bleiben sie es bei 4°C bis zu 48 Stunden und bei -80°C mehr als ein Jahr.⁷⁵ Grund für die geringe Stabilität der sIgA-Konzentrationen bei Raumtemperatur ist die Anwesenheit von bakteriellen Proteasen im Speichel, welche die sIgA-Moleküle zerstören.¹⁰⁴ Um dies zu verhindern, wurden alle Speichelproben innerhalb von 6 Stunden nach Entnahme tiefgefroren.

Die von uns gemessenen sIgA-Konzentrationen sind aus den genannten Gründen durchschnittlich sowohl in der Patienten- als auch in der Kontrollgruppe etwas niedriger als in anderen Studien, die ebenfalls RID oder das nach Miletic et al. vergleichbare ELISA-Verfahren zur Bestimmung im Speichel benutzen. Die Mittelwerte anderer Studien liegen zwischen 104 mg/l und 221,5 mg/l und zeigen damit eine hohe Streubreite.^{39,68,71,78,87,105} Da wir unter der Verwendung von sIgA/Albumin-Quotienten, im Gegensatz zu den absoluten sIgA-Werten, bereits in unserer relativ kleinen Patientenkohorte signifikante Unterscheide der sIgA-Sekretion nachweisen konnten, scheinen diese besser zur Untersuchung der sekretorischen Immunität geeignet als absolute sIgA-Konzentrationen.

Unsere Studie ist die erste, welche den Zusammenhang zwischen sIgA/Albumin-Quotienten und Infektanfälligkeit bei Erwachsenen untersucht. Frühere Studien beschränkten sich in diesem Zusammenhang auf die Erhebung absoluter sIgA-Konzentrationen. Diese unterliegen jedoch, wie bereits diskutiert, großen Schwankungen. In einer Metastudie aus dem Jahr 1989 fassten Jemmott et al. mehrere Studien zusammen, die den Zusammenhang zwischen absoluten sIgA-Konzentrationen und Infektanfälligkeit untersuchten. Ihre Meta-Analyse über acht Studien aus den 1980er Jahren bestätigte erstmals den Zusammenhang zwischen Infektionen der Atemwege und erniedrigten sIgA-Spiegeln. Zuvor hatte die Mehrzahl der untersuchten Studien jedoch keine signifikanten Ergebnisse gezeigt.¹⁰⁶ Die von uns erhobenen absoluten sIgA-Werten zeigten ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen Patienten- und Kontrollgruppe (siehe Abbildungen 1 und 3).

Ein methodisches Problem unserer Studie könnten Proben darstellen, in denen kein Albumin nachgewiesen werden und somit kein sIgA/Albumin-Quotient errechnet werden konnte. In der Kontrollgruppe betraf dieses Phänomen 52% (26/50) der Proben, in der Gruppe der Patienten mit RRTI nur 24% (12/50). Da in auch nur 8 dieser insgesamt 38 Proben sIgA nachgewiesen werden konnte und weil Albumin und sIgA in beiden Gruppen korrelierten, ist davon auszugehen, dass es sich dabei um sehr stark verdünnte Proben mit global erniedrigten Proteinspiegeln handelte. Eine Ursache dafür könnte unzureichendes Kauen oder eine zu kurze Verweildauer des Baumwollschwamms der Salivette im Mund der Versuchsperson darstellen. In diesem Fall besteht der gewonnene Speichel vor allem aus sehr verdünntem Sekret, welches auf den Reiz durch die Zitronensäure hauptsächlich aus der Parotis sezerniert wird.¹⁰⁷

So lassen sich niedrigere oder gar keine sIgA- und Albuminkonzentrationen messen. Erst durch dauerhaftes Kauen und bei längerer Verweildauer des Schwamms können sich durch Sekretion und Transudation sIgA und Albumin in ausreichender Menge anreichern. Alle Probanden wurden über die richtige Anwendung der Salivette aufgeklärt aber während der Entnahme nicht überwacht. In der Kontrollgruppe könnte die Salivette auf Grund der diskutierten Unannehmlichkeiten seltener ausreichend gekaut und kürzer angewendet worden sein als in der zur Teilnahme motivierten Patientengruppe. Grundsätzlich würde sich diese Problematik durch die Verwendung einer für den Probanden angenehmeren Speichelsammlungsmethode oder ein striktes Entnahmeprotokoll sowie sensitivere Nachweismethoden für sIgA und Albumin lösen lassen. Die gemessenen Albumin-Konzentrationen im Speichel lagen in anderen Studien mit vergleichbaren Messverfahren im Durchschnitt bei ca. 120 mg/l.^{87,105} Die von uns gemessenen Albumin-Werte sind, aus denselben diskutierten Gründen wie die erhobenen sIgA-Werte, im Durchschnitt geringer. Da wir mit Quotienten arbeiten, spielt die Höhe der absoluten Konzentrationen nur eine untergeordnete Rolle, weil sich die sIgA- und Albuminkonzentrationen so gegenseitig relativieren.

4.2 Erniedrigte sIgA/Albumin-Quotienten bei Patienten mit RRTI

Die sIgA/Albumin-Quotienten der Patienten mit rezidivierenden Infektionen der Atemwege waren signifikant niedriger als die der Kontrollgruppe (siehe Abbildung 4A). Viele dieser Patienten litten jedoch unter einem Immunglobulinmangel im Serum, insbesondere auch selektivem IgA-Mangel. Bei diesen Patienten ist der diagnostische Nutzen einer zusätzlichen Speicheluntersuchung fraglich, da die festgestellten Immunglobulinmängel die infektiöse Symptomatik in vielen Fällen sicherlich erklären können. Somit wäre die Untersuchung der sekretorischen Immunität besonders bei solchen Patienten sinnvoll, welche keine Auffälligkeiten der Immunglobuline im Serum aufweisen.

In der getrennten Analyse der Patientengruppen mit und ohne Immunglobulinmangel im Serum waren die sIgA/Albumin-Quotienten in beiden Gruppen signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe (siehe Abbildung 4B). Somit scheint eine eingeschränkte sIgA-Sekretion, unabhängig von der systemischen Immunglobulinproduktion, ein Risikofaktor für RRTI zu sein und auch Patienten mit normalen Immunglobulinspiegeln im Serum, insbesondere normalen IgA-Spiegeln, können eine erniedrigte sIgA-Sekretion aufweisen.

Oftmals konnte in Proben der Patientengruppe, in welchen Albumin nachweisbar war, kein sIgA nachgewiesen werden. In diesen Proben ergaben sich daher mathematisch sIgA-Albumin-Quotienten von 0. Wertet man den Nachweis von Albumin als Positivkontrolle, kann man bei diesen Probanden von einer pathologisch erniedrigten oder fehlenden sIgA-Sekretion ausgehen, da Albumin normalerweise in geringeren Konzentrationen im Speichel nachweisbar ist als sIgA und auch in unserer Studie niedrigere durchschnittliche Konzentrationen zeigte.¹⁰⁸ Die Zahl dieser Albumin-positiven und sIgA-negativen Proben war in der Gruppe der Patienten mit RRTI fast doppelt so hoch wie in der Kontrollgruppe (siehe Tabelle 4).

Verschiedene Faktoren könnten die Aussagekraft unserer Ergebnisse einschränken. Die anamnestischen Daten wurden nicht standardisiert mittels Fragebogen erhoben, sondern waren abhängig vom ärztlichen Personal und wurden retrospektiv aus den Arztbriefen extrahiert. Ein wichtiger Kritikpunkt in der retrospektiven Analyse ist die Unvollständigkeit und schlechte Vergleichbarkeit der erhobenen anamnestischen und klinischen Daten. Allerdings wurde die überwiegende Mehrzahl der Konsultationen vom

selben Arzt durchgeführt und somit eine Kohärenz gewahrt. Bei einem Patienten wurden nicht alle Laborwerte angefordert, entsprechend verringert sich die Fallzahl bei diesen Laborwerten um eins.

4.3 Kein Einfluss von Alter und Geschlecht auf sIgA/Albumin-Quotienten

Alter und Geschlecht stellen weitere potentiell wichtige Faktoren der interindividuellen Variabilität stellen dar. Insbesondere musste aufgrund der signifikant jüngeren Kontrollgruppe in unserer Studie eine eventuelle Altersabhängigkeit der sIgA/Albumin-Quotienten berücksichtigt werden.

Bisherige Studien lieferten uneindeutige Ergebnisse zum Einfluss des Alters auf sIgA- und Albuminkonzentrationen im Speichel. Miletic et al. konnten in einer Studie feststellen, dass die IgA-Sekretionsrate mit dem Alter sank.⁷⁹ Im Gegensatz dazu konnten Wagner et al. bis zu einem Alter von 55 Jahren keinen Unterschied der absoluten sIgA- und Albuminkonzentrationen im Speichel feststellen.¹⁰⁹ Auch in unserer Studie zeigte sich kein altersabhängiger Unterschied der sIgA-Konzentrationen, allerdings zeigten die durchschnittlichen Albuminkonzentrationen den Trend, mit dem Alter anzusteigen (siehe Abbildung 5B).

Für sIgA-Konzentrationen im Speichel konnte bisher in keiner Studie ein Zusammenhang mit dem Geschlecht nachgewiesen werden.^{98,103} Auch in unserer Studie zeigte sich kein signifikanter Unterschied der sIgA-Konzentrationen zwischen männlichen und weiblichen Probanden, allerdings zeigten männliche Probanden durchschnittlich höhere Albuminkonzentrationen im Speichel als weibliche (siehe Abbildung 6B).

Sekretorisches IgA zeigte bezüglich Alter und Geschlecht der Probanden eine ähnliche mediane Verteilung wie Albumin (siehe Abbildungen 5A und 6A). So zeigten männliche Probanden höhere sIgA- und Albuminkonzentrationen als weibliche (siehe Abbildungen 6A+B) und die durchschnittlichen sIgA- und Albuminkonzentrationen stiegen mit dem Alter der Probanden an (siehe Abbildung 5A+B). SIgA und Albuminkonzentrationen scheinen im Speichel also proportional vertreten zu sein. Wie erwartet konnten deren Schwankungen durch Quotientenbildung ausgeglichen werden und die sIgA/Albumin-Quotienten zeigten keine Abhängigkeit von Alter (siehe Abbildung 5C) und Geschlecht (siehe Abbildung 6C).

4.4 Korrelation von sIgA mit IgA und IgA-Subklassen

Insgesamt war IgA1 mit 31% (12/38) die am häufigsten erniedrigte Immunglobulin-Subklasse, IgA2 und das Gesamt-IgA waren bei 16% (6/38) bzw. 21% (8/37) der Patienten mit RRTI erniedrigt (siehe Tabelle 5). Wie erwartet zeigten IgA, IgA1 und IgA2 im Serum eine hohe Korrelation.

Die Erhebung von IgA und IgA-Subklassen im Serum zur Abschätzung der IgA-Sekretion liegt nahe. Allerdings konnten wir zeigen, dass IgA und seine Subklassen im Serum nur mäßig mit den sIgA/Albumin-Quotienten korrelierten. IgA2 zeigte dabei die höchste Korrelation. Ein isolierter IgA2-Mangel konnte bei keinem Patienten festgestellt werden, allerdings wiesen alle Patienten mit serologisch erniedrigtem IgA2 auch eine fehlende Sekretion von sIgA im Speichel auf. Es ist bekannt, dass IgA2 im Speichel die dominante Subklasse darstellt, ein IgA2-Mangel kann also mit Störungen der sekretorischen Immunität einhergehen.²⁰ Im Gegensatz dazu war bei 25% (2/8) der Patienten mit IgA-Mangel und 36% (4/11) der Patienten mit IgA1-Mangel sIgA im Speichel nachweisbar. Zahlreiche Patienten zeigten wiederum trotz unauffälligen IgA-Werten im Serum eine fehlende sIgA-Sekretion im Speichel. Das zeigt, dass IgA und seine Subklassen im Serum nur begrenzt Rückschlüsse auf die lokale Produktion von sIgA zulassen. Oftmals scheinen sich systemische Mängel an IgA im Rahmen eines absoluten IgA-Mangels auch in der lokalen IgA-Sekretion niederzuschlagen, andererseits kann von normalen IgA-Werten im Serum aber nicht auf eine normale Sekretionsleistung geschlossen werden.

Da zudem die große Mehrheit der Patienten, welche serologisch die Kriterien für die Diagnose eines selektiven IgA-Mangels erfüllen, symptomfrei ist, scheint sekretorisches IgA im Speichel besser mit Störungen der sekretorischen Immunität zu korrelieren als IgA im Serum, welches klassischerweise zur Diagnostik des sIgAD herangezogen wird: Nur bei 21% (8/37) der Patienten mit RRTI war der IgA-Spiegel im Serum erniedrigt und nur 11% (4/37) der Patienten erfüllten die Diagnosekriterien eines sIgAD. Im Speichel allerdings zeigten 39% (15/38) der Patienten mit RRTI eine fehlende sIgA-Sekretion.

4.5 Korrelation von sIgA mit IgG und IgG-Subklassen

19% der Patienten mit RRTI wiesen erniedrigte Gesamt-IgG-Spiegel auf, zudem zeigten zahlreiche Patienten erniedrigte IgG-Subklassen (siehe Tabelle 7). Außerdem zeigte sich in der Patientengruppe eine signifikante Korrelation zwischen IgA-, IgG2- und IgG4-Werten im Serum (siehe Abbildung 8A). Ursache für diese Korrelation könnten die zahlreichen bekannten genetischen Ursachen für einen kombinierten Mangel der IgA-, IgG2- und IgG4-Subklassen sein.¹¹⁰⁻¹¹²

Kim et al. konnten nachweisen, dass IgG2 und IgG4 im Speichel gesunder Probanden im Vergleich zum Serum überdurchschnittlich repräsentiert sind.¹¹³ Viele Studien konnten zudem bereits einen Zusammenhang zwischen IgA-Mangel, IgG-Subklassenmangel und Infektanfälligkeit feststellen.^{67,114} Oxelius et al. zeigten, dass Patienten mit erniedrigtem IgA und erniedrigten IgG-Subklassen unter häufigeren und schwereren Infektionen litten als Patienten mit einem isolierten IgA-Mangel.¹¹⁵ In einer Studie von Beard et al. konnten bei symptomatischen Patienten mit sIgAD ebenfalls IgG4 und IgG2 als am häufigsten zusätzlich erniedrigte Immunglobulinsubklassen neben IgA identifiziert werden.¹¹⁶ Auch in unserer Studie litten 4 von 8 der Patienten mit erniedrigtem IgA im Serum unter einem kombinierten IgA-IgG4-Mangel und 2 von 8 unter einem kombinierten IgA-Ig2-Ig4-Mangel. Eine aktuelle Veröffentlichung von Parker et al. empfiehlt bei Patienten mit erniedrigten IgA-Werten ausdrücklich die Bestimmung der IgG-Subklassen zur Abschätzung des Risikos für RRTI.¹¹⁷ Auf Grund unserer Ergebnisse können wir uns dieser Empfehlung anschließen.

4.6 MBL-Mangel und RRTI

In unserer Studie wiesen 21% (8/38) der Patienten mit RRTI einen absoluten MBL-Mangel auf. Erniedrigte MBL-Werte könnten bei einem bestehenden Immunglobulinmangel die Anfälligkeit gegenüber Infektionen der Atemwege negativ beeinflussen.¹¹⁸⁻¹²⁰ Dieser Zusammenhang konnte bisher jedoch nicht nachgewiesen werden.⁶⁷ In unserer Studie zeigten jedoch 75% (6/8) der Patienten mit RRTI und absolutem MBL-Mangel zusätzlich einen Immunglobulinmangel mindestens einer Subklasse. Nur zwei Patienten mit RRTI litten also ausschließlich unter einem MBL-Mangel. MBL korrelierte nicht mit den sIgA/Albumin-Quotienten oder Immunglobulinen im Serum.

4.7 Zusammenfassung und Ausblick

In unserer prospektiven Pilotstudie konnten wir zeigen, dass Patienten mit rezidivierenden Infekten der Atemwege im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe eine verminderte IgA-Sekretion im Speichel aufweisen. Die absoluten sIgA-Konzentrationen im Speichel unterschieden sich zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant, da diese starken intra- und interindividuellen Schwankungen unterliegen, welche durch die Bildung von sIgA/Albumin-Quotienten ausgeglichen werden können. So waren die sIgA/Albumin-Quotienten der Patientengruppe signifikant niedriger als die der Kontrollgruppe und wurden nicht durch Alter oder Geschlecht beeinflusst. Proben der Patientengruppe, in welchen Albumin nachgewiesen werden konnte, waren doppelt so häufig sIgA-negativ wie Proben der Kontrollgruppe.

Die sIgA/Albumin-Quotienten korrelierten in der Patientengruppe signifikant mit IgA und den IgA-Subklassen im Serum, am stärksten mit IgA2. Zudem wiesen alle Patienten mit serologisch erniedrigtem IgA2 auch eine fehlende Sekretion von sIgA im Speichel auf. Dies spiegelt die Bedeutung der IgA2-Subklasse in sekretorischem IgA wieder, wo sie, im Gegensatz zu systemischem IgA, die dominante Subklasse darstellt.²⁰ IgA und seine Subklassen im Serum zeigten untereinander eine stärkere Korrelation als mit den erhobenen sIgA/Albumin-Quotienten, da systemisches und sekretorisches IgA von unterschiedlichen B-Zell-Populationen gebildet werden.²⁰ Diese Beobachtung zeigt die begrenzte klinische Aussagekraft systemischer IgA-Werte in Bezug auf rezidivierende Infektionen der Atemwege.

IgG2 und IgG4 sind im Speichel durchschnittlich überrepräsentiert¹¹³. In unserer Studie korrelierten sie signifikant mit IgA im Serum. Bereits vorherige Studien zeigten diesen Zusammenhang zwischen IgA, Ig2, Ig4 und Infektanfälligkeit.^{67,114,116} Somit scheinen diese Subklassen ebenfalls eine Rolle in der Pathogenese von rezidivierenden Infektionen der Atemwege zu spielen. Insbesondere bei Patienten mit beeinträchtigter IgA-Produktion beeinflussen IgG2 und IgG4 Frequenz und Schwere der Infektionen und sollten immer miterhoben werden.^{115,117}

Auch Patienten mit normalen Immunglobulinen im Serum zeigten im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant niedrigere sIgA/Albumin-Quotienten. Insbesondere diese Patientengruppe, bei der serologisch keine Auffälligkeit der Immunglobulinproduktion nachgewiesen werden kann, könnte von der Erhebung sekretorischer Immunmarker diagnostisch profitieren. SIgA/Albumin-Quotienten scheinen unseren Ergebnissen nach, durch ihre geringere inter- und intraindividuelle Variabilität, dazu besser geeignet zu sein als absolute sIgA-Konzentrationen im Speichel. Basierend auf unseren Ergebnissen erscheint es diagnostisch sinnvoll, neben dem Gesamt-IgA im Serum auch die IgA- und IgG-Subklassen zu bestimmen, da diese ebenfalls Rückschlüsse auf die sekretorische Immunität zulassen.

Bevor der sIgA/Albumin-Quotient Eingang in die Routinediagnostik finden kann, werden größere Studien benötigt, um die vorliegenden Daten zu verifizieren und gegebenenfalls den Einfluss weiterer individueller oder Umwelt-Faktoren auf die Produktion sekretorischer Immunglobuline zu untersuchen. Um eine Vergleichbarkeit von Studien zu gewährleisten und um Referenzwerte zu etablieren müssen Speichelentnahme, Messmethode und Entnahmezeitpunkt standardisiert werden. Ebenso müssen ausreichend sensitive Assays für sIgA und Albumin angewendet werden, um für jede Probe einen sIgA/Albumin-Quotienten berechnen zu können. Gelingt dies, könnte in Zukunft die Diagnostik bei rezidivierenden Infektionen, ergänzend zur aktuell im Fokus stehenden systemisch-serologischen Diagnostik, um die Dimension der sekretorischen Immunglobuline ergänzt werden.

5 Literaturverzeichnis

- 1 Tlaskalova-Hogenova H, Tuckova L, Mestecky J, Kolinska J, Rossmann P, Stepankova R, Kozakova H, Hudcovic T, Hrnecir T, Frolova L, Kverka M. Interaction of mucosal microbiota with the innate immune system. *Scandinavian journal of immunology* 2005;62 Suppl 1:106-113.
- 2 Brandtzaeg P. Mucosal immunity: induction, dissemination, and effector functions. *Scandinavian journal of immunology* 2009;70:505-515.
- 3 Brandtzaeg P, Pabst R. Let's go mucosal: communication on slippery ground. *Trends in immunology* 2004;25:570-577.
- 4 Neutra MR, Mantis NJ, Kraehenbuhl JP. Collaboration of epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues. *Nature immunology* 2001;2:1004-1009.
- 5 Chabot SM, Shawi M, Eaves-Pyles T, Neutra MR. Effects of flagellin on the functions of follicle-associated epithelium. *The Journal of infectious diseases* 2008;198:907-910.
- 6 Brandtzaeg P. Function of mucosa-associated lymphoid tissue in antibody formation. *Immunological investigations* 2010;39:303-355.
- 7 Brandtzaeg P. Secretory IgA: Designed for Anti-Microbial Defense. *Frontiers in immunology* 2013;4:222.
- 8 Jackson DE, Lally ET, Nakamura MC, Montgomery PC. Migration of IgA-bearing lymphocytes into salivary glands. *Cellular immunology* 1981;63:203-209.
- 9 Brandtzaeg P. Immunology of tonsils and adenoids: everything the ENT surgeon needs to know. *International journal of pediatric otorhinolaryngology* 2003;67 Suppl 1:S69-76.
- 10 Brandtzaeg P. Potential of nasopharynx-associated lymphoid tissue for vaccine responses in the airways. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2011;183:1595-1604.
- 11 Quiding-Jarbrink M, Granstrom G, Nordstrom I, Holmgren J, Czerkinsky C. Induction of compartmentalized B-cell responses in human tonsils. *Infection and immunity* 1995;63:853-857.
- 12 Brandtzaeg P, Johansen FE. Mucosal B cells: phenotypic characteristics, transcriptional regulation, and homing properties. *Immunological reviews* 2005;206:32-63.
- 13 Johansen FE, Baekkevold ES, Carlsen HS, Farstad IN, Soler D, Brandtzaeg P. Regional induction of adhesion molecules and chemokine receptors explains disparate homing of human B cells to systemic and mucosal effector sites: dispersion from tonsils. *Blood* 2005;106:593-600.
- 14 Kweon MN. Sublingual mucosa: A new vaccination route for systemic and mucosal immunity. *Cytokine* 2011;54:1-5.
- 15 Pakkanen SH, Kantele JM, Moldoveanu Z, Hedges S, Hakkinen M, Mestecky J, Kantele A. Expression of homing receptors on IgA1 and IgA2 plasmablasts in blood reflects differential distribution of IgA1 and IgA2 in various body fluids. *Clinical and vaccine immunology : CVI* 2010;17:393-401.
- 16 Sonoda E, Hitoshi Y, Yamaguchi N, Ishii T, Tominaga A, Araki S, Takatsu K. Differential regulation of IgA production by TGF-beta and IL-5: TGF-beta induces surface IgA-positive cells bearing IL-5 receptor, whereas IL-5 promotes their survival and maturation into IgA-secreting cells. *Cellular immunology* 1992;140:158-172.
- 17 Mora JR, Iwata M, Eksteen B, Song SY, Junt T, Senman B, Otipoby KL, Yokota A, Takeuchi H, Ricciardi-Castagnoli P, Rajewsky K, Adams DH, Von Andrian UH. Generation of gut-homing IgA-secreting B cells by intestinal dendritic cells. *Science* 2006;314:1157-1160.
- 18 Litinskiy MB, Nardelli B, Hilbert DM, He B, Schaffer A, Casali P, Cerutti A. DCs induce CD40-independent immunoglobulin class switching through BLYS and APRIL. *Nature immunology* 2002;3:822-829.
- 19 He B, Xu W, Santini PA, Polydorides AD, Chiu A, Estrella J, Shan M, Chadburn A, Villanacci V, Plebani A, Knowles DM, Rescigno M, Cerutti A. Intestinal bacteria trigger T cell-independent immunoglobulin A(2) class switching by inducing epithelial-cell secretion of the cytokine APRIL. *Immunity* 2007;26:812-826.
- 20 Yel L. Selective IgA deficiency. *Journal of clinical immunology* 2010;30:10-16.

- 21 Senior BW, Woof JM. Effect of mutations in the human immunoglobulin A1 (IgA1) hinge on its susceptibility to cleavage by diverse bacterial IgA1 proteases. *Infection and immunity* 2005;73:1515-1522.
- 22 Mestecky J, Czerkinsky C, Russell MW, Brown TA, Prince SJ, Moldoveanu Z, Jackson S, Michalek SM, Mcghee JR. Induction and molecular properties of secretory and serum IgA antibodies specific for environmental antigens. *Annals of allergy* 1987;59:54-59.
- 23 Tomana M, Niedermeier W, Mestecky J, Skvaril F. The differences in carbohydrate composition between the subclasses of IgA immunoglobulins. *Immunochemistry* 1976;13:325-328.
- 24 Woof JM, Mestecky J. Mucosal immunoglobulins. *Immunological reviews* 2005;206:64-82.
- 25 Skvaril F, Morell A. Distribution of IgA subclasses in sera and bone marrow plasma cells of 21 normal individuals. *Advances in experimental medicine and biology* 1974;45:433-435.
- 26 Koshland ME. The coming of age of the immunoglobulin J chain. *Annual review of immunology* 1985;3:425-453.
- 27 Mestecky J, Kulhavy R, Kraus FW. Studies on human secretory immunoglobulin A. II. Subunit structure. *Journal of immunology* 1972;108:738-747.
- 28 Russell MW, Sibley DA, Nikolova EB, Tomana M, Mestecky J. IgA antibody as a non-inflammatory regulator of immunity. *Biochemical Society transactions* 1997;25:466-470.
- 29 Kuizenga A, Stolwijk TR, Van Agtmaal EJ, Van Haeringen NJ, Kijlstra A. Detection of secretory IgM in tears of IgA deficient individuals. *Current eye research* 1990;9:997-1005.
- 30 Brandtzaeg P. Immunohistochemical studies on various aspects of glandular immunoglobulin transport in man. *The Histochemical journal* 1977;9:553-572.
- 31 Korsrud FR, Brandtzaeg P. Quantitative immunohistochemistry of immunoglobulin- and J-chain-producing cells in human parotid and submandibular salivary glands. *Immunology* 1980;39:129-140.
- 32 Matthews JB, Potts AJ, Basu MK. Immunoglobulin-containing cells in normal human labial salivary glands. *International archives of allergy and applied immunology* 1985;77:374-376.
- 33 Brandtzaeg P. Secretory immunity with special reference to the oral cavity. *Journal of oral microbiology* 2013;5.
- 34 Hanson LA. Comparative immunological studies of the immune globulins of human milk and of blood serum. *International archives of allergy and applied immunology* 1961;18:241-267.
- 35 Tomasi TB, Jr., Tan EM, Solomon A, Prendergast RA. Characteristics of an Immune System Common to Certain External Secretions. *The Journal of experimental medicine* 1965;121:101-124.
- 36 Strugnell RA, Wijburg OL. The role of secretory antibodies in infection immunity. *Nature reviews. Microbiology* 2010;8:656-667.
- 37 Mostov KE, Kraehenbuhl JP, Blobel G. Receptor-mediated transcellular transport of immunoglobulin: synthesis of secretory component as multiple and larger transmembrane forms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1980;77:7257-7261.
- 38 Sletten K, Christensen TB, Brandtzaeg P. Human secretory component--III. Carbohydrates, amino acids and N-terminal sequence. *Immunochemistry* 1975;12:783-785.
- 39 Brandtzaeg P. Do salivary antibodies reliably reflect both mucosal and systemic immunity? *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007;1098:288-311.
- 40 Mestecky J, Russell MW. Specific antibody activity, glycan heterogeneity and polyreactivity contribute to the protective activity of S-IgA at mucosal surfaces. *Immunology letters* 2009;124:57-62.
- 41 Brandtzaeg P. 'ABC' of mucosal immunology. *Nestle Nutrition workshop series. Paediatric programme* 2009;64:23-38; discussion 38-43, 251-257.
- 42 Artis D. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nature reviews. Immunology* 2008;8:411-420.

- 43 Roos A, Bouwman LH, Van Gijlswijk-Janssen DJ, Faber-Krol MC, Stahl GL, Daha MR. Human IgA activates the complement system via the mannan-binding lectin pathway. *Journal of immunology* 2001;167:2861-2868.
- 44 Biesbrock AR, Reddy MS, Levine MJ. Interaction of a salivary mucin-secretory immunoglobulin A complex with mucosal pathogens. *Infection and immunity* 1991;59:3492-3497.
- 45 Woof JM, Kerr MA. The function of immunoglobulin A in immunity. *The Journal of pathology* 2006;208:270-282.
- 46 Alfsen A, Iniguez P, Bouguyon E, Bomsel M. Secretory IgA specific for a conserved epitope on gp41 envelope glycoprotein inhibits epithelial transcytosis of HIV-1. *Journal of immunology* 2001;166:6257-6265.
- 47 Quan CP, Berneman A, Pires R, Avrameas S, Bouvet JP. Natural polyreactive secretory immunoglobulin A autoantibodies as a possible barrier to infection in humans. *Infection and immunity* 1997;65:3997-4004.
- 48 International Union of Immunological Societies Expert Committee on Primary I, Notarangelo LD, Fischer A, Geha RS, Casanova JL, Chapel H, Conley ME, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, Hammartrom L, Nonoyama S, Ochs HD, Puck J, Roifman C, Seger R, Wedgwood J. Primary immunodeficiencies: 2009 update. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2009;124:1161-1178.
- 49 Pan-Hammarstrom Q, Hammarstrom L. Antibody deficiency diseases. *European journal of immunology* 2008;38:327-333.
- 50 Pereira LF, Sapina AM, Arroyo J, Vinuelas J, Bardaji RM, Prieto L. Prevalence of selective IgA deficiency in Spain: more than we thought. *Blood* 1997;90:893.
- 51 Kanoh T, Mizumoto T, Yasuda N, Koya M, Ohno Y, Uchino H, Yoshimura K, Ohkubo Y, Yamaguchi H. Selective IgA deficiency in Japanese blood donors: frequency and statistical analysis. *Vox sanguinis* 1986;50:81-86.
- 52 Edwards E, Razvi S, Cunningham-Rundles C. IgA deficiency: clinical correlates and responses to pneumococcal vaccine. *Clinical immunology* 2004;111:93-97.
- 53 Jorgensen GH, Gardulf A, Sigurdsson MI, Sigurdardottir ST, Thorsteinsdottir I, Gudmundsson S, Hammarstrom L, Ludviksson BR. Clinical symptoms in adults with selective IgA deficiency: a case-control study. *Journal of clinical immunology* 2013;33:742-747.
- 54 Aghamohammadi A, Abolhassani H, Biglari M, Abolmaali S, Moazzami K, Tabatabaeiyan M, Asgarian-Omran H, Parvaneh N, Mirahmadian M, Rezaei N. Analysis of switched memory B cells in patients with IgA deficiency. *International archives of allergy and immunology* 2011;156:462-468.
- 55 Koskinen S. Long-term follow-up of health in blood donors with primary selective IgA deficiency. *Journal of clinical immunology* 1996;16:165-170.
- 56 Wang N, Hammarstrom L. IgA deficiency: what is new? *Current opinion in allergy and clinical immunology* 2012;12:602-608.
- 57 Bussone G, Mouthon L. Autoimmune manifestations in primary immune deficiencies. *Autoimmunity reviews* 2009;8:332-336.
- 58 Cunningham-Rundles C, Zhou Z, Mankarious S, Courter S. Long-term use of IgA-depleted intravenous immunoglobulin in immunodeficient subjects with anti-IgA antibodies. *Journal of clinical immunology* 1993;13:272-278.
- 59 Hammarstrom L, Vorechovsky I, Webster D. Selective IgA deficiency (SIgAD) and common variable immunodeficiency (CVID). *Clinical and experimental immunology* 2000;120:225-231.
- 60 Hammarstrom L, Lonnqvist B, Ringden O, Smith CI, Wiebe T. Transfer of IgA deficiency to a bone-marrow-grafted patient with aplastic anaemia. *Lancet* 1985;1:778-781.
- 61 Plebani A, Carbonara AO, Bottaro A, Gallina R, Boccazzi C, Crispino P, Ruggeri L, Salvioni F, Duina M, Negrini A. Gene deletion as a cause of associated deficiency of IgA1, IgG2, IgG4 and IgE. *Immunodeficiency* 1993;4:245-248.
- 62 Lawton AR, Royal SA, Self KS, Cooper MD. IgA determinants on B-lymphocytes in patients with deficiency of circulating IgA. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 1972;80:26-33.

- 63 Conley ME, Cooper MD. Immature IgA B cells in IgA-deficient patients. *The New England journal of medicine* 1981;305:495-497.
- 64 Borte S, Pan-Hammarstrom Q, Liu C, Sack U, Borte M, Wagner U, Graf D, Hammarstrom L. Interleukin-21 restores immunoglobulin production ex vivo in patients with common variable immunodeficiency and selective IgA deficiency. *Blood* 2009;114:4089-4098.
- 65 Mohammadi J, Ramanujam R, Jarefors S, Rezaei N, Aghamohammadi A, Gregersen PK, Hammarstrom L. IgA deficiency and the MHC: assessment of relative risk and microheterogeneity within the HLA A1 B8, DR3 (8.1) haplotype. *Journal of clinical immunology* 2010;30:138-143.
- 66 Ferreira RC, Pan-Hammarstrom Q, Graham RR, Gateva V, Fontan G, Lee AT, Ortmann W, Urcelay E, Fernandez-Arquero M, Nunez C, Jorgensen G, Ludviksson BR, Koskinen S, Haimila K, Clark HF, Klareskog L, Gregersen PK, Behrens TW, Hammarstrom L. Association of IFIH1 and other autoimmunity risk alleles with selective IgA deficiency. *Nature genetics* 2010;42:777-780.
- 67 Aittoniemi J, Koskinen S, Laippala P, Laine S, Miettinen A. The significance of IgG subclasses and mannan-binding lectin (MBL) for susceptibility to infection in apparently healthy adults with IgA deficiency. *Clinical and experimental immunology* 1999;116:505-508.
- 68 Nikfarjam J, Pourpak Z, Shahrabi M, Nikfarjam L, Kouhkan A, Moazeni M, Aghamohammadi A. Oral manifestations in selective IgA deficiency. *International journal of dental hygiene* 2004;2:19-25.
- 69 Brandtzaeg P. Human secretory immunoglobulin M. An immunochemical and immunohistochemical study. *Immunology* 1975;29:559-570.
- 70 Brandtzaeg P. Human secretory component--VI. Immunoglobulin-binding properties. *Immunochemistry* 1977;14:179-188.
- 71 Norhagen G, Engstrom PE, Hammarstrom L, Soder PO, Smith CI. Immunoglobulin levels in saliva in individuals with selective IgA deficiency: compensatory IgM secretion and its correlation with HLA and susceptibility to infections. *Journal of clinical immunology* 1989;9:279-286.
- 72 Ammann AJ, Hong R. Selective IgA deficiency: presentation of 30 cases and a review of the literature. *Medicine* 1971;50:223-236.
- 73 Ludvigsson JF, Neovius M, Hammarstrom L. IgA Deficiency & Mortality: A Population-Based Cohort Study. *Journal of clinical immunology* 2013.
- 74 Jorgensen GH, Gardulf A, Sigurdsson MI, Arnlaugsson S, Hammarstrom L, Ludviksson BR. Health-related quality of life (HRQL) in immunodeficient adults with selective IgA deficiency compared with age- and gender-matched controls and identification of risk factors for poor HRQL. *Quality of life research : an international journal of quality of life aspects of treatment, care and rehabilitation* 2013.
- 75 Booth CK, Dwyer DB, Pacque PF, Ball MJ. Measurement of immunoglobulin A in saliva by particle-enhanced nephelometric immunoassay: sample collection, limits of quantitation, precision, stability and reference range. *Annals of clinical biochemistry* 2009;46:401-406.
- 76 Francis JL, Gleeson M, Pyne DB, Callister R, Clancy RL. Variation of salivary immunoglobulins in exercising and sedentary populations. *Medicine and science in sports and exercise* 2005;37:571-578.
- 77 Bishop NC, Walker GJ, Scanlon GA, Richards S, Rogers E. Salivary IgA responses to prolonged intensive exercise following caffeine ingestion. *Medicine and science in sports and exercise* 2006;38:513-519.
- 78 Doni BR, Patil S, Peerapur BV, Kadaganchi H, Bhat KG. Estimation and comparison of salivary immunoglobulin A levels in tobacco chewers, tobacco smokers and normal subjects. *Oral health and dental management* 2013;12:105-111.
- 79 Miletic ID, Schiffman SS, Miletic VD, Sattely-Miller EA. Salivary IgA secretion rate in young and elderly persons. *Physiology & behavior* 1996;60:243-248.
- 80 Hucklebridge F, Lambert S, Clow A, Warburton DM, Evans PD, Sherwood N. Modulation of secretory immunoglobulin A in saliva; response to manipulation of mood. *Biological psychology* 2000;53:25-35.

- 81 Carins J, Booth C. Salivary immunoglobulin-A as a marker of stress during strenuous physical training. *Aviation, space, and environmental medicine* 2002;73:1203-1207.
- 82 Antualpa K, Aoki MS, Moreira A. Intensified Training Period Increases Salivary IgA Responses But Does Not Affect the Severity of Upper Respiratory Tract Infection Symptoms in Prepuberal Rhythmic Gymnasts. *Pediatric exercise science* 2017:1-27.
- 83 Ben-Aryeh H, Naon H, Szargel R, Horowitz G, Gutman D. The concentration of salivary IgA in whole and parotid saliva and the effect of stimulation. *International journal of oral and maxillofacial surgery* 1986;15:81-84.
- 84 Topkas E, Keith P, Dimeski G, Cooper-White J, Punyadeera C. Evaluation of saliva collection devices for the analysis of proteins. *Clinica Chimica Acta* 2012;413:1066-1070.
- 85 Brandtzaeg P. Human secretory immunoglobulins. VII. Concentrations of parotid IgA and other secretory proteins in relation to the rate of flow and duration of secretory stimulus. *Archives of oral biology* 1971;16:1295-1310.
- 86 Metgud R, Patel S. Serum and salivary levels of albumin as diagnostic tools for oral pre-malignancy and oral malignancy. *Biotechnic & histochemistry : official publication of the Biological Stain Commission* 2013.
- 87 Henskens YM, Van Den Keijbus PA, Veerman EC, Van Der Weijden GA, Timmerman MF, Snoek CM, Van Der Velden U, Nieuw Amerongen AV. Protein composition of whole and parotid saliva in healthy and periodontitis subjects. Determination of cystatins, albumin, amylase and IgA. *Journal of periodontal research* 1996;31:57-65.
- 88 Pettigrew HD, Teuber SS, Gershwin ME. Clinical significance of complement deficiencies. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2009;1173:108-123.
- 89 Hibberd ML, Sumiya M, Summerfield JA, Booy R, Levin M. Association of variants of the gene for mannose-binding lectin with susceptibility to meningococcal disease. *Meningococcal Research Group. Lancet* 1999;353:1049-1053.
- 90 Garred P, Larsen F, Seyfarth J, Fujita R, Madsen HO. Mannose-binding lectin and its genetic variants. *Genes and immunity* 2006;7:85-94.
- 91 Unsworth DJ. Complement deficiency and disease. *Journal of clinical pathology* 2008;61:1013-1017.
- 92 Hoeflich C, Unterwalder N, Schuett S, Schmolke K, Boenisch O, Hammer M, Scheufele R, Michael D, Volk HD, Scheibenbogen C, Von Baehr V, Meisel C. Clinical manifestation of mannose-binding lectin deficiency in adults independent of concomitant immunodeficiency. *Human immunology* 2009;70:809-812.
- 93 Monto AS, Sullivan KM. Acute respiratory illness in the community. Frequency of illness and the agents involved. *Epidemiology and infection* 1993;110:145-160.
- 94 6 Warning Signs for PID in Adults. Immunodeficiencies ESF, 2008. (Accessed 04.02.2014 at <http://esid.org/Working-Parties/Clinical/Resources/6-Warning-Signs-for-PID-in-Adults.>)
- 95 Diagnostic and Clinical Care Guidelines for Primary Immunodeficiency Diseases. Foundation ID, 2009. (Accessed 04.02.2014 at <http://primaryimmune.org/wp-content/uploads/2011/04/IDF-Diagnostic-Clinical-Care-Guidelines-for-Primary-Immunodeficiency-Diseases-2nd-Edition.pdf.>)
- 96 Leitlinie: Diagnostik von primären Immundefekten. Fachgesellschaften ADWM, 2012. (Accessed 04.02.2014 at http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/027-050l_S2k_Diagnostik_Prim%C3%A4re_Immundefekte_2011-12.pdf.)
- 97 Dwyer DB, Booth CK, Pacque PF, Ball MJ. Considerations for the use of salivary IgA for monitoring mucosal immune function. *Aviation, space, and environmental medicine* 2010;81:581-584.
- 98 Rantonen PJ, Meurman JH. Correlations between total protein, lysozyme, immunoglobulins, amylase, and albumin in stimulated whole saliva during daytime. *Acta odontologica Scandinavica* 2000;58:160-165.
- 99 Richter J, Kral V, Zukov I, Subrt P, Rahm J. Circadian changes of the SIgA, lysozyme, albumin and copper content of saliva. *Czechoslovak medicine* 1980;3:249-254.

- 100 Pritchard BT, Stanton W, Lord R, Petocz P, Pepping GJ. Factors Affecting Measurement of Salivary Cortisol and Secretory Immunoglobulin A in Field Studies of Athletes. *Frontiers in endocrinology* 2017;8:168.
- 101 Strazdins L, Meyerkort S, Brent V, D'souza RM, Broom DH, Kyd JM. Impact of saliva collection methods on sIgA and cortisol assays and acceptability to participants. *Journal of immunological methods* 2005;307:167-171.
- 102 Aufricht C, Tenner W, Salzer HR, Khoss AE, Wurst E, Herkner K. Salivary IgA concentration is influenced by the saliva collection method. *European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry : journal of the Forum of European Clinical Chemistry Societies* 1992;30:81-83.
- 103 Kugler J, Hess M, Haake D. Secretion of salivary immunoglobulin A in relation to age, saliva flow, mood states, secretion of albumin, cortisol, and catecholamines in saliva. *Journal of clinical immunology* 1992;12:45-49.
- 104 Kornfeld SJ, Plaut AG. Secretory immunity and the bacterial IgA proteases. *Reviews of infectious diseases* 1981;3:521-534.
- 105 Klentrou P, Cieslak T, Macneil M, Vintinner A, Plyley M. Effect of moderate exercise on salivary immunoglobulin A and infection risk in humans. *European journal of applied physiology* 2002;87:153-158.
- 106 Jemmott JB, 3rd, McClelland DC. Secretory IgA as a measure of resistance to infectious disease: comments on Stone, Cox, Valdimarsdottir, and Neale. *Behavioral medicine* 1989;15:63-71.
- 107 Groschl M, Rauh M. Influence of commercial collection devices for saliva on the reliability of salivary steroids analysis. *Steroids* 2006;71:1097-1100.
- 108 Shpitzer T, Bahar G, Feinmesser R, Nagler RM. A comprehensive salivary analysis for oral cancer diagnosis. *Journal of cancer research and clinical oncology* 2007;133:613-617.
- 109 Wagner V, Wagnerova M, Kriz J. Levels of secretory immunoglobulin A, lysozyme (muramidase) and albumin in healthy adults of different ages. *Journal of hygiene, epidemiology, microbiology, and immunology* 1978;22:354-360.
- 110 Lefranc G, Chaabani H, Van Loghem E, Lefranc MP, De Lange G, Helal AN. Simultaneous absence of the human IgG1, IgG2, IgG4 and IgA1 subclasses: immunological and immunogenetical considerations. *European journal of immunology* 1983;13:240-244.
- 111 Van Loghem E. Genetically determined deficiencies in IgA and IgG. *Haematologia* 1980;13:185-189.
- 112 Oxelius VA, Carlsson AM, Hammarstrom L, Bjorkander J, Hanson LA. Linkage of IgA deficiency to Gm allotypes; the influence of Gm allotypes on IgA-IgG subclass deficiency. *Clinical and experimental immunology* 1995;99:211-215.
- 113 Kim K, Keller MA, Heiner DC. Immunoglobulin G subclasses in human colostrum, milk and saliva. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)* 1992;81:113-118.
- 114 French MA, Harrison G. An investigation into the effect of the IgG antibody system on the susceptibility of IgA-deficient patients to respiratory tract infections. *Clinical and experimental immunology* 1986;66:640-647.
- 115 Oxelius VA, Laurell AB, Lindquist B, Golebiowska H, Axelsson U, Bjorkander J, Hanson LA. IgG subclasses in selective IgA deficiency: importance of IgG2-IgA deficiency. *The New England journal of medicine* 1981;304:1476-1477.
- 116 Beard LJ, Ferrante A. IgG4 deficiency in IgA-deficient patients. *The Pediatric infectious disease journal* 1989;8:705-709.
- 117 Parker AR, Skold M, Ramsden DB, Ocejjo-Vinyals JG, Lopez-Hoyos M, Harding S. The Clinical Utility of Measuring IgG Subclass Immunoglobulins During Immunological Investigation for Suspected Primary Antibody Deficiencies. *Laboratory medicine* 2017;48:314-325.
- 118 Turner MW. Deficiency of mannan binding protein--a new complement deficiency syndrome. *Clinical and experimental immunology* 1991;86 Suppl 1:53-56.
- 119 Turner MW. Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunology today* 1996;17:532-540.

- 120 Van De Vosse E, Van Ostaijen-Ten Dam MM, Vermaire R, Verhard EM, Waaijer JL, Bakker JA, Bernards ST, Eibel H, Van Tol MJ, Van Dissel JT, Haverkamp MH. Recurrent respiratory tract infections (RRTI) in the elderly: A late onset mild immunodeficiency? *Clinical immunology* 2017;180:111-119.

6 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: sIgA (A) und Albumin (B) im Speichel von Patienten mit RRTI und der Kontrollgruppe	31
Abbildung 2: Korrelation von sIgA und Albumin im Speichel von Patienten mit RRTI (A) und der Kontrollgruppe (B)	32
Abbildung 3: sIgA (A) und Albumin (B) in Albumin-positiven Proben von Patienten- und Kontrollgruppe	33
Abbildung 4: sIgA/Albumin-Quotienten von Patienten mit RRTI (A), sowie Patienten mit RRTI mit und ohne Immunglobulinmangel im Serum (B) und der Kontrollgruppe	35
Abbildung 5: sIgA (A), Albumin (B) und sIgA/Albumin-Quotienten (C) in Abhängigkeit vom Alter.....	37
Abbildung 6: sIgA (A), Albumin (B) und sIgA/Albumin-Quotienten (C) in Abhängigkeit vom Geschlecht	38
Abbildung 7: Korrelation von sekretorischem und serologischem IgA	41
Abbildung 8: Korrelation von IgA mit IgG2 und IgG4 (A), sowie mit IgG1 und IgG3 (B).....	42

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Gruppenspezifische Alters- und Geschlechterverteilung aller Probanden	29
Tabelle 2: Gruppenspezifische Alters- und Geschlechterverteilung aller Probanden mit positivem Albuminnachweis.....	29
Tabelle 3: Gruppenspezifische Alters- und Geschlechterverteilung aller Patienten mit RRTI mit positivem Albuminnachweis.....	30
Tabelle 4: Kontingenztafel zur Beziehung von RRTI und sIgA-Nachweis.....	36
Tabelle 5: Immunglobuline A, A1 und A2	39
Tabelle 6: Patienten mit RRTI und erniedrigten (s)IgA-Werten.....	40
Tabelle 7: Immunglobuline G, G1, G2, G3, G4, M.....	42
Tabelle 8: MBL	43

8 Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Philipp Schaar, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Sekretorisches Immunglobulin A und Immunglobulin A-Subklassen in Patienten mit rezidivierenden Infektionen der Atemwege“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Berlin, 16. Juli 2018

.....

Philipp Schaar

9 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

10 Danksagung

Mein tiefster und herzlichster Dank gilt Prof. Dr. Carmen Scheibenbogen für die prompte Überlassung der Arbeit, die nachsichtige und fachkundige Betreuung der Dissertation und ihre unendliche Geduld.

Mein besonderer Dank gilt auch Sandra Bauer für ihre unersetzliche Arbeit und Hilfestellung im Labor, Dr. Madlen Löbel für die Korrektur meiner Statistik und Dr. Bodo Hoffmeister für die netten Stunden in der Immundefektambulanz.

Einen großen Dank für die finanzielle Unterstützung durch meinen Förderer im Rahmen des Deutschlandstipendiums, der Hans-Jürgen Schulz-Stiftung.

Vielen Dank an meine Mutter, meinen Bruder und meine Freunde.