

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der  
Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die Rolle von niedrigen Immunglobulin A- und E-Spiegeln bei  
chronischer spontaner Urtikaria

The role of low levels of immunoglobulins A and E in chronic  
spontaneous urticaria

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Merle Sauer

aus Bonn

Datum der Promotion: 30.11.2023



## Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis .....	iii
Abbildungsverzeichnis .....	iv
Abkürzungsverzeichnis .....	v
Zusammenfassung .....	1
1 Einleitung .....	4
1.1 Epidemiologie und Klinik der chronischen spontanen Urtikaria .....	4
1.2 Pathogenese der CSU .....	4
1.2.1 Grundprinzipien der Pathophysiologie der CSU .....	4
1.2.2 Typ-I-Autoimmunität .....	6
1.2.3 Typ-IIb-Autoimmunität .....	6
1.3 Therapie der CSU .....	7
1.4 Immunglobuline A und E bei der CSU .....	8
1.4.1 Niedrige IgE-Spiegel und CSU .....	8
1.4.2 Niedrige IgA-Spiegel und CSU .....	8
1.4.3 Einflüsse auf die IgA- und IgE-Spiegel .....	9
1.5 Fragestellung .....	9
2 Methodik .....	11
2.1 Studienpopulation .....	11
2.2 Bestimmung von Krankheitsmarkern und Laborwerten .....	12
2.3 Feststellung von Autoimmunphänomenen .....	12
2.4 Bestimmung von Typ-I- und Typ-IIb-Autoimmunität .....	13
2.5 Statistische Analyse .....	15
3. Ergebnisse .....	16
3.1 Baseline-Charakteristika der Patient*innen .....	16
3.2 Zusammenhang der Immunglobulin-Spiegel .....	17
3.3 Krankheitsaktivität und begleitende Phänomene .....	19

---

3.4	Serologische Marker .....	21
3.5	Autoimmunphänomene.....	22
3.6	Marker der Typ-IIb-Autoimmunität .....	24
3.7	Marker der Typ-I-Autoimmunität .....	25
4.	Diskussion .....	27
4.1	Zusammenfassung der Hauptergebnisse .....	27
4.2	Interpretation der Ergebnisse und Vergleich mit anderen Studien.....	27
4.3	Stärken und Limitationen .....	30
4.4	Klinische Anwendung.....	31
4.5	Weiterführende wissenschaftliche Fragestellungen.....	32
5.	Schlussfolgerungen .....	34
	Literaturverzeichnis.....	35
	Eidesstattliche Versicherung.....	39
	Anteilerklärung an der erfolgten Publikation.....	40
	Auszug aus der Journal Summary List .....	41
	Druckexemplar der Publikation .....	43
	Lebenslauf .....	55
	Komplette Publikationsliste .....	56
	Danksagung.....	57

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Gruppeneinteilung.....	12
Tabelle 2: Baseline-Charakteristika der Patient*innen.....	16
Tabelle 3: Krankheitsaktivität und serologische Marker zwischen den Gruppen.....	20
Tabelle 4: Autoimmunphänomene zwischen den Gruppen.....	22
Tabelle 5: Auftreten von Typ-I- und Typ-IIb-Autoimmunität zwischen den Gruppen.....	26

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Quaddeln am Oberschenkel.....	4
Abbildung 2: Angioödem der linken Hand.....	4
Abbildung 3: Mechanismen der Mastzellaktivierung bei Patient*innen mit CSU.....	5
Abbildung 4: Gating-Strategie des BAT in der Durchflusszytometrie.....	14
Abbildung 5: IgA- und IgE-Spiegel bei Patient*innen mit CSU korrelieren.....	18
Abbildung 6: IgG-Spiegel der Patient*innen im Vergleich zwischen den Gruppen.....	19
Abbildung 7: Anzahl an basophilen und eosinophilen Granulozyten im Blut der Patient*innen im Vergleich zwischen den Gruppen. ....	21
Abbildung 8: IgG-anti-TPO-Spiegel der Patient*innen im Vergleich zwischen den Gruppen.....	23
Abbildung 9: Anzahl an CD63 und CD203c positiven basophilen Granulozyten im BAT zwischen den Gruppen. ....	24
Abbildung 10: Ergebnisse des BAT und ASST der Patient*innen zwischen den Gruppen.....	25

## Abkürzungsverzeichnis

ANA	Anti-nukleäre Antikörper
ANCA	Anti-Neutrophile cytoplasmatische Antikörper
ASST	Autologer Serumtest
BAT	Basophilen-Aktivierungs-Test
CSU	Chronische spontane Urtikaria
DLQI	Dermatology Life Quality Index
IgA	Immunglobulin A
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IQR	Interquartilabstand
Md	Median
n	Anzahl
r	Spearman's Rangkorrelationskoeffizient
SIgAD	Selektive IgA-Defizienz
TPO	Thyreoperoxidase
TRAK	Thyreotropin-Rezeptor-Autoantikörper
UAS	Urtikaria-Aktivitäts-Score

## Zusammenfassung

### Hintergrund

Die chronische spontane Urtikaria (CSU) ist eine Urtikaria, die mehr als 6 Wochen besteht und ohne spezifische Auslöser auftritt. Obwohl die CSU eine der häufigsten Erkrankungen der Haut ist und eine massive Einschränkung der Lebensqualität für die betroffenen Patient\*innen darstellen kann, ist ihre Pathogenese nicht eindeutig geklärt. Die Degranulation von Mastzellen führt zur Symptomatik aus juckenden Quaddeln und Angioödemem. Sind Autoantikörper für diese Degranulation ursächlich, die gegen den  $Fc\epsilon$ -Rezeptor I oder das IgE auf Mastzellen gerichtet sind, spricht man von einer Typ-IIb-autoimmunen CSU. Patient\*innen mit diesem CSU-Subtyp haben häufig niedrige IgE-Spiegel und zeigen ein schlechtes Ansprechen auf eine Therapie mit Anti-IgE-Antikörpern. Auch bezüglich niedriger IgA-Spiegel gibt es Hinweise auf eine Assoziation zur autoimmunen CSU.

### Ziele

Das Ziel dieser Arbeit war es die Rolle niedriger IgA- und IgE-Spiegeln bei der CSU näher zu untersuchen. Unsere Hypothese dabei war, dass niedrige IgA- und niedrige IgE-Spiegel mit Merkmalen der Typ-IIb-autoimmunen CSU in Verbindung stehen.

### Methodik

Dazu untersuchten wir die Daten von 606 Patient\*innen mit CSU, die anhand ihrer IgA- und IgE-Spiegel in vier Gruppen eingeteilt und bezüglich verschiedener Parameter verglichen wurden. Ein Fokus lag dabei auf dem begleitenden Auftreten von Autoimmunphänomenen und Markern der Typ-IIb-Autoimmunität, wie dem Basophilen-Aktivierungstest (BAT). Außerdem wurden die Krankheitsaktivität, begleitende Krankheitserscheinungen und verschiedene serologische Marker zwischen den Gruppen verglichen.

### Ergebnisse

Der Vergleich zwischen den vier Gruppen machte deutlich, dass bei Patient\*innen mit CSU niedrige IgE-Spiegel häufig mit niedrigen IgA-Spiegeln zusammenhängen ( $r=0,316$ ;  $p<0,001$ ). Bei Patient\*innen mit niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln kommt es häufiger zur Ausbildung von Angioödemem ( $p=0,03$ ;  $p=0,04$ ) und begleitenden Autoimmunphänomenen ( $p=0,006$ ;  $p<0,001$ ). Auch eine Typ-IIb-Autoimmunität, im Sinne eines positiven BAT, trat am häufigsten bei Patient\*innen mit niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln auf ( $p=0,003$ ;

$p < 0,001$ ). Niedrige Eosinophilenzahlen traten insbesondere bei Patient\*innen mit niedrigen IgE-Spiegeln auf ( $p = 0,04$ ;  $p < 0,001$ ), während die Anzahl an basophilen Granulozyten insbesondere bei der Kombination aus niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln erniedrigt war ( $p < 0,001$ ).

### **Schlussfolgerung**

Insgesamt zeigt die vorliegende Arbeit, dass neben niedrigen IgE-, auch niedrige IgA-Spiegel eine Rolle in der Pathogenese der autoimmunen CSU spielen. Insbesondere die Kombination aus niedrigen IgA- und niedrigen IgE-Spiegeln ist mit Merkmalen von Autoaktivität im Sinne einer Typ-IIb-Autoimmunität und dem Auftreten von Autoimmunphänomenen assoziiert. In der Charakterisierung der CSU ist es daher sinnvoll, in der Routinediagnostik die Bestimmung von IgA- und IgE-Spiegeln zu implementieren, da diese als Krankheitsmarker fungieren und in der Therapieplanung helfen können.

## **Abstract**

### **Background**

Chronic spontaneous urticaria (CSU) is defined as urticaria that lasts for more than six weeks and appears without a specific triggering factor. Despite being one of the most common skin diseases, with large impact on patients' quality of life, its pathogenesis is still insufficiently understood. The degranulation of skin mast cells leads to the appearance of pruritic wheals and/or angioedema. If the degranulation of mast cells is caused by autoantibodies directed against IgE or its high-affinity receptor FC $\epsilon$  receptor 1, this is referred to as type IIb autoimmune CSU. It has been found that patients with this subtype of CSU have lower levels of serum IgE and respond poorly to treatment with anti-IgE-antibodies. Also, low levels of serum IgA have been described in autoimmune CSU.

### **Objective**

Our aim was to further characterize CSU patients with low serum levels of IgA and IgE. The hypothesis was that low levels of IgA, as well as low levels of IgE are associated with features of type IIb autoimmune CSU.

## Methods

We included 606 patients with CSU in our study and divided them into four groups based on their serum IgA and IgE levels. The groups were compared based on various parameters, focusing on concomitant occurrence of autoimmune phenomena and markers of type IIb autoimmune CSU, such as the basophil activation test (BAT). In addition, disease activity, concomitant conditions and different serological markers were compared between the groups.

## Results

We found out that in patients with CSU low IgE levels are often associated with low IgA levels ( $r=0.316$ ,  $p<0.001$ ). Patients with low IgA and low IgE levels were more likely to develop angioedema ( $p=0.03$ ,  $p=0.04$ ) and have concomitant autoimmune phenomena ( $p=0.006$ ,  $p<0.001$ ). Type IIb autoimmunity, in the sense of a positive BAT, also occurred most often in patients with low IgA and IgE levels ( $p=0.003$ ,  $p<0.001$ ). Low eosinophil counts were connected to low IgE levels ( $p=0.04$ ,  $p<0.001$ ), whereas basophil counts were especially low in patients that had low IgA and low IgE levels combined ( $p<0.001$ ).

## Conclusion

In summary, our results show that low IgA levels as well as low IgE levels play a role in the pathogenesis of autoimmune CSU. Especially the combination of low IgA and low IgE levels is associated with features of autoreactivity, in particular type IIb autoimmunity and the occurrence of autoimmune phenomena. To further characterize patients with CSU, the assessment of serum IgA and IgE levels should therefore be implemented in routine diagnostic workup of CSU patients, as these parameters might act as disease markers and can help in planning specific therapy for patients with CSU.

# 1 Einleitung

## 1.1 Epidemiologie und Klinik der chronischen spontanen Urtikaria

Die chronische Urtikaria ist mit einer Lebenszeitprävalenz von 1,4% eine der häufigsten dermatologischen Erkrankungen (1). Die Patient\*innen entwickeln juckende, flüchtige Quaddeln (**Abb. 1**), tiefer liegende Angioödeme (**Abb. 2**) oder beides. Als chronische spontane Urtikaria (CSU) wird eine Urtikaria charakterisiert, die länger als 6 Wochen besteht und ohne einen spezifischen Auslöser auftritt, in Abgrenzung zu der chronischen induzierbaren Urtikaria, die durch bestimmte Faktoren hervorgerufen wird, beispielsweise Kälte, Wärme, Druck oder Vibration (2). Eine nicht ausreichend therapierte CSU führt aufgrund des täglichen Juckreizes, des spontanen und unvorhersehbaren Auftretens der Quaddeln und der Möglichkeit von zum Teil massiven Schwellungen von Zunge, Lippen oder Augenlidern zu einer erheblichen Einschränkung der Lebensqualität (3).



**Abbildung 1: Quaddeln am Oberschenkel.**

Quelle: Urtikaria-Galerie, urticaria network e.V. (<https://www.urtikaria.net/de/fuer-betroffene/galerie/album-urtikaria.html>)



**Abbildung 2: Angioödem der linken Hand.**

Quelle: Urtikaria-Galerie, urticaria network e.V. (<https://www.urtikaria.net/de/fuer-betroffene/galerie/album-urtikaria.html>)

## 1.2 Pathogenese der CSU

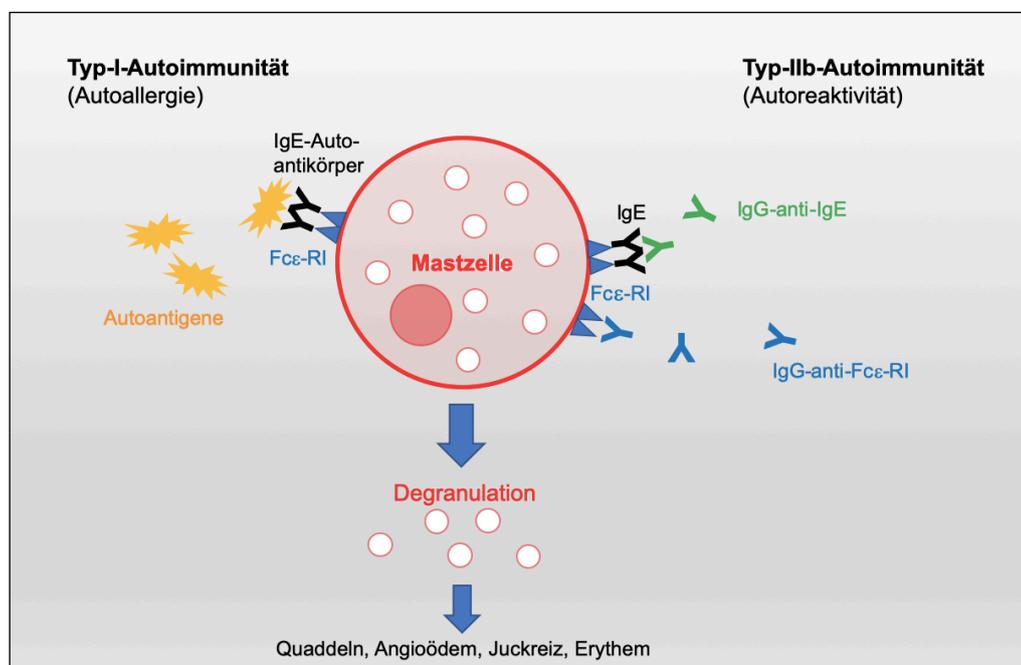
### 1.2.1 Grundprinzipien der Pathophysiologie der CSU

Obwohl die CSU eine häufige und relevante Erkrankung ist, ist die genaue Pathophysiologie nicht vollends geklärt. Eine wichtige Rolle spielen Mastzellen, die durch Degranula-

tion zur Ausschüttung verschiedener Mediatoren führen, allen voran Histamin. Durch lokale Vasodilatation und erhöhte Kapillarpermeabilität, kommt es zur Ausbildung von Erythemen, Ödemen und Quaddeln. Außerdem werden sensorische Hautnerven stimuliert, die zu Juckreiz führen (4).

Die genauen Ursachen für die Mastzellaktivierung und -degranulation sind weitgehend unklar, es wird jedoch vermutet, dass autoimmune Mechanismen die Hauptursache darstellen, da verschiedene funktionelle Autoantikörper identifiziert werden konnten.

Dabei wird, analog zu den Hypersensitivitätsreaktionen nach Gell und Coombs zwischen Typ-I- und Typ-IIb-Autoimmunität unterschieden (**Abb. 3**) (5).



**Abbildung 3: Mechanismen der Mastzellaktivierung bei Patient\*innen mit CSU.** Bei der Typ-I-Autoimmunität binden IgE-Autoantikörper, an den Mastzellrezeptor  $Fc\epsilon$ -Rezeptor I ( $Fc\epsilon$ -RI). Durch Bindung von körpereigenen Autoantigenen an die IgE-Autoantikörper kommt es zur Degranulation der Mastzelle, wodurch es zur Ausbildung von Quaddeln, Angioödem, Juckreiz und Erythem kommt. Bei der Typ-IIb-Autoimmunität kommt es zu dieser Degranulation durch Bindung von IgG-Antikörpern, die gegen den  $Fc\epsilon$ -RI direkt gerichtet sind (IgG-anti- $Fc\epsilon$ -RI) oder gegen das IgE, das an dem  $Fc\epsilon$ -RI gebunden vorliegt (IgG-anti-IgE). Quelle: modifiziert nach Kolchir et al., 2017 (5).

### 1.2.2 Typ-I-Autoimmunität

Bei der Typ-I-Autoimmunität, die auch als Autoallergie bezeichnet wird, binden Immunglobulin E (IgE)-Autoantikörper an den hochspezifischen Mastzellrezeptor  $Fc\epsilon$ -Rezeptor I. Durch Bindung von körpereigenen Antigenen, sogenannten Autoallergenen, an die IgE-Autoantikörper kommt es zur Quervernetzung dieser und dadurch zur Degranulation der Mastzelle (5). Bisher konnten mehr als 200 IgE-Autoantigene identifiziert werden, die größte Bedeutung haben dabei IgE-anti-Thyreoperoxidase (TPO) (6), IgE-anti-doppelsträngige DNA (7) und IgE-anti-Interleukin-24 (8). Allerdings ist die Bestimmung dieser Autoantigene noch aufwendig und gehört bisher nicht zur Routinediagnostik bei Patient\*innen mit CSU.

### 1.2.3 Typ-IIb-Autoimmunität

Bei der Typ-IIb-Autoimmunität konnten Immunglobulin G (IgG)-Autoantikörper identifiziert werden, die für die Degranulation der Mastzellen verantwortlich sind. Dabei handelt es sich um Antikörper, die gegen den  $Fc\epsilon$ -Rezeptor I (9) oder direkt gegen das IgE (10) gerichtet sind.

Als Goldstandard zur Diagnosestellung solch einer Typ-IIb-Autoimmunität bei CSU-Patient\*innen wurden von der EAACI Arbeitsgruppe (11) drei Kriterien definiert:

- Ein positiver in vivo Test in Form eines autologen Serumtests (ASST)
- Ein positiver in vitro Test in Form eines Basophilen-Aktivierungs-Tests (BAT) oder Basophilen-Histamin-Release-Assays (BHRA)
- Ein positiver Immunoassay (ELISA oder Western Blot) für spezifische IgG Autoantikörper gegen den  $Fc\epsilon$ -Rezeptor I oder gegen IgE direkt

Aktuelle Arbeiten konnten zeigen, dass bei 87.9% der Patient\*innen mit CSU mindestens ein Kriterium vorliegt, jedoch nur bei 8% alle drei Kriterien gleichzeitig (12). Die Diagnosestellung der Typ-IIb-Autoimmunität ist also weiterhin schwierig und eine genauere Charakterisierung spezifischer Kriterien ist dringend notwendig und Gegenstand aktueller Forschungen.

Verschiedene klinische Konstellationen und Laborparameter konnten mit der Typ-IIb-Autoimmunität in Zusammenhang gebracht werden. So ist das Auftreten rezidivierender Angioödeme bei Patient\*innen mit positivem ASST im Vergleich zu Patient\*innen, die keine Autoreaktivität zeigen erhöht (13).

Weiterhin konnte eine niedrige Anzahl an basophilen Granulozyten im Blut von CSU-Patient\*innen mit schweren Verläufen der CSU und Typ-IIb-Autoimmunität assoziiert werden (14). Dabei wird angenommen, dass die Basopenie im Blut durch die Rekrutierung zirkulierender basophiler Granulozyten in die Quaddeln verursacht wird (10, 15).

Auch die Rolle eosinophiler Granulozyten in der Pathogenese der CSU wird derzeit diskutiert, da gezeigt werden konnte, dass diese ebenfalls in die Läsionen einwandern (16). Außerdem konnte ein Zusammenhang zwischen Eosinopenie und Typ-IIb-Autoimmunität, hoher Krankheitsaktivität, schlechtem Therapieansprechen und niedrigen IgE-Spiegeln festgestellt werden (17).

Neueste Erkenntnisse legen weiterhin nahe, dass Typ-IIb-Autoimmunität mit der Kombination aus niedrigen Gesamt-IgE-Spiegeln und hohen IgG-anti-TPO-Spiegeln assoziiert ist (18).

### **1.3 Therapie der CSU**

Die Standardtherapie der CSU besteht aus H1-Antihistaminika der zweiten Generation, den sogenannten nicht sedierenden Antihistaminika. Allerdings führt diese Therapie nur bei etwa der Hälfte der Patient\*innen zu Beschwerdefreiheit (3). Bei länger als zwei Wochen persistierenden Beschwerden unter der Standarddosis (einmal täglich), wird eine Dosissteigerung auf die bis zu vierfache Menge empfohlen (2), jedoch bleibt auch unter dieser Therapie jede\*r 3.-4. Patient\*in symptomatisch (3). Dann wird die zusätzliche Gabe von Omalizumab empfohlen. Dabei handelt es sich um einen rekombinanten humanisierten Anti-IgE-Antikörper, der genaue Wirkmechanismus ist allerdings noch nicht endgültig geklärt (19). Eine weitere Therapieeskalation kann mit systemischen Immunsuppressiva wie Ciclosporin A erfolgen. Bei akuter Exazerbation der Symptomatik wird die kurzzeitige Gabe systemischer Steroide empfohlen (2).

Das unzureichende Therapieansprechen der Standardmedikation mit Antihistaminika stellt eine massive Einschränkung der Lebensqualität dar und führt durch häufige Wiedervorstellungen und zum Teil teure Medikation zu hohen Kosten für das Gesundheitssystem.

## 1.4 Immunglobuline A und E bei der CSU

### 1.4.1 Niedrige IgE-Spiegel und CSU

Bei Immunglobulinen handelt es sich um lösliche Antikörper, die von reifen Plasmazellen produziert werden und im Rahmen der spezifischen Immunreaktion eine wichtige Aufgabe bei der Abwehr von Pathogenen übernehmen.

Das IgE ist eine Immunglobulinunterklasse, die insbesondere der Abwehr von Parasiten dient. Es liegt meist an Mastzellen gebunden vor und spielt auch bei allergischen Reaktionen eine wichtige Rolle, weshalb es bei Patient\*innen mit Krankheiten aus dem atopischen Formenkreis oft erhöht ist.

Durch die erfolgreiche Behandlung von CSU-Patient\*innen mit Omalizumab wurde die Beteiligung von IgE an der Entstehung der CSU bestätigt (20). Bei Patient\*innen mit hohen IgE-Spiegeln wirkt Omalizumab meist gut, während Patient\*innen mit niedrigen IgE-Spiegeln weniger von der Therapie profitieren (21). Bei diesen CSU-Patient\*innen liegt oft eine Typ-IIb-Autoimmunität zu Grunde (12). Warum CSU-Patient\*innen mit Typ-IIb-Autoimmunität oftmals niedrige IgE-Spiegeln haben bleibt jedoch ungeklärt. Eine Hypothese ist, dass das IgE mit den Anti-IgE-Antikörpern komplexiert und daher bei diesen Patient\*innen nicht messbar ist (22).

### 1.4.2 Niedrige IgA-Spiegel und CSU

Das Immunglobulin A (IgA) kommt vor allem in Körperflüssigkeiten und auf Schleimhautoberflächen vor und dient so als Abwehr gegen das Eindringen von Pathogenen über die Epithelien. Es ist die mengenmäßig am meisten produzierte Immunglobulinunterklasse, allerdings gelangt nur ein geringer Teil, das nichtsekretorische IgA, in das Blut.

Selektive Immunglobulin A-Defizienz (SIgAD) ist der häufigste primäre Immundefekt (23). Sie liegt vor, wenn Patient\*innen IgA-Spiegel  $<0,07$  g/l aufweisen, bei normalen Immunglobulin M (IgM)- und IgG-Spiegeln und nach Ausschluss anderer Ursachen einer Hypogammaglobulinämie (24). Patient\*innen mit SIgAD leiden häufiger an CSU als die Normalbevölkerung (25) und sie haben ein höheres Risiko, an Autoimmunerkrankungen zu erkranken (26).

Als Ursache dafür wird diskutiert, ob durch die verminderte Schleimhautabwehr bei Patient\*innen mit SIgAD Antigene aus der Umgebung leichter in die Zirkulation gelangen und

über die Induktion von molekularer Mimikry und Kreuzreaktion mit Eigenantigenen zur Entwicklung autoreaktiver Antikörper führen (26).

Auch bei der CSU kommt es häufig begleitend zu Autoimmunerkrankungen, vor allem der Schilddrüse (27). Denkbar wäre, dass auch die autoimmune CSU mit niedrigen IgA-Spiegeln in Verbindung steht. Frossi et al. untersuchten deswegen Einzelfälle von Patient\*innen mit SIgAD und begleitender CSU und stellten fest, dass alle der untersuchten Patient\*innen (n=4) positive Ergebnisse in ASST und BAT aufwiesen, die das Vorliegen einer Typ-IIb-Autoimmunität bei diesen Patient\*innen wahrscheinlich machen (28).

#### 1.4.3 Einflüsse auf die IgA- und IgE-Spiegel

Es gibt zahlreiche Faktoren, die die individuellen IgA- und IgE-Spiegel beeinflussen. So konnte gezeigt werden, dass Frauen durchschnittlich niedrigere IgA- und IgE-Spiegel haben als Männer (29, 30). Während IgA-Spiegel mit dem Alter zunehmen, möglicherweise durch die Zunahme chronisch entzündlicher Erkrankungen über die Zeit (29), nimmt der Gesamt-IgE-Spiegel im Laufe des Lebens ab. Dies liegt daran, dass potentielle Sensibilisierungen gegen Allergene abnehmen (31).

Ein Zusammenhang zwischen IgA- und IgE-Spiegeln konnte bei primären Immundefekten gezeigt werden. So haben Patient\*innen mit variablem Immundefektsyndrom oft sehr niedrige IgA-Spiegel in Kombination mit erniedrigten IgE-Spiegeln (32).

### 1.5 Fragestellung

Während über die Rolle von IgE bei der CSU schon einiges bekannt ist, wurde zur Rolle andere Immunglobuline noch wenig geforscht. Die Diagnosestellung der Typ-IIb-autoimmunen CSU stellt weiterhin eine Herausforderung in der Diagnostik der CSU dar. Ziel dieser Arbeit war es, mehr über die Rolle von niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln bei der CSU zu erfahren und zu untersuchen, ob diese zwei Biomarker bei der oft noch schwierigen Diagnostik der autoimmunen CSU hilfreich sein können.

Dabei lautete unsere Arbeitshypothese, dass nicht nur niedrige IgE-Spiegel, sondern auch niedrige IgA-Spiegel und insbesondere die Kombination beider Immunglobuline mit Typ-IIb-Autoimmunität bei chronisch spontaner Urtikaria in Zusammenhang stehen.

Weiterhin sollten die Ergebnisse mit Daten zu weiteren Parametern erweitert werden, die mit Typ-IIb-Autoimmunität in Verbindung gebracht wurden.

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden dazu unter dem Titel „*Lower IgA Levels in Chronic Spontaneous Urticaria Are Associated With Lower IgE Levels and Autoimmunity*“ bereits veröffentlicht (33).

## 2 Methodik

### 2.1 Studienpopulation

Um unsere Forschungsfrage zu prüfen, verglichen wir CSU-Patient\*innen mit und ohne niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln. Eingeschlossen wurden dabei 606 Patient\*innen, die sich zwischen 2004 und 2019 zur stationären Behandlung einer CSU an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité - Universitätsmedizin zu Berlin befanden. Ziel des stationären Aufenthalts war die Ursachenfindung der CSU. Die Sammlung der klinischen Daten der Patient\*innen erfolgte mit Zustimmung der Ethikkommission der Charité unter dem Titel „*Monitoring (Erweiterte Diagnostik) von Therapieeffekten bei Patienten mit schwierig zu behandelnder chronischer Urtikaria*“ (Antragsnummer EA1/268/13). Alle eingeschlossenen Patient\*innen gaben nach ausführlicher Aufklärung über Inhalt und Ziel der Arbeit ihre schriftliche Einwilligung und stimmten der pseudonymisierten Verarbeitung ihrer Daten zu.

Alle Patient\*innen, von denen komplette Datensätze zu IgA-, IgE-, IgG- und IgM-Spiegeln vorhanden waren, wurden eingeschlossen (n=523). Um die Gruppengrößen zu maximieren, wurden im Nachhinein bei Patient\*innen (n=83), mit bekanntermaßen erniedrigten Werten für IgA oder IgE die weiteren zum Teil fehlenden Immunglobulin-Spiegel nachbestimmt.

Patient\*innen, die mit Anti-IgE-Antikörpern, wie Omalizumab, oder Immunsuppressiva vorbehandelt waren, wurden in diese Studie nicht eingeschlossen. Außerdem sollten die Patient\*innen vier Wochen vor Beginn der Messungen auf die Einnahme von Antihistaminika und oralen Glukokortikoiden, soweit wie möglich verzichten, damit Immunglobulin-Spiegel möglichst unverfälscht waren.

Anhand der Höhe der IgA- und IgE-Werte, unabhängig von der Höhe der anderen Immunglobuline, erfolgte die Einteilung in vier Gruppen (**Tab. 1**). Bei dem Grenzwert für niedrige IgE-Werte orientierten wir uns an vorangehenden Arbeiten, die IgE <40 kU/l als erniedrigt einstufen (12, 34). Anhand des medianen IgA-Wertes der Kohorte definierten wir IgA <1,84 g/l als niedrig. Die Serumlevel der Immunglobuline wurden mithilfe verschiedener Verfahren durch das *Labor Berlin* bestimmt: IgE mittels Elektro Chemilumineszenz Immuno-Assay und das IgA durch eine Immunturbidimetrie (35).

**Tabelle 1: Gruppeneinteilung.**

<b>Gruppe</b>	<b>Kurzbezeichnung</b>
Niedrige IgA- und niedrige IgE-Spiegel	IgA <sup>↓</sup> IgE <sup>↓</sup>
Niedrige IgA-, normale oder hohe IgE-Spiegel	IgA <sup>↓</sup> IgE <sup>→</sup>
Niedrige IgE-, normale oder hohe IgA-Spiegel	IgA <sup>→</sup> IgE <sup>↓</sup>
Normale oder hohe IgA- und normale oder hohe IgE-Spiegel	IgA <sup>→</sup> IgE <sup>→</sup>

Quelle: eigene Darstellung

## 2.2 Bestimmung von Krankheitsmarkern und Laborwerten

Die Gruppen verglichen wir anhand verschiedener Zielgrößen. Die Krankheitsaktivität der Patient\*innen wurde mittels Urtikaria-Aktivitäts-Score (UAS) ermittelt. Dieser wird anhand der Stärke des Juckreizes der Quaddeln und ihrer Anzahl an sieben aufeinanderfolgenden Tagen charakterisiert (UAS7) und kann Werte von 0-42 Punkten annehmen (2). Um das subjektive Krankheitsleiden zwischen den Gruppen zu vergleichen, wurde der Dermatology Life Quality Index (DLQI) ermittelt. Dabei handelt es sich um einen validierten Fragebogen, der die Lebensqualität bei verschiedenen Hauterkrankungen aufzeigt (36). Weiterhin untersuchten wir die Ausprägung der Urtikaria – konkret heißt das, ob es zur Ausbildung von Quaddeln mit oder ohne Angioödem kam.

Außerdem wurden die Patient\*innen anhand von Entzündungswerten wie dem C-reaktiven Protein und der Leukozytenzahl verglichen. Weiterhin wurden basophile und eosinophile Granulozyten bestimmt.

## 2.3 Feststellung von Autoimmunphänomenen

Dokumentiert wurde außerdem das Vorliegen anderer Autoimmunerkrankungen, die aus den Patient\*innenakten entnommen wurden. Um präzisere Aussagen zum Vorliegen autoimmuner Prozesse treffen zu können wurden außerdem verschiedene Autoantikörper im Blut der Patient\*innen bestimmt: Anti-Neutrophile zytoplasmatische Antikörper (ANCA), Anti-Nukleäre Antikörper (ANA), Rheumafaktor IgM, zirkulierende Immunkom-

plexe und die Schilddrüsenantikörper IgG-anti-TPO und Thyreotropin-Rezeptor-Autoantikörper (TRAK). Daraus definierten wir den Begriff „*Autoimmunphänomene*“ der das Vorliegen von erhöhten Autoantikörpern, Schilddrüsenantikörpern und klinisch gesicherten Autoimmunerkrankungen zusammenfasst. Als erhöht wurden die Autoantikörper eingestuft wenn die Spiegel folgende Grenzwerte überstiegen: ANA  $\geq 1:160$ , ANCA: cANCA  $\geq 10$  U/ml oder pANCA  $\geq 5$  U/ml, Rheumafaktor IgM  $\geq 20$  U/ml, zirkulierende Immunkomplexe  $\geq 55$   $\mu\text{g/ml}$ . Erhöhte Schilddrüsenantikörper (IgG-anti-TPO:  $\geq 35$  kU/l und TRAK:  $\geq 2$  U/l) wurden nur als Autoimmunphänomen gewertet, wenn bei den entsprechenden Patient\*innen auch eine passende klinische Symptomatik vorlag.

## 2.4 Bestimmung von Typ-I- und Typ-IIb-Autoimmunität

Von besonderer Relevanz war im Zuge dieser Arbeit die Ermittlung von Merkmalen der Typ-I- und insbesondere der Typ-IIb-Autoimmunität.

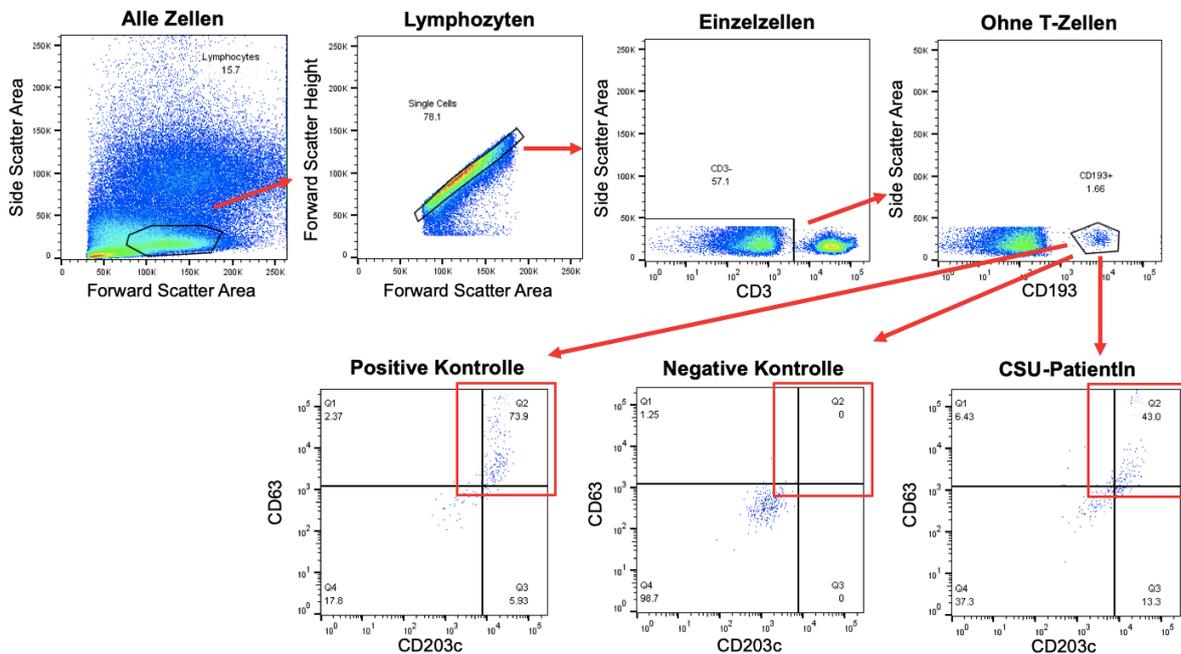
Für die Typ-I-Autoimmunität wurden die Spiegel eines der relevantesten Autoantigene, des IgE-anti-TPO, bestimmt. Dazu etablierten wir einen ELISA, der spezifisch für die Messung der IgE-anti-TPO-Spiegel ist und nachfolgend wurde dieser in eingefrorenem Serum der Patient\*innen gemessen ( $n=399$ ). Anhand von Messungen des IgE-anti-TPO-Spiegels in gesunden Kontrollen ( $n=14$ ) ermittelten wir einen Grenzwert ( $>1,09$  ng/ml), ab dem wir die IgE-anti-TPO-Spiegel als erhöht einstufen.

Zur Diagnostik der Typ-IIb-Autoimmunität wurde ein ASST und ein BAT durchgeführt.

Für den ASST wurde den Patient\*innen Blut entnommen und das daraus gewonnene Serum in die Haut injiziert. Ein positives Testergebnis liegt dabei vor, wenn es zur Ausbildung einer Quaddel kommt, deren Durchmesser nach 30 Minuten mindestens 1,5 mm größer als die Negativkontrolle mit Kochsalzlösung ist (39).

Der BAT in der Diagnostik der autoimmunen CSU funktioniert im Wesentlichen indem gesunde basophile Granulozyten mit dem Serum von CSU-Patient\*innen inkubiert werden. Wenn sich in diesem Serum Antikörper gegen IgE oder den  $Fc\epsilon$ -Rezeptor I befinden (Typ-IIb-Autoimmunität), kommt es zur Aktivierung und Degranulation der Basophilen. Dabei können die Marker CD63 und CD203c auf den Basophilen in der Durchflusszytometrie messbar gemacht werden. Wir entschieden uns dazu, nur die doppelt aktivierten

Zellen zu werten, um falsch-positive Ergebnisse im BAT zu minimieren. Die Gating-Strategie in der Durchflusszytometrie dazu kann der **Abbildung 4** (abgebildet als *Supplementary Figure 1* in der Originalpublikation (33)) entnommen werden.



**Abbildung 4: Gating-Strategie des BAT in der Durchflusszytometrie.** Beziehungen zwischen den Fenstern werden durch Pfeile angezeigt. Die Identifizierung der Lymphozyten erfolgte mittels Forward gegen Side Scatter Plot, gefolgt von Dubletten-Ausschluss im Forward Scatter Height gegen Forward Scatter Area. Die CD3 negative Population wurde zum Ausschluss von T-Zellen gegatet und CD193 positive Zellen stellten die basophilen Granulozyten dar. Doppelt positive Zellen für CD63 und CD203c dienten als Outcome-Parameter. Dargestellt sind hier eine Positiv- und eine Negativkontrolle sowie ein beispielhaftes CSU-Patient\*innen-Serum. Quelle: modifiziert nach Sauer et al., 2021 (33).

Aufgrund der großen Anzahl an Patient\*innen wollten wir einen BAT konzipieren, der einen schnellen Umsatz ermöglicht, dabei aber trotzdem ein aussagekräftiges Ergebnis liefert. Dazu wurde ein Protokoll des BAT des Allergie-Centrums-Charité zur speziellen Allergiediagnostik verwendet, das in ein kleines Format übertragen werden musste. Auf einer Mikrotiterplatte mit 96 Nöpfchen mit einem Füllvolumen von maximal 300 µl pro Nöpfchen war es so möglich, mit entsprechenden Positiv- und Negativ-Kontrollen und doppelter Testung pro Serum, bis zu 44 Seren zeitgleich zu vermessen. Da die basophilen Granulozyten von gesunden Spendern unterschiedlich auf mögliche Autoantikörper

im Serum der Patient\*innen reagieren, wurde im Vorfeld die Reaktion der Basophilen unterschiedlicher Vollblutspender\*innen verglichen, um einen geeigneten Spender zu identifizieren. Zur Ermittlung einer geeigneten Positivkontrolle wurden außerdem verschiedene kommerzielle Anti-IgEs getestet.

Als Grenzwert für einen positiven BAT definierten wir Werte von  $>7,77\%$  doppelt positiver (CD63 und CD203c) basophiler Granulozyten. Als Grenzwerte fungierte die 95. Perzentile der Werte von gesunden Kontrollseren ( $n=51$ ).

Die genauen Protokolle für den IgE-anti-TPO-ELISA und den BAT können dem Methodikteil der Publikation unter „*Assessment of Autoreactivity*“ entnommen werden (33).

## 2.5 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mithilfe der Softwares *SPSS* (IBM SPSS Version 27, New York, NY, USA) und *Excel* (Microsoft Excel Version 16.16.24, Redmond, WA, USA). Dabei wurden Mediane (Md), Mittelwerte, Standardabweichungen und der Interquartilabstand (IQR) berechnet. Auf Normalverteilung wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test getestet. Für den Vergleich stetiger, nicht-normalverteilter Variablen wurde der Mann-Whitney-U-Test beim Vergleich von zwei Gruppen und der Kruskal-Wallis-Test (einfache ANOVA) beim Vergleich von mehr als zwei Gruppen angewendet. Darauf folgende post hoc Paarvergleiche bestanden aus paarweisen Vergleichen mit dem z-Test und einer Bonferroni-Korrektur. Außerdem wurden Korrelationsanalysen für potentielle diagnostische Biomarker nach Spearman durchgeführt. Binäre Variablen wurden mithilfe des Chi-Quadrat-Tests nach Pearson verglichen. Als statistisch signifikant werteten wir Ergebnisse mit einem Signifikanzwert von  $p \leq 0,05$ . Die grafische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mithilfe von *GraphPad Prism* (GraphPad Software Version 9.1.0, San Diego, CA, USA) und *PowerPoint* (Microsoft PowerPoint Version 16.16.24, Redmond, WA, USA). Durchflusszytometrische Daten wurden mit dem Programm *FlowJo* (FlowJo™ Software, Version 10.5.3, Ashland, OR, USA) ausgewertet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Baseline-Charakteristika der Patient\*innen

Allgemeine Patient\*innencharakteristika können der Baseline-Tabelle (Table 1) der Originalpublikation entnommen werden (33), die hier in adaptierter Form aufgeführt ist (Tab. 2). Insgesamt hatten 37,0% (n=224) der eingeschlossenen Patient\*innen niedrige IgE-Spiegel und 50,0% (n=303) niedrige IgA-Spiegel. Die Prävalenz von niedrigen IgE-Spiegeln lag vor der Nachbestimmung fehlender Werte bei 28,3% (n=148 von 523) und 3,8% (n=20 von 523) der Patient\*innen hatten IgA-Spiegel unterhalb des Referenzwertes von *Labor Berlin* (35) von 0,7 g/l.

Insgesamt wurden mehr weibliche (n=461) als männliche (n=145) CSU-Patient\*innen eingeschlossen. Es fällt auf, dass die IgA- und IgE-Spiegel durchschnittlich bei Frauen signifikant niedriger waren als bei Männern (IgA: 1,76 g/l vs. 2,12 g/l;  $p < 0,001$ ; IgE: 60,90 kU/l vs. 118,00 kU/l;  $p < 0,001$ ). Dadurch war der Frauenanteil in der Gruppe  $IgA^{\downarrow} IgE^{\downarrow}$  signifikant höher als in der Gruppe  $IgA^{\rightarrow} IgE^{\rightarrow}$  ( $p < 0,001$ ). Im Median betrug das Alter der Patient\*innen 36 Jahre zum Zeitpunkt der Untersuchung. Patient\*innen der Gruppe  $IgA^{\downarrow} IgE^{\rightarrow}$  waren signifikant jünger als Patient\*innen aller anderen Gruppen, dies gilt sowohl für den Zeitpunkt der Diagnose ( $p = 0,002$ ;  $p = 0,006$ ;  $p = 0,009$ ) als auch für den Zeitpunkt der Untersuchung ( $p = 0,007$ ;  $p = 0,002$ ;  $p = 0,02$ ).

**Tabelle 2: Baseline-Charakteristika der Patient\*innen.**

	$IgA^{\downarrow} IgE^{\downarrow}$	$IgA^{\downarrow} IgE^{\rightarrow}$	$IgA^{\rightarrow} IgE^{\downarrow}$	$IgA^{\rightarrow} IgE^{\rightarrow}$	p-Wert
	n=149 (24,6%)	n=154 (25,4%)	n=75 (12,4%)	n=228 (37,6%)	
Frauenanteil, % (n)	86,6 (129)	78,6 (121)	73,3 (55)	68,4 (156)	<b>0,001</b>
Alter bei Untersuchung in Jahren, md (IQR)	45,00 (31,00-55,00)	37,50 (29,00-47,00)	44,00 (33,00-56,00)	44,00 (33,00-55,00)	<b>0,001</b>
Alter bei Diagnose in Jahren, md (IQR)	40,00 (26,00-49,60)	31,92 (23,00-42,00)	41,00 (27,25-50,00)	37,00 (26,42-50,00)	<b>0,001</b>

Krankheitsdauer in Jahren, md (IQR)	1,58 (1,00-5,00)	2,08 (1,00-7,00)	2,00 (1,00-6,00)	2,14 (1,00-8,00)	0,16
IgA in g/l, md (IQR)	1,27 (0,87-1,53)	1,42 (1,13-1,61)	2,37 (1,98-3,16)	2,47 (2,14-3,10)	<b>&lt;0,001</b>
IgE in kU/l, md (IQR)	14,60 (6,37-23,60)	122,50 (64,00-241,00)	17,20 (8,54-27,70)	160,00 (89,95-287,00)	<b>&lt;0,001</b>
IgG in g/l, md (IQR)	9,05 (7,81-10,80)	9,57 (8,51-10,52)	10,05 (8,83-11,74)	10,24 (8,77-12,07)	<b>&lt;0,001</b>
IgM in g/l, md (IQR)	1,05 (0,69-1,48)	0,99 (0,67-1,40)	0,98 (0,71-1,30)	0,97 (0,67-1,37)	0,33

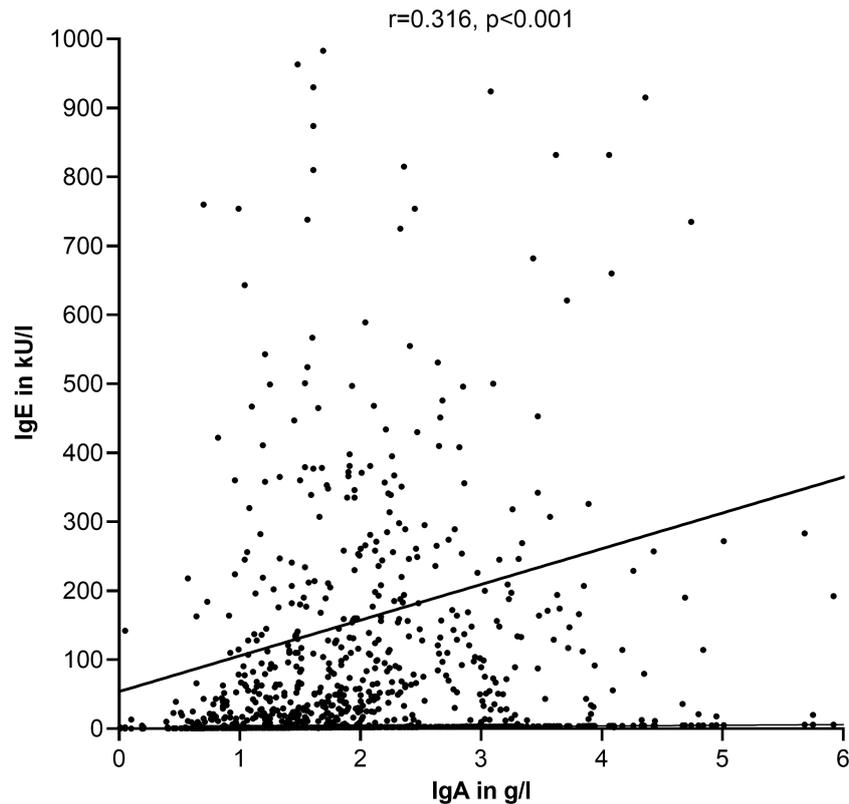
IgA, Immunglobulin A; IgE, Immunglobulin E; IgG, Immunglobulin G; IgM, Immunglobulin M; IQR, Interquartilabstand; md, Median.

Signifikanzen für Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests für kontinuierliche Variablen und des Chi-Quadrat-Tests nach Pearson für binäre Variablen berechnet. Statistisch signifikante Unterschiede sind fett gedruckt.

Quelle: modifiziert nach Sauer et al., 2021 (33).

### 3.2 Zusammenhang der Immunglobulin-Spiegel

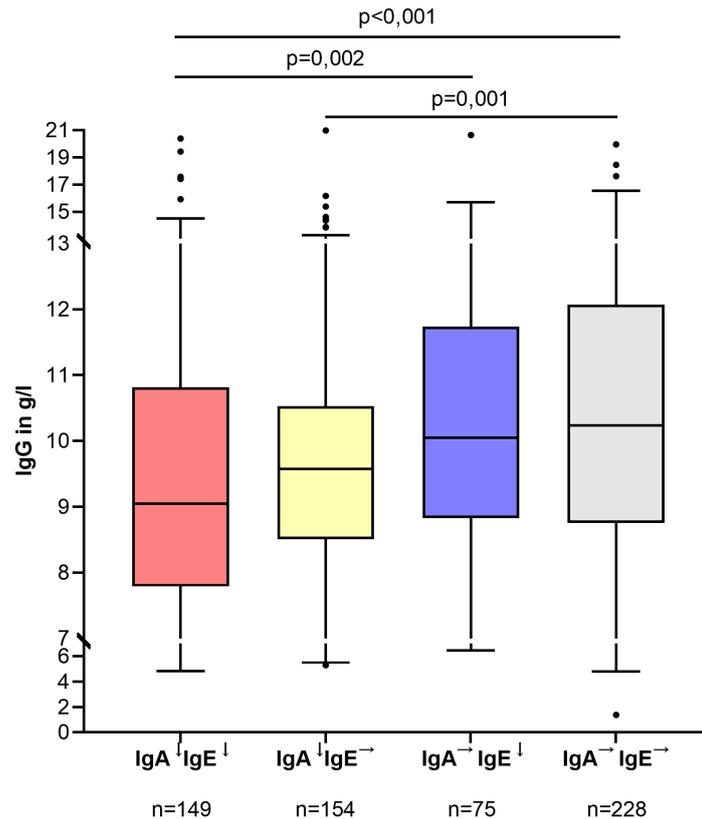
Die erste Erkenntnis unserer Analysen war, dass CSU-Patient\*innen mit niedrigen IgA-Spiegeln fast immer auch niedrige IgE-Spiegel haben. Von 303 Patient\*innen mit niedrigen IgA-Spiegeln hatten 66,5% auch niedrige IgE-Spiegel und die beiden Werte korrelierten signifikant ( $r=0,316$ ;  $p<0,001$ ) (**Abb. 5**, adaptiert aus *Figure 1A* der Originapublikation (33)). Betrachtet man die Patient\*innen mit IgA-Spiegel unterhalb des Referenzwertes von 0,7 g/l (35) sind es sogar 88,5%, die auch niedrige IgE-Spiegel hatten. In der *Figure 1B* der Originalpublikation (33) ist außerdem abgebildet, dass Patient\*innen mit niedrigen IgA-Spiegeln auch signifikant niedrigere IgE-Spiegel als Patient\*innen mit normalen oder erhöhten IgA-Spiegeln hatten (md=42,50 kU/l vs. md=111,00 kU/l;  $p<0,001$ ).



**Abbildung 5: IgA- und IgE-Spiegel bei Patient\*innen mit CSU korrelieren.** IgA-Werte  $>6$  g/l und IgE-Werte  $>1000$  kU/l werden in dieser Grafik nicht dargestellt. Der Spearman Rangkorrelationskoeffizient ( $r$ ) wurde ermittelt um Korrelationen zu detektieren. Quelle: modifiziert nach Sauer et al., 2021 (33).

Beim Vergleich zwischen den Gruppen konnte festgestellt werden, dass IgG-Spiegel auch mit niedrigen IgE- aber insbesondere mit niedrigen IgA-Spiegeln assoziiert sind, da die IgG-Spiegel bei Patient\*innen der Gruppe  $\text{IgA}^{\downarrow} \text{IgE}^{\downarrow}$  im Vergleich zu  $\text{IgA}^{\rightarrow} \text{IgE}^{\downarrow}$  ( $p=0,002$ ) und  $\text{IgA}^{\rightarrow} \text{IgE}^{\rightarrow}$  ( $p<0,001$ ) signifikant niedriger waren und auch zwischen  $\text{IgA}^{\downarrow} \text{IgE}^{\rightarrow}$  und  $\text{IgA}^{\rightarrow} \text{IgE}^{\rightarrow}$  ein signifikanter Unterschied bestand ( $p=0,001$ ). Dieser Sachverhalt ist bildlich in der *Figure 2A* der Originalpublikation (33) dargestellt, die hier abgebildet ist (**Abb. 6**). IgG-Spiegel korrelierten signifikant mit IgA- ( $r=0,280$ ;  $p<0,001$ ), IgE- ( $r=0,104$ ;  $p=0,01$ ) und IgM-Spiegeln ( $r=0,137$ ;  $p=0,001$ ). Die Korrelation zu IgA- und IgE-Spiegeln ist in der *Figure 2B* der Originalpublikation bildlich dargestellt (33).

Bezüglich der IgM-Spiegel konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden, aber sie waren besonders hoch bei Patient\*innen mit niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln ( $\text{IgA}^{\downarrow} \text{IgE}^{\downarrow}$ ) (**Tab. 2**) und eine schwache negative Korrelation zu IgA-Spiegeln konnte festgestellt werden ( $r=-0,090$ ;  $p=0,03$ ).



**Abbildung 6: IgG-Spiegel der Patient\*innen im Vergleich zwischen den Gruppen.** Die Boxen stellen die Mediane und Interquartilabstände dar, die Whisker geben den Bereich an. Signifikanzen für Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests berechnet. Quelle: aus Sauer et al., 2021 (33).

### 3.3 Krankheitsaktivität und begleitende Phänomene

Knapp die Hälfte (49,7%) der Patient\*innen mit niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln (IgA<sup>↓</sup> IgE<sup>↓</sup>) entwickelten rezidivierende Angioödem. Dies waren signifikant mehr Patient\*innen als in den Gruppen IgA<sup>↓</sup> IgE<sup>→</sup> ( $p=0,03$ ) und IgA<sup>→</sup> IgE<sup>→</sup> ( $p=0,04$ ) (**Tab. 3**).

Die Krankheitsaktivität, gemessen mittels UAS7, zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Es konnte jedoch eine schwache negative Korrelation zu IgA-Spiegeln gefunden werden ( $r=-0,095$ ;  $p=0,04$ ). Das subjektive Krankheitsleiden, gemessen am DLQI, unterschied sich zwischen den Gruppen signifikant. So gaben Patient\*innen der Gruppe IgA<sup>↓</sup> IgE<sup>→</sup> schlechtere Werte bezogen auf die Einschränkungen auf ihre Lebensqualität an als Patient\*innen der Gruppe IgA<sup>→</sup> IgE<sup>→</sup> ( $p=0,01$ ) (**Tab. 3**) und es konnte ebenfalls eine negative Korrelation mit IgA-Spiegeln gefunden werden ( $r=-0,173$ ;

p=0,005). Diese Korrelationswerte nahmen zu, wenn nur Patient\*innen mit gleichzeitigem Vorhandensein rezidivierender Angioödeme eingeschlossen wurden (UAS7: r=-0.242; p=0.001; DLQI: r=-0.291; p=0,003). Keine signifikanten Korrelationen konnten gefunden werden, wenn Patient\*innen mit Autoimmunphänomenen (n=248) ausgeschlossen wurden.

**Tabelle 3: Krankheitsaktivität und serologische Marker zwischen den Gruppen.**

	IgA <sup>↓</sup> IgE <sup>↓</sup>	IgA <sup>↓</sup> IgE <sup>→</sup>	IgA <sup>→</sup> IgE <sup>↓</sup>	IgA <sup>→</sup> IgE <sup>→</sup>	p-Wert
UAS7*, md (IQR)	19,00 (10,00-27,00)	18,00 (12,00-25,00)	17,00 (9,00-29,00)	16,00 (8,00-23,00)	0,14
DLQI**, md (IQR)	9,00 (4,00-13,00)	9,50 (6,00-15,00)	6,00 (3,00-12,50)	6,00 (3,00-11,00)	<b>0,01</b>
Rezidivierende An- gioödeme, % (n)	49,7 (73)	33,8 (50)	34,3 (24)	35,1 (74)	<b>0,01</b>
C-reaktives Protein in mg/l, md (IQR)	2,00 (1,00-5,40)	1,90 (0,70-6,45)	2,25 (0,90-5,25)	2,50 (1,00-5,60)	0,65
Leukozyten/nl, md (IQR)	6,16 (5,15-7,47)	6,61 (5,17-7,85)	5,59 (4,78-7,01)	6,31 (5,43-7,58)	0,12
Eosinophile Granu- lozyten/nl, md (IQR)	0,09 (0,06-0,17)	0,17 (0,09-0,29)	0,13 (0,08-0,19)	0,16 (0,10-0,24)	<b>&lt;0,001</b>
Basophile Granu- lozyten/nl, md (IQR)	0,01 (0,00-0,02)	0,02 (0,01-0,03)	0,02 (0,01-0,03)	0,02 (0,01-0,04)	<b>&lt;0,001</b>

DLQI, Dermatology Life Quality Index; IgA, Immunglobulin A; IgE, Immunglobulin E; IQR, Interquartilabstand; md, Median; UAS7, Urtikaria-Aktivitäts-Score.

Signifikanzen für Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests für kontinuierliche Variablen und des Chi-Quadrat-Tests nach Pearson für binäre Variablen berechnet. Statistisch signifikante Unterschiede sind fett gedruckt.

\* UAS7: minimaler Wert 0, maximaler Wert 42. \*\* DLQI: minimaler Wert 0, maximaler Wert 30.

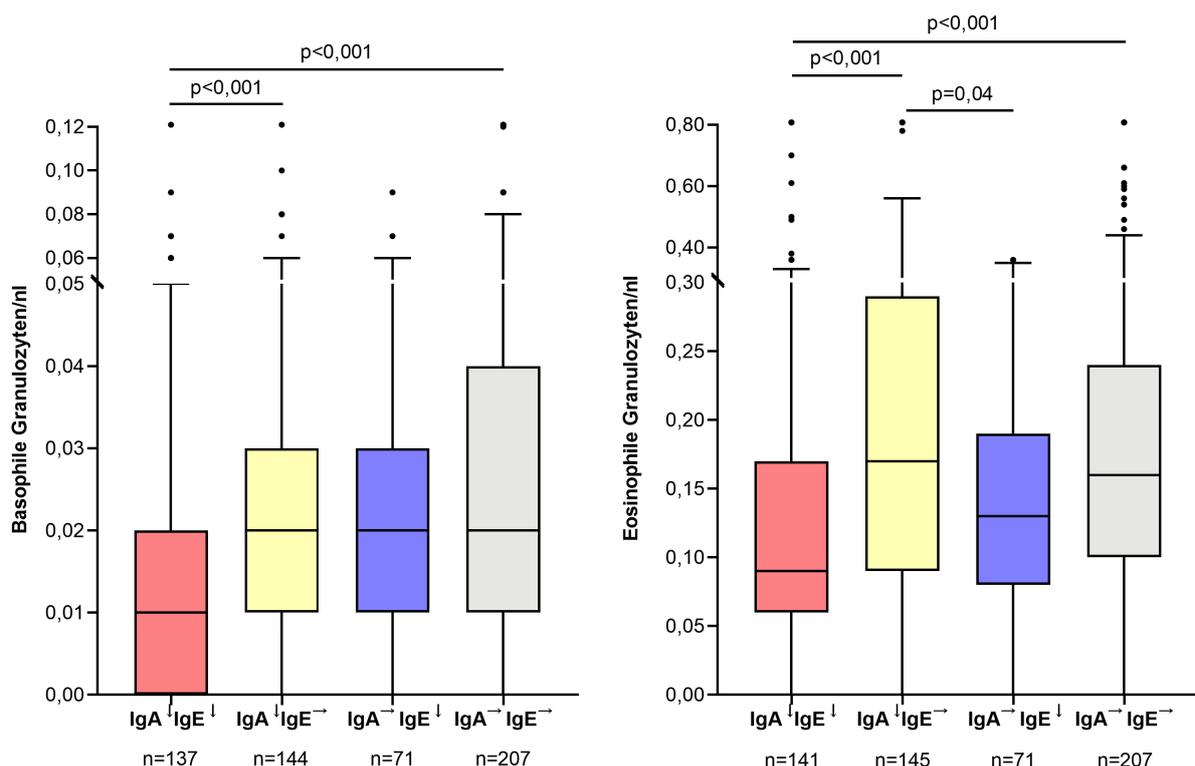
Quelle: modifiziert nach Sauer et al., 2021 (33).

### 3.4 Serologische Marker

Die Anzahl der basophilen Granulozyten war am niedrigsten bei Patient\*innen der Gruppe  $IgA^{\downarrow} IgE^{\downarrow}$  im Vergleich zu  $IgA^{\downarrow} IgE^{\rightarrow}$  ( $p < 0,001$ ) und  $IgA^{\rightarrow} IgE^{\rightarrow}$  ( $p < 0,001$ ) und korrelierte mit  $IgA$ - ( $r = 0,161$ ;  $p < 0,001$ ) und  $IgE$ -Spiegeln ( $r = 0,245$ ;  $p < 0,001$ ).

Die Anzahl an eosinophilen Granulozyten war bei Patient\*innen der Gruppe  $IgA^{\downarrow} IgE^{\downarrow}$  signifikant niedriger als in den Gruppen  $IgA^{\downarrow} IgE^{\rightarrow}$  ( $p < 0,001$ ) und  $IgA^{\rightarrow} IgE^{\rightarrow}$  ( $p < 0,001$ ) und bei  $IgA^{\rightarrow} IgE^{\downarrow}$  im Vergleich zu  $IgA^{\downarrow} IgE^{\rightarrow}$  ( $p = 0,04$ ). Eine positive Korrelation zu  $IgA$ - ( $r = 0,134$ ;  $p = 0,001$ ) und  $IgE$ -Spiegeln ( $r = 0,300$ ;  $p < 0,001$ ) konnte gefunden werden. Die Verteilung von eosinophilen und basophilen Granulozyten ist in der *Figure 3* der Originalpublikation dargestellt (33), die hier adaptiert abgebildet ist (**Abb. 7**).

Die gemessenen Entzündungsmarker C-reaktives Protein und Leukozytenzahl zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (**Tab. 3**).



**Abbildung 7: Anzahl an basophilen und eosinophilen Granulozyten im Blut der Patient\*innen im Vergleich zwischen den Gruppen.** Die Boxen stellen die Mediane und Interquartilabstände dar, die Whisker geben den Bereich an. Basophilenzahlen  $> 0,12/nl$  und Eosinophilenzahlen  $> 0,8/nl$  sind in dieser Grafik nicht dargestellt. Signifikanz für Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests berechnet. Quelle: modifiziert nach Sauer et al., 2021 (33).

### 3.5 Autoimmunphänomene

Vier von zehn CSU-Patient\*innen unserer Kohorte (41,8%; 248 von 594) zeigten Autoimmunphänomene, also hatten eine diagnostizierte Autoimmunerkrankungen und/oder erhöhte Autoantikörper. Die häufigsten Autoimmunerkrankungen, an denen die Patient\*innen litten waren die Hashimoto Thyreoiditis und der Morbus Basedow.

Insgesamt war das Auftreten von Autoimmunphänomenen am höchsten in den Gruppen mit niedrigen IgE-Spiegeln ( $IgA^{\downarrow} IgE^{\downarrow}$  und  $IgA^{\rightarrow} IgE^{\downarrow}$ ). Dieser Unterschied war jedoch nur signifikant zwischen  $IgA^{\downarrow} IgE^{\downarrow}$  und  $IgA^{\downarrow} IgE^{\rightarrow}$  ( $p=0,006$ ) und  $IgA^{\downarrow} IgE^{\downarrow}$  und  $IgA^{\rightarrow} IgE^{\rightarrow}$  ( $p<0.001$ ). Die *Figure 4* der Originalpublikation (33) zeigt diesen Sachverhalt bildlich. Die **Tabelle 4** zeigt die Ergebnisse zwischen den Gruppen aufgeschlüsselt nach klinisch gesicherter Autoimmunerkrankung, erhöhten Autoantikörpern und Schilddrüsenautoimmunerkrankungen.

**Tabelle 4: Autoimmunphänomene zwischen den Gruppen.**

	$IgA^{\downarrow} IgE^{\downarrow}$	$IgA^{\downarrow} IgE^{\rightarrow}$	$IgA^{\rightarrow} IgE^{\downarrow}$	$IgA^{\rightarrow} IgE^{\rightarrow}$	p-Wert
Klinisch gesicherte Autoimmunerkrankung, % (n)	23,5 (35)	14,3 (22)	14,7 (11)	11,0 (25)	<b>0,001</b>
Autoantikörper erhöht*, % (n)	37 (54)	28,4 (42)	34,7 (25)	24,7 (55)	0,06
Schilddrüsenautoimmunerkrankungen**, % (n)	16,4 (24)	7,4 (11)	8,1 (6)	7,0 (16)	<b>0,01</b>
<b>Gesamt, % (n)</b>	<b>55,1 (81)</b>	<b>36,0 (54)</b>	<b>50,0 (37)</b>	<b>34,1 (76)</b>	<b>&lt;0,001</b>

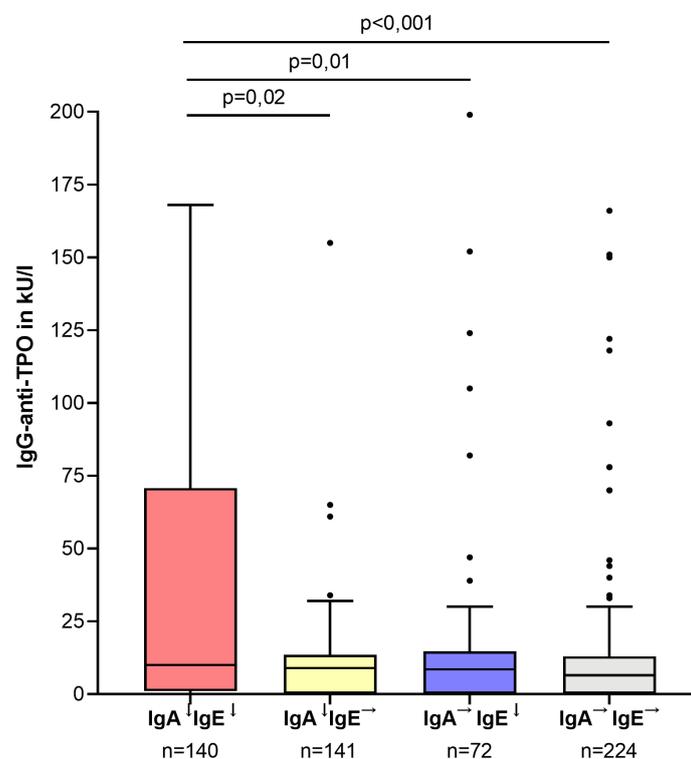
Die Farben beziehen sich auf die Werte in Prozent. Dabei wird der jeweilige maximale Wert in Grün, der minimale Wert in Rot und der Mittelwert in Gelb dargestellt. Signifikanzen für Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mithilfe des Chi-Quadrat-Tests nach Pearson berechnet. Statistisch signifikante Unterschiede sind fett gedruckt.

\* Gewertet wurden erhöhte Titer von ANA ( $\geq 1:160$ ), ANCA (cANCA  $\geq 10$  U/ml, pANCA  $\geq 5$  U/ml), Rheumafaktor IgM ( $\geq 20$  U/ml), zirkulierende Immunkomplexe ( $\geq 55$   $\mu$ g/ml).

\*\* Gewertet wurden erhöhte Titer der Schilddrüsenantikörper IgG-anti-TPO ( $\geq 35$  kU/l) und TRAK ( $\geq 2$  U/l), wenn bei Patient\*innen eine passende klinische Symptomatik vorlag.

Patient\*innen der Gruppe  $IgA^{\downarrow} IgE^{\downarrow}$  hatten im Vergleich zu  $IgA^{\rightarrow} IgE^{\rightarrow}$  signifikant öfter klinisch gesicherte Autoimmunerkrankungen ( $p=0,007$ ) und Schilddrüsenautoimmunerkrankungen ( $p=0,02$ ). Die genauen prozentualen Anteile zu den einzelnen Autoantikörpern können der *Table 2* der Originalpublikation entnommen werden (33).

Besonders das IgG-anti-TPO unterschied sich stark zwischen den Gruppen ( $p<0,001$ ). Es war mit 35,0% am häufigsten in der Gruppe  $IgA^{\downarrow} IgE^{\downarrow}$  erhöht im Vergleich zu 12,8% in der Gruppe  $IgA^{\downarrow} IgE^{\rightarrow}$  ( $p<0,001$ ), 16,7% bei  $IgA^{\rightarrow} IgE^{\downarrow}$  ( $p=0,03$ ) und 21,4% bei  $IgA^{\rightarrow} IgE^{\rightarrow}$  ( $p=0,03$ ). Die IgG-anti-TPO-Spiegel waren in dieser Gruppe auch signifikant höher als in allen anderen Gruppen, wie die **Abbildung 8** zeigt.



**Abbildung 8: IgG-anti-TPO-Spiegel der Patient\*innen im Vergleich zwischen den Gruppen.**

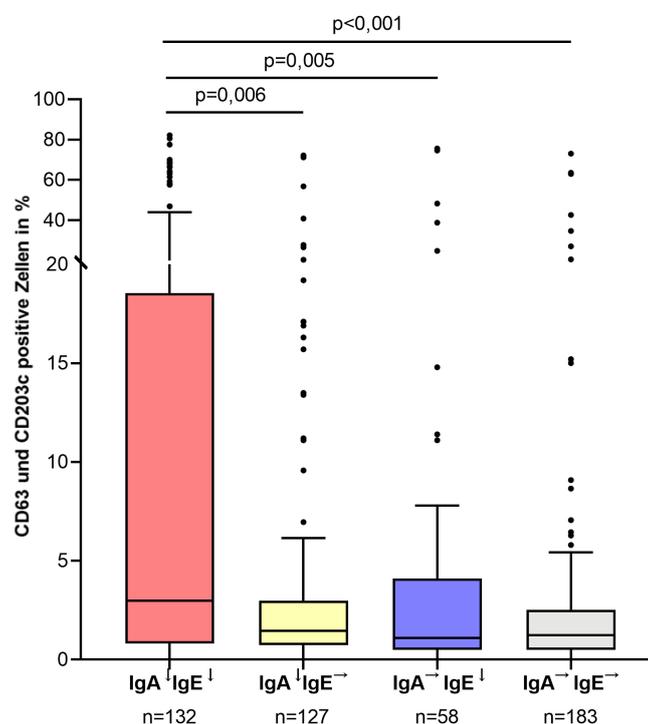
Die Boxen stellen die Mediane und Interquartilabstände dar, die Whisker geben den Bereich an. IgG-anti-TPO-Spiegel  $>200$  ng/ml sind in dieser Grafik nicht dargestellt. Signifikanzen für Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests berechnet. Quelle: eigene Darstellung.

Bei ausschließlicher Betrachtung der männlichen Patienten ( $n=145$ ), traten Autoimmunphänomene ebenfalls am häufigsten in den Gruppen  $IgA^{\downarrow} IgE^{\downarrow}$  (47,4%) und  $IgA^{\rightarrow} IgE^{\downarrow}$  (45,0%) auf, im Vergleich zu  $IgA^{\downarrow} IgE^{\rightarrow}$  (31,3%) und  $IgA^{\rightarrow} IgE^{\rightarrow}$  (27,1%). Der Unterschied war jedoch nicht statistisch signifikant.

### 3.6 Marker der Typ-IIb-Autoimmunität

Der BAT wurde als Marker für die Typ-IIb-Autoimmunität bei 500 Patient\*innen durchgeführt und war bei 16,6% positiv. Die **Tabelle 5** zeigt, wie viele Patient\*innen innerhalb der Gruppen einen positiven BAT im Vergleich zu anderen Markern von Typ-I- und -IIb-Autoimmunität hatten. Bei Patient\*innen mit  $\text{IgA}^{\downarrow} \text{IgE}^{\downarrow}$  waren es mit 32,6% signifikant mehr Patient\*innen mit einem positiven BAT als bei  $\text{IgA}^{\downarrow} \text{IgE}^{\rightarrow}$  (14,2%;  $p=0,003$ ) und  $\text{IgA}^{\rightarrow} \text{IgE}^{\rightarrow}$  (7,1%;  $p<0,001$ ).

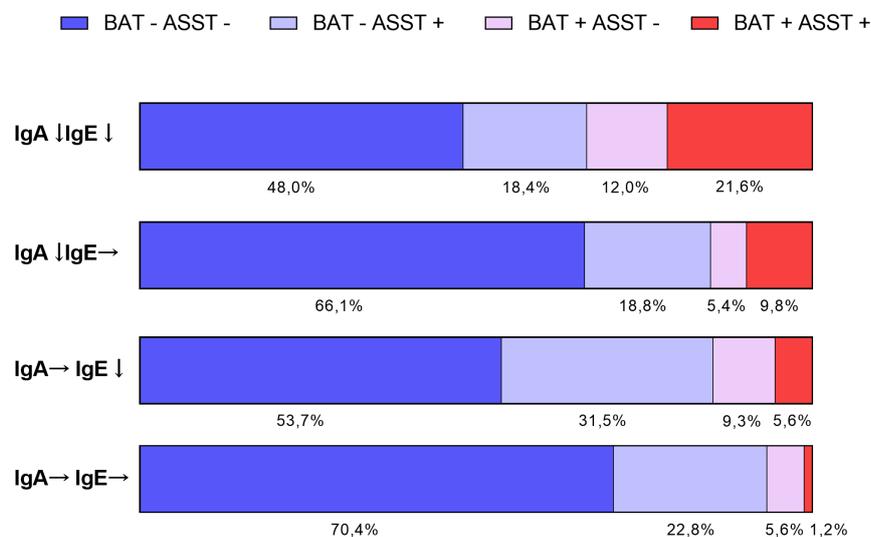
Die höchsten prozentualen Aktivierungsraten hatten im Median Patient\*innen mit niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln ( $\text{IgA}^{\downarrow} \text{IgE}^{\downarrow}$ ). Der Unterschied war signifikant im Vergleich zu allen anderen Gruppen (**Abb. 9**, adaptiert aus *Figure 5A* der Originalpublikation (33)). Bei ausschließlicher Betrachtung der Patient\*innen ohne Autoimmunphänomene ( $n=275$ ), waren die Aktivierungsraten immer noch signifikant innerhalb der Gruppe  $\text{IgA}^{\downarrow} \text{IgE}^{\downarrow}$  im Vergleich zu allen anderen Gruppen ( $p=0,04$ ;  $p<0,001$ ;  $p=0,009$ ). Beide Immunglobuline zeigten eine negative Korrelation mit den Prozentwerten der aktivierten Zellen (IgA:  $r=-0,208$ ;  $p<0,001$ ; IgE:  $r=-0,218$ ;  $p<0,001$ ) (siehe *Figure 5B* der Originalpublikation (33)).



**Abbildung 9: Anzahl an CD63 und CD203c positiven basophilen Granulozyten im BAT zwischen den Gruppen.** Die Boxen stellen die Mediane und Interquartilabstände dar, die Whisker geben den Bereich an. Signifikanzen für Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests berechnet. Quelle: modifiziert nach Sauer et al., 2021 (33).

Der ASST wurde bei 557 Patient\*innen durchgeführt und war insgesamt bei 30,2% positiv. Bei Patient\*innen mit niedrigen IgE-Spiegeln ( $\text{IgA}^{\downarrow} \text{IgE}^{\downarrow}$  und  $\text{IgA}^{\rightarrow} \text{IgE}^{\downarrow}$ ) war der ASST besonders häufig positiv (39,7% und 35,7% vs. 29,5% und 22,2%; **Tab. 5**). Der Unterschied war signifikant bei Patient\*innen der Gruppe  $\text{IgA}^{\downarrow} \text{IgE}^{\downarrow}$  im Vergleich zu Patient\*innen der Gruppe  $\text{IgA}^{\rightarrow} \text{IgE}^{\rightarrow}$  ( $p=0,003$ ).

Der ASST und der BAT zeigten bei 320 von 453 getesteten Patient\*innen übereinstimmende Ergebnisse (70,1%). Die **Abbildung 10** zeigt, wie sich die Ergebnisse von ASST und BAT zwischen den Gruppen unterschieden.



**Abbildung 10: Ergebnisse des BAT und ASST der Patient\*innen zwischen den Gruppen.**

Anteile der Patient\*innen in Prozent, die jeweils einen negativen Basophilen-Aktivierungs-Test (BAT) und einen negativen autologen Serumtest (ASST) (BAT- ASST-), einen negativen BAT und einen positiven ASST (BAT- ASST+), einen positiven BAT und einen negativen ASST (BAT+ ASST-) oder positive Ergebnisse in beiden Tests (BAT+ ASST+) aufwiesen. Quelle: eigene Darstellung.

### 3.7 Marker der Typ-I-Autoimmunität

Der IgE-anti-TPO-Spiegel als ein Marker für Typ-I-Autoimmunität bei der CSU wurde bei 399 Patient\*innen gemessen. Bei 30,1% ( $n=120$ ) der Patient\*innen wurden die IgE-anti-TPO-Spiegel als erhöht eingestuft. Die Verteilung zwischen den Gruppen kann der **Tabelle 5** entnommen werden. Dabei hatten Patient\*innen der Gruppe  $\text{IgA}^{\downarrow} \text{IgE}^{\downarrow}$  signifikant häufiger erhöhte IgE-anti-TPO-Spiegel als Patient\*innen der Gruppe  $\text{IgA}^{\rightarrow} \text{IgE}^{\rightarrow}$  ( $p=0,02$ ).

Patient\*innen mit erhöhten IgE-anti-TPO-Spiegeln hatten außerdem signifikant niedrigere IgA- (md=1,72 g/l vs. 1,85 g/l; p=0,007) und IgE-Spiegel (md=39,25 kU/l vs. 75,40 kU/l; p=0,001). Dies ist in der *Figure 6* der Originalpublikation bildlich dargestellt (33), die hier nicht abgebildet ist.

Beim Vergleich zwischen Typ-I- und Typ-IIb-Autoimmunität fiel auf, dass von 398 Patient\*innen bei denen IgE-anti-TPO-Spiegel bestimmt und der BAT durchgeführt wurde, nur 8,3% (n=33) sowohl erhöhte IgE-anti-TPO-Spiegel als auch positive Ergebnisse im BAT aufwiesen.

Von den Patient\*innen mit erhöhten Schilddrüsenantikörpern in der Routinediagnostik (IgG-anti-TPO oder TRAK) hatten fast die Hälfte auch erhöhte IgE-anti-TPO-Spiegel (n=52, 48,6%).

**Tabelle 5: Auftreten von Typ-I- und Typ-IIb-Autoimmunität zwischen den Gruppen.**

		IgA <sup>↓</sup> IgE <sup>↓</sup>	IgA <sup>↓</sup> IgE <sup>→</sup>	IgA <sup>→</sup> IgE <sup>↓</sup>	IgA <sup>→</sup> IgE <sup>→</sup>	p-Wert
<b>Typ-I-Autoimmunität</b>	IgE-anti-TPO erhöht, % (n)	38,5 (42)	30,3 (30)	35,3 (18)	21,4 (30)	<b>0,03</b>
<b>Typ-IIb-Autoimmunität</b>	Positiver BAT, % (n)	32,6 (43)	14,2 (18)	15,5 (9)	7,1 (13)	<b>&lt;0,001</b>
	Positiver ASST, % (n)	39,7 (56)	29,5 (41)	35,7 (25)	22,2 (46)	<b>0,004</b>

ASST, Autologer Serumtest; BAT, Basophilen-Aktivierungs-Test; IgA, Immunglobulin A; IgE, Immunglobulin E; TPO, Thyreoperoxidase.

Die Farben beziehen sich auf die Werte in Prozent. Dabei wird der jeweilige maximale Wert in Grün, der minimale Wert in Rot und der Mittelwert in Gelb dargestellt. Signifikanzen für Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mithilfe des Chi-Quadrat-Tests nach Pearson berechnet. Statistisch signifikante Unterschiede sind fett gedruckt.

Quelle: eigene Darstellung.

## 4. Diskussion

### 4.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse

Zusammenfassend konnten wir feststellen, dass Patient\*innen mit niedrigen IgA- und niedrigen IgE-Spiegeln einen individuellen Krankheitstyp innerhalb der CSU-Patient\*innen darstellen. Reduzierte IgA- und IgE-Spiegel bei CSU sind häufig, treten oft gemeinsam auf und sind insbesondere mit Typ-IIb-Autoimmunität assoziiert. Außerdem zeigten Patient\*innen mit niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln häufiger Autoimmunerkrankungen, rezidivierende Angioödeme und niedrigere Eosinophil- und Basophilzahlen.

### 4.2 Interpretation der Ergebnisse und Vergleich mit anderen Studien

Unsere Ergebnisse unterstützen vorangehende Ergebnisse, dass IgA- und IgE-Spiegel bei Frauen niedriger sind als bei Männern (29, 30). Auch die Ergebnisse zur Altersverteilung zwischen den Gruppen decken sich mit früheren Studien. Da IgA-Spiegel mit dem Alter eher zu- (29) und IgE-Spiegel eher abnehmen (31), ist es nachvollziehbar, dass die jüngeren Patient\*innen eher niedrige IgA- und höhere IgE-Spiegel hatten und deswegen bei uns insbesondere in der Gruppe  $IgA^{\downarrow} IgE^{\rightarrow}$  vertreten waren.

In unserer Studie hatten mehr als die Hälfte der Patient\*innen mit niedrigen IgE-Spiegeln auch niedrige IgA-Spiegel. Diese Korrelation zwischen IgA- und IgE-Spiegeln passt zu Beobachtungen bei Patient\*innen mit variablem Immundefektsyndrom (32). Außerdem konnten wir zeigen, dass bei Patient\*innen mit niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln auch niedrigere IgG-Spiegel und höhere IgM-Spiegel im Vergleich zu den anderen Gruppen vorlagen. Wie es zu dieser Immunglobulin-Konstellation kommt, ist noch unklar. Denkbar wäre, dass bei Patient\*innen der Gruppe  $IgA^{\downarrow} IgE^{\downarrow}$  der Immunglobulin-Klassenwechsel beeinträchtigt ist, sodass IgM nicht mehr ausreichend in IgG, IgA bzw. IgE umgewandelt werden kann. Solch ein Defekt könnte beispielsweise durch einen B-Zell-Defekt bedingt sein. Weitere Untersuchungen hierzu sind jedoch notwendig. Bei Patient\*innen mit SIgAD konnte außerdem festgestellt werden, dass die IgM-Spiegel oft kompensatorisch erhöht waren, um die geschwächte immunologische Abwehr zu verstärken und so gegen

schwerwiegende Infektionen zu schützen (37). Solch ein Mechanismus ist, in abgeschwächter Form, auch in unserem Patient\*innenkollektiv denkbar.

Zur Bestimmung der Typ-IIb-Autoimmunität analysierten wir die Ergebnisse des ASST und des BAT. Insgesamt konnten wir hierbei unsere Hypothese bestätigen. Sowohl im ASST, als auch im BAT zeigte sich, dass Patient\*innen mit niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln häufiger positive Ergebnisse in den beiden Tests haben und bezüglich des BAT konnten auch signifikant höhere Aktivierungsraten in dieser Gruppe festgestellt werden. Allerdings zeigten die beiden Tests nicht immer die gleichen Ergebnisse, wie aus der **Abbildung 8** hervorgeht. Der ASST war insgesamt deutlich häufiger positiv als der BAT (30,2% vs. 16,6%) und zusätzlich zu Patient\*innen der Gruppe  $\text{IgA}^\downarrow \text{IgE}^\downarrow$  auch bei Patient\*innen der Gruppe  $\text{IgA}^\rightarrow \text{IgE}^\downarrow$  häufiger positiv als in den anderen Gruppen. Es scheint deswegen so, als würde der ASST stärker vom IgE-Spiegel beeinflusst, während der BAT eher bei Patient\*innen mit kombiniert niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln positiv war. Unsere Ergebnisse legen somit nahe, dass der BAT spezifischer bei der Diagnostik der Typ-IIb-Autoimmunität ist, als der ASST, da andere Charakteristika Typ-IIb-autoimmuner CSU in dieser Patient\*innengruppe auch vermehrt gefunden werden konnten, wie im Folgenden nochmals erläutert wird. Die PURIST Studie hat die bei uns gefundene Differenz in den Ergebnissen der beiden Tests ebenfalls festgestellt und unterstützt den Standpunkt, dass Basophilen-Reaktivitäts-Testungen, wie der BAT und der Basophilen-Histamin-Release Assay die beste Annäherung zur Bestimmung der Typ-IIb-Autoimmunität darstellen (12). Aus Übersichtlichkeitsgründen entschieden wir uns deswegen dafür, uns in der Publikation ausschließlich auf die Ergebnisse des BAT zu konzentrieren. Die Unterscheidung der verschiedenen Methoden, um Typ-IIb-autoimmune CSU zu diagnostizieren, ist Gegenstand aktueller Forschungen und stand in dieser Arbeit nicht primär im Vordergrund.

Weiterhin konnten wir feststellen, dass Patient\*innen mit niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln häufiger rezidivierende Angioödeme entwickeln als Patient\*innen mit normalen oder erhöhten IgA- und IgE-Spiegeln. Dies unterstreicht unsere Hypothese, dass bei Patient\*innen mit niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln häufiger eine Typ-IIb-Autoimmunität zugrunde liegt, die mit der Ausbildung von Angioödemem assoziiert wurde (13).

Wir stellten in dieser Arbeit auch fest, dass die Lebensqualität, gemessen am DLQI, bei CSU-Patient\*innen mit niedrigen IgA-Spiegeln am stärksten beeinträchtigt ist. Die Krankheitsaktivität, anhand des UAS7, unterschied sich überraschenderweise nicht signifikant zwischen den Gruppen, zeigte jedoch ebenfalls eine schwache negative Korrelation mit dem IgA-Spiegel. Die unterschiedliche Auswirkung der Krankheit auf die Lebensqualität der Patient\*innen scheint somit nicht ausschließlich durch die Krankheitsaktivität bedingt zu sein. Wir vermuten, dass die Einschränkung der Lebensqualität auch durch höhere Raten von Begleitphänomenen wie rezidivierenden Angioödemem bei Patient\*innen mit niedrigen IgA-Spiegeln bedingt ist. Die Korrelationswerte zwischen IgA-Spiegeln und DLQI bzw. UAS7 nahmen stark zu, sobald nur Patient\*innen mit vorliegendem Angioödem eingeschlossen wurden, was für diese Vermutung spricht.

IgE-Spiegel zeigten im Gegensatz zu den IgA-Spiegeln keinen Einfluss auf die Krankheitsaktivität oder die Lebensqualität der Patient\*innen. Das Ergebnis früherer Studien, dass hohe IgE-Spiegel bei CSU-Patient\*innen mit einer erhöhten Krankheitsaktivität zusammenhängen (38), konnten wir somit nicht bestätigen. Allerdings analysierten wir in unserer Arbeit erhöhte IgE-Werte nicht gesondert.

In unserer Studie konnten wir außerdem feststellen, dass IgA- und IgE-Spiegel eine Auswirkung auf die Anzahl an eosinophilen und basophilen Granulozyten haben. Während scheinbar die Eosinophilenzahl besonders durch niedrige IgE-Spiegel beeinflusst werden (signifikant niedriger in den Gruppen  $\text{IgA}^\downarrow \text{IgE}^\downarrow$  und  $\text{IgA}^\rightarrow \text{IgE}^\downarrow$ ), scheint bei den basophilen Granulozyten die Kombination aus niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln ( $\text{IgA}^\downarrow \text{IgE}^\downarrow$ ) von Relevanz zu sein. Frühere Studien fanden heraus, dass niedrige Basophilen- und Eosinophilenzahlen mit Typ-IIb-Autoimmunität zusammenhängen (14, 17). Dies unterstützt unsere Hypothese, dass niedrige IgA- und IgE-Spiegel ebenfalls mit Typ-IIb-Autoimmunität assoziiert sind.

Insgesamt zeigte ein großer Anteil der CSU-Patient\*innen Autoimmunphänomene, vor allem Patient\*innen der Gruppen  $\text{IgA}^\downarrow \text{IgE}^\downarrow$  (55,1%) und  $\text{IgA}^\rightarrow \text{IgE}^\downarrow$  (50,0%). Bei der Differenzierung der verschiedenen Klassen analysierter Autoimmunphänomene fällt jedoch auf, dass es Unterschiede zwischen ihnen gibt. Bereits diagnostizierte Autoimmunerkrankungen aus der Krankenakte der Patient\*innen und Schilddrüsenautoimmunerkrankungen waren besonders mit der Kombination aus erniedrigten IgA- und IgE-Spiegeln assoziiert

(IgA<sup>↓</sup> IgE<sup>↓</sup>). Die anderen Autoantikörper (ANA, ANCA, Rheumafaktor IgM oder zirkulierende Immunkomplexe) waren vor allem mit erniedrigten IgE-Spiegeln assoziiert und deswegen besonders erhöht bei Patient\*innen der Gruppen IgA<sup>↓</sup> IgE<sup>↓</sup> und IgA<sup>→</sup> IgE<sup>↓</sup>. Insbesondere der Schilddrüsenantikörper IgG-anti-TPO unterschied sich zwischen den Gruppen stark. Kolkhir et al. hatten vorgeschlagen, die Kombination aus niedrigen IgE-Spiegeln und hohen IgG-anti-TPO-Spiegeln als diagnostische Annäherung an die Typ-IIb-Autoimmunität zu verwenden (18). Unsere Ergebnisse legen nahe, dass die Kombination aus niedrigen IgA- und niedrigen IgE-Spiegeln noch spezifischer sein könnte als niedrige IgE-Spiegel alleine, da Patient\*innen, die nur niedrige IgE-Spiegel hatten (IgA<sup>→</sup> IgE<sup>↓</sup>), signifikant niedrigere IgG-anti-TPO-Spiegel aufwiesen, als Patient\*innen mit niedrigen IgA- und niedrigen IgE-Spiegeln (IgA<sup>↓</sup> IgE<sup>↓</sup>).

Für die Diagnose der Typ-I-Autoimmunität bestimmten wir IgE-anti-TPO-Spiegel. Erhöhte IgE-anti-TPO-Spiegel konnten wir dabei insbesondere in der Gruppe IgA<sup>↓</sup> IgE<sup>↓</sup> feststellen. Eine aktuelle Studie von Zhang et al. konnte den von uns gefundenen Zusammenhang zwischen niedrigen IgE-Spiegeln und höheren IgE-anti-TPO-Spiegeln bestätigen (39). Unsere Ergebnisse legen nahe, dass niedrige IgE-Spiegel sowohl mit Typ-I- als auch mit Typ-IIb-Autoimmunität einhergehen können. Möglicherweise gibt es innerhalb der CSU-Patient\*innen mit niedrigen IgE-Spiegeln noch Subpopulationen, bei denen entweder eine Typ-I- oder Typ-IIb-Autoimmunität zugrunde liegt. Schließlich gab es von 398 nur 33 Patient\*innen, die Anzeichen für beide Formen der Autoimmunität, im Sinne eines positiven BAT und erhöhter IgE-anti-TPO-Spiegel aufwiesen.

### 4.3 Stärken und Limitationen

Diese Arbeit untersucht zum ersten Mal den Zusammenhang zwischen niedrigen IgA-Spiegeln und der CSU an einer großen Patient\*innenkohorte. Bezüglich der Rolle niedriger IgE-Spiegel in der Pathogenese der CSU gibt es zwar schon einige Arbeiten, trotzdem hat diese Arbeit auch auf diesem Gebiet neue Erkenntnisse erbracht.

Insbesondere die Menge an verschiedenen Parametern, die bestimmt und analysiert wurden, stellt eine Stärke dieser Arbeit dar. Vor allem in Bezug auf die genaue Charakterisierung der Typ-IIb-Autoimmunität liefert unsere Arbeit viele Ergebnisse. So wurden nicht nur der ASST und der BAT als Marker der Typ-IIb-Autoimmunität durchgeführt, sondern

auch weitere Marker bestimmt, die mit der Typ-IIb-Autoimmunität in Verbindung stehen, wie das Auftreten rezidivierender Angioödeme, Basopenie, Eosinopenie und hohe IgG-anti-TPO-Spiegel. Dabei handelt es sich insbesondere bei Basophilen- und Eosinophilenzahlen um Marker, die einfach in der Routinediagnostik der CSU einsetzbar sind und so frühzeitig Hinweise auf das Vorliegen einer Typ-IIb-Autoimmunität geben können.

Eine Limitation dieser Arbeit war die Einteilung in die vier Gruppen. Diese erfolgte anhand verschiedener Grenzwerte für IgA- und IgE-Spiegel. Während wir für das IgE einen Wert festlegten, der bereits in anderen Studien verwendet wurde (12, 34), entschieden wir uns dazu, für das IgA den Median als Grenzwert zu verwenden (<1,84 g/l). Von Vorteil waren dabei die gleichmäßigen Gruppengrößen, jedoch stellt dieser künstlich gesetzte Grenzwert gegebenenfalls auch eine Verzerrung der Ergebnisse dar. Allerdings konnten wir so auch zeigen, dass nicht nur die sehr niedrigen IgA-Spiegel bei Patient\*innen mit CSU von Relevanz sind, die beispielsweise schon Frossi et al. untersuchten (28), sondern auch IgA-Spiegel im unteren Teil des Referenzbereiches.

Die Gruppen sind außerdem bezüglich Frauenanteil und Alter der Patient\*innen ungleich. Dabei kann diskutiert werden, ob das Geschlecht die Ergebnisse verzerrt. Es ist schließlich bekannt, dass Frauen beispielsweise häufiger an Autoimmunerkrankungen leiden. Wir konnten jedoch feststellen, dass es auch bei ausschließlicher Betrachtung der männlichen Patienten einen Zusammenhang zwischen niedrigen IgE-Spiegeln und Autoimmunerkrankungen zu geben scheint.

Eine weitere Limitation ist die Charakterisierung der Typ-I-Autoimmunität. In unserer Studie erfolgte dies nur anhand des IgE-anti-TPO-Spiegels und es wurden keine weiteren spezifischen IgE-Autoantikörper untersucht. Weitergehende Studien sollten das Vorliegen verschiedener IgE-Autoantikörpern untersuchen, um zwischen den Autoimmunitätstypen bei CSU besser unterscheiden zu können.

#### **4.4 Klinische Anwendung**

Die Diagnosestellung der Typ-IIb-autoimmunen CSU stellt weiterhin eine Herausforderung dar. Unsere Ergebnisse legen nahe, dass die Kombination aus niedrigen IgA- und niedrigen IgE-Spiegeln bei der Diagnosestellung der Typ-IIb-autoimmunen CSU genauer

ist als die Betrachtung der IgE-Spiegel alleine. Wir schlagen deswegen vor, die Bestimmung von IgA- und IgE-Spiegeln im Serum von CSU-Patient\*innen in die Routinediagnostik zu implementieren, da sie für die Diagnostik und Therapie der CSU-Patient\*innen von Vorteil sein kann, wie im Folgenden erläutert wird.

Die Bestimmung von IgA- und IgE-Spiegel ist kostengünstig, einfach durchzuführen und hilft, die genaue Ursache der CSU besser zu charakterisieren (z.B. Charakterisierung als Typ-IIb-Autoimmunität). Eine genaue Diagnose kann für Patient\*innen und Untersucher von Relevanz sein. Oft hilft es Patient\*innen, die konkrete Ursache für ihre Beschwerden zu kennen. Auch bezüglich begleitender Phänomene kann man die Patient\*innen so besser aufklären. Sollten niedrige IgA- und niedrige IgE-Spiegel festgestellt werden, ist das Risiko für die Patient\*innen beispielsweise erhöht, gleichzeitig von rezidivierenden Angioödemem und Autoimmunerkrankungen betroffen zu sein. Durch adäquate Schulung der Patient\*innen könnte so eine entsprechende Symptomatik frühzeitig erkannt und abklärt werden.

Auch bezüglich der Therapie kann die genauere Charakterisierung der Patient\*innen von Vorteil sein. Es konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass manche CSU-Patient\*innen von Anti-Interleukin-5-gerichteten Therapien mit Mepolizumab (40) oder Reslizumab (41) profitieren können. Da diese Medikamente ihre Wirkung über die Rekrutierung und Aktivierung eosinophiler Granulozyten entfalten, könnten die Eosinophilenzahlen und möglicherweise die Unterscheidung in Typ-I- und Typ-IIb-Autoimmunität für die Medikamentenwirkung ausschlaggebend sein. Den IgE-Spiegel von CSU-Patient\*innen zu kennen, ist auch relevant für die Entscheidung zur Therapie mit dem Anti-IgE-Antikörper Omalizumab, da gezeigt werden konnte, dass dieser bei Patient\*innen mit niedrigen IgE-Spiegeln oft nicht gut wirkt (21). Ob die IgA-Spiegel ebenfalls einen Einfluss auf die Wirkung von Omalizumab haben, sollte Ziel weitergehender Forschungen sein. Sollte bei den Patient\*innen ein überaktives Immunsystem, wie bei Autoimmunerkrankungen der Fall, für die Symptomatik verantwortlich sein, könnte es außerdem von Vorteil sein, Immunsuppressiva in die Standardtherapie mitaufzunehmen.

#### **4.5 Weiterführende wissenschaftliche Fragestellungen**

Es bleibt zu klären, welche Rolle in der Pathogenese der CSU niedrige IgA- und IgE-Spiegel konkret spielen. So ist noch unklar, ob bei Patient\*innen mit niedrigen IgA- und

IgE-Spiegeln die erniedrigten Immunglobulin-Spiegel ursächlich für die Entwicklung der CSU sind oder durch die Erkrankung selbst verursacht werden.

Die Verbindung zwischen niedrigen IgA-Spiegeln und autoimmunen Mechanismen bei der CSU konnte in unserer Studie zum ersten Mal an einer so großen Kohorte gezeigt werden. Es ist jedoch nicht geklärt, warum niedrige IgA-Spiegel zu der gezeigten Disposition führen. Dazu haben wir in dem Abschnitt „*Discussion*“ der Originalpublikation einige Theorien aufgestellt, die im Folgenden nochmals kurz zusammengefasst werden (33).

Es ist bekannt, dass durch die verminderte Schleimhautabwehr bei Patient\*innen mit sehr niedrigen IgA-Spiegeln Antigene aus der Umgebung leichter in die Zirkulation gelangen und über Auseinandersetzung mit dem körpereigenen Immunsystem zur Entwicklung autoreaktiver Antikörper führen (26). Dies könnte zur Reifung von Autoantikörpern führen, die gegen IgE gerichtet sind und so verringerte Serum-IgE-Spiegel bedingen. Denkbar wäre andersherum auch, dass IgG- oder IgE-anti-IgA-Antikörper zu niedrigen IgA-Spiegeln führen (42).

Außerdem wäre es interessant, bei unseren Patient\*innen IgA-Antikörper gegen den IgE-Rezeptor  $Fc\epsilon$ -Rezeptor I zu bestimmen. Kürzlich wurden neben IgG-Antikörpern gegen den Rezeptor auch IgM- und IgA-Antikörper gefunden, die für die Typ-IIb-Autoimmunität bei CSU charakteristisch sind (43). Obwohl bisher nur IgM-Antikörper mit Typ-IIb-Autoimmunität in Verbindung gebracht werden konnten, wäre es aufgrund unserer Ergebnisse im Hinblick auf niedrige IgA-Spiegel bei Patient\*innen mit CSU interessant, diese IgA-Antikörper näher zu erforschen.

Eine mögliche Hypothese zur funktionellen Rolle von niedrigen IgA-Spiegeln in der Pathogenese der CSU könnte die Signalübertragung durch  $Fc\alpha$  Rezeptor-I sein. So konnte in einem IgE-vermittelten Asthmodell bei Mäusen gezeigt werden, dass die Stimulation von  $Fc\alpha$ -Rezeptor I mit Serum-IgA die  $Fc\epsilon$ -Rezeptor I-induzierte Degranulation von Mastzellen durch IgE über ihre jeweiligen Rezeptoren hemmt. Grund dafür ist ein Antagonismus zwischen IgA und IgE, der gefunden wurde (44). Beim Menschen wird der  $Fc\alpha$ -Rezeptor I jedoch nur auf Immunzellen wie Eosinophilen, Neutrophilen und Monozyten und nicht auf Mastzellen exprimiert. Da Serum-IgA beim Menschen die Aktivierung und Degranulation von Immunzellen über den  $Fc\alpha$  Rezeptor-I jedoch negativ regulieren soll (45), könnte man vermuten, dass ein niedrigerer IgA-Spiegel bei CSU-Patient\*innen zu einer erhöhten Aktivierung von Eosinophilen, Neutrophilen und Monozyten führt, was zu Entzündungen und Autoimmunität führen könnte.

## 5. Schlussfolgerungen

Insgesamt konnten wir in dieser Arbeit unsere Hypothese bestätigen, dass sowohl niedrige IgE-Spiegel, als auch niedrige IgA-Spiegel mit der Typ-IIb-autoimmunen CSU assoziiert sind. Reduzierte IgA- und IgE-Spiegel bei CSU sind häufig und gehen mit Autoimmunität einher. Insbesondere die Kombination von niedrigen IgA- und IgE-Spiegeln ist in der Diagnostik von CSU-Patient\*innen von Bedeutung, da sie mit höheren Raten von Typ-IIb-Autoimmunität, mehr Angioödemem und niedrigerer Anzahl basophiler Granulozyten assoziiert ist. Niedrige IgE-Spiegel konnten wir insbesondere mit niedrigen Eosinophilenzahlen, höheren IgE-anti-TPO-Werten und Autoimmunphänomenen in Verbindung bringen, während niedrige IgA-Spiegel mit niedrigeren IgG-Spiegeln und verminderter Lebensqualität verbunden sind.

Die Pathomechanismen, die der Abnahme der Immunglobuline und deren Interaktion bei der CSU (z.B. eine mögliche Beeinträchtigung des Immunglobulin-Klassenwechsels) zugrunde liegen, sind noch nicht gut verstanden und es sind weitere Arbeiten zur Rolle der beiden Immunglobuline als diagnostische Biomarker vonnöten.

Die Bestimmung der IgA- und IgE-Spiegel im Serum von CSU-Patient\*innen ist kostengünstig und einfach durchzuführen. Sie kann bei der Diagnose von Untergruppen der CSU, insbesondere der Typ-IIb-Autoimmunität, nützlich sein und helfen, für jede Patientin und jeden Patienten eine geeignete und optimale Therapie zu identifizieren, wie Anti-IgE- und Anti-Interleukin-5-gerichtete Therapien oder Immunsuppressiva, wenn die Erstlinientherapie der CSU versagt.

## Literaturverzeichnis

1. Fricke J, Ávila G, Keller T, Weller K, Lau S, Maurer M, Zuberbier T, Keil T. Prevalence of chronic urticaria in children and adults across the globe: Systematic review with meta-analysis. *Allergy*. 2020;75(2):423-32.
2. Zuberbier T, Abdul Latiff AH, Abuzakouk M, Aquilina S, Asero R, Baker D, Ballmer-Weber B, Bangert C, Ben-Shoshan M, Bernstein JA, Bindeslev-Jensen C, Brockow K, Brzoza Z, Chong Neto HJ, Church MK, Criado PR, Danilycheva IV, Dressler C, Ensina LF, Fonacier L, Gaskins M, Gáspár K, Gelincik A, Giménez-Arnau A, Godse K, Gonçalo M, Grattan C, Grosber M, Hamelmann E, Hébert J, Hide M, Kaplan A, Kapp A, Kessel A, Kocatürk E, Kulthanan K, Larenas-Linnemann D, Lauerma A, Leslie TA, Magerl M, Makris M, Meshkova RY, Metz M, Micallef D, Mortz CG, Nast A, Oude-Elberink H, Pawankar R, Pigatto PD, Ratti Sisa H, Rojo Gutiérrez MI, Saini SS, Schmid-Grendelmeier P, Sekerel BE, Siebenhaar F, Siiskonen H, Soria A, Staubach-Renz P, Stingeni L, Sussman G, Szegedi A, Thomsen SF, Vadasz Z, Vestergaard C, Wedi B, Zhao Z, Maurer M. The international EAACI/GA<sup>2</sup>LEN/EuroGuiDerm/APAAACI guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria. *Allergy*. 2021.
3. Maurer M, Weller K, Bindeslev-Jensen C, Giménez-Arnau A, Bousquet PJ, Bousquet J, Canonica GW, Church MK, Godse KV, Grattan CE, Greaves MW, Hide M, Kalogeromitros D, Kaplan AP, Saini SS, Zhu XJ, Zuberbier T. Unmet clinical needs in chronic spontaneous urticaria. A GA<sup>2</sup>LEN task force report. *Allergy*. 2011;66(3):317-30.
4. Church MK, Kolkhir P, Metz M, Maurer M. The role and relevance of mast cells in urticaria. *Immunol Rev*. 2018;282(1):232-47.
5. Kolkhir P, Church MK, Weller K, Metz M, Schmetzer O, Maurer M. Autoimmune chronic spontaneous urticaria: What we know and what we do not know. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(6):1772-81.e1.
6. Altrichter S, Peter HJ, Pisarevskaja D, Metz M, Martus P, Maurer M. IgE mediated autoallergy against thyroid peroxidase--a novel pathomechanism of chronic spontaneous urticaria? *PLoS One*. 2011;6(4):e14794.
7. Hatada Y, Kashiwakura J, Hayama K, Fujisawa D, Sasaki-Sakamoto T, Terui T, Ra C, Okayama Y. Significantly high levels of anti-dsDNA immunoglobulin E in sera and the ability of dsDNA to induce the degranulation of basophils from chronic urticaria patients. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;161 Suppl 2:154-8.
8. Schmetzer O, Lakin E, Topal FA, Preusse P, Freier D, Church MK, Maurer M. IL-24 is a common and specific autoantigen of IgE in patients with chronic spontaneous urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;142(3):876-82.
9. Fiebiger E, Maurer D, Holub H, Reininger B, Hartmann G, Woisetschlager M, Kinet JP, Stingl G. Serum IgG autoantibodies directed against the alpha chain of Fc epsilon RI: a selective marker and pathogenetic factor for a distinct subset of chronic urticaria patients? *J Clin Invest*. 1995;96(6):2606-12.
10. Grattan CE, Francis DM, Hide M, Greaves MW. Detection of circulating histamine releasing autoantibodies with functional properties of anti-IgE in chronic urticaria. *Clin Exp Allergy*. 1991;21(6):695-704.

11. Konstantinou GN, Asero R, Ferrer M, Knol EF, Maurer M, Raap U, Schmid-Grendelmeier P, Skov PS, Grattan CE. EAACI taskforce position paper: evidence for autoimmune urticaria and proposal for defining diagnostic criteria. *Allergy*. 2013;68(1):27-36.
12. Schoepke N, Asero R, Ellrich A, Ferrer M, Gimenez-Arnau A, Grattan CEH, Jakob T, Konstantinou GN, Raap U, Skov PS, Staubach P, Kromminga A, Zhang K, Bindslev-Jensen C, Daschner A, Kinaciyan T, Knol EF, Makris M, Marrouche N, Schmid-Grendelmeier P, Sussman G, Toubi E, Church MK, Maurer M. Biomarkers and clinical characteristics of autoimmune chronic spontaneous urticaria: Results of the PURIST Study. *Allergy*. 2019;74(12):2427-36.
13. Nettis E, Dambra P, D'Oronzio L, Cavallo E, Loria MP, Fanelli M, Ferrannini A, Tursi A. Reactivity to autologous serum skin test and clinical features in chronic idiopathic urticaria. *Clin Exp Dermatol*. 2002;27(1):29-31.
14. Grattan CE, Walpole D, Francis DM, Niimi N, Dootson G, Edler S, Corbett MF, Barr RM. Flow cytometric analysis of basophil numbers in chronic urticaria: basopenia is related to serum histamine releasing activity. *Clin Exp Allergy*. 1997;27(12):1417-24.
15. Grattan CE, Dawn G, Gibbs S, Francis DM. Blood basophil numbers in chronic ordinary urticaria and healthy controls: diurnal variation, influence of loratadine and prednisolone and relationship to disease activity. *Clin Exp Allergy*. 2003;33(3):337-41.
16. Altrichter S, Frischbutter S, Fok JS, Kolkhir P, Jiao Q, Skov PS, Metz M, Church MK, Maurer M. The role of eosinophils in chronic spontaneous urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;145(6):1510-6.
17. Kolkhir P, Church MK, Altrichter S, Skov PS, Hawro T, Frischbutter S, Metz M, Maurer M. Eosinopenia, in Chronic Spontaneous Urticaria, Is Associated with High Disease Activity, Autoimmunity, and Poor Response to Treatment. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020;8(1):318-25.e5.
18. Kolkhir P, Kovalkova E, Chernov A, Danilycheva I, Krause K, Sauer M, Shulzhenko A, Fomina D, Maurer M. Autoimmune Chronic Spontaneous Urticaria Detection with IgG Anti-TPO and Total IgE. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021;9(11):4138-46.e8.
19. Kaplan AP, Giménez-Arnau AM, Saini SS. Mechanisms of action that contribute to efficacy of omalizumab in chronic spontaneous urticaria. *Allergy*. 2017;72(4):519-33.
20. Maurer M, Altrichter S, Schmetzer O, Scheffel J, Church MK, Metz M. Immunoglobulin E-Mediated Autoimmunity. *Front Immunol*. 2018;9:689.
21. Ertas R, Ozyurt K, Atasoy M, Hawro T, Maurer M. The clinical response to omalizumab in chronic spontaneous urticaria patients is linked to and predicted by IgE levels and their change. *Allergy*. 2018;73(3):705-12.
22. Abd El-Azim M, Abd El-Azim S. Chronic autoimmune urticaria: frequency and association with immunological markers. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. 2011;21(7):546-50.
23. Yel L. Selective IgA deficiency. *J Clin Immunol*. 2010;30(1):10-6.
24. Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). *Clin Immunol*. 1999;93(3):190-7.

25. Magen E, Masalha A, Waitman DA, Kahan N, Viner I, Klassov L, Vardy D. Prevalence of dermatologic diseases among patients with selective immunoglobulin A deficiency. *Allergy Asthma Proc.* 2017;38(1):70-7.
26. Abolhassani H, Gharib B, Shahinpour S, Masoom SN, Havaei A, Mirminachi B, Arandi N, Torabi-Sagvand B, Khazaei HA, Mohammadi J, Rezaei N, Aghamohammadi A. Autoimmunity in patients with selective IgA deficiency. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2015;25(2):112-9.
27. Kolkhir P, Borzova E, Grattan C, Asero R, Pogorelov D, Maurer M. Autoimmune comorbidity in chronic spontaneous urticaria: A systematic review. *Autoimmun Rev.* 2017;16(12):1196-208.
28. Frossi B, De Carli S, Bossi F, Pucillo C, De Carli M. Co-Occurrence of Chronic Spontaneous Urticaria with Immunoglobulin A Deficiency and Autoimmune Diseases. *Int Arch Allergy Immunol.* 2016;169(2):130-4.
29. Gonzalez-Quintela A, Alende R, Gude F, Campos J, Rey J, Meijide LM, Fernandez-Merino C, Vidal C. Serum levels of immunoglobulins (IgG, IgA, IgM) in a general adult population and their relationship with alcohol consumption, smoking and common metabolic abnormalities. *Clin Exp Immunol.* 2008;151(1):42-50.
30. Jarvis D, Luczynska C, Chinn S, Burney P. The association of age, gender and smoking with total IgE and specific IgE. *Clin Exp Allergy.* 1995;25(11):1083-91.
31. Amaral AFS, Newson RB, Abramson MJ, Antó JM, Bono R, Corsico AG, de Marco R, Demoly P, Forsberg B, Gislason T, Heinrich J, Huerta I, Janson C, Jögi R, Kim JL, Maldonado J, Martinez-Moratalla Rovira J, Neukirch C, Nowak D, Pin I, Probst-Hensch N, Raheison-Semjen C, Svanes C, Urrutia Landa I, van Ree R, Versteeg SA, Weyler J, Zock JP, Burney PGJ, Jarvis DL. Changes in IgE sensitization and total IgE levels over 20 years of follow-up. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137(6):1788-95.e9.
32. Lawrence MG, Palacios-Kibler TV, Workman LJ, Schuyler AJ, Steinke JW, Payne SC, McGowan EC, Patrie J, Fuleihan RL, Sullivan KE, Lugar PL, Hernandez CL, Beakes DE, Verbsky JW, Platts-Mills TAE, Cunningham-Rundles C, Routes JM, Borish L. Low Serum IgE Is a Sensitive and Specific Marker for Common Variable Immunodeficiency (CVID). *J Clin Immunol.* 2018;38(3):225-33.
33. Sauer M, Scheffel J, Frischbutter S, Kolkhir P, Xiang YK, Siebenhaar F, Altrichter S, Maurer M, Metz M, Krause K. Lower IgA Levels in Chronic Spontaneous Urticaria Are Associated With Lower IgE Levels and Autoimmunity. *Front Immunol.* 2021;12:657211.
34. de Montjoye L, Darrigade AS, Giménez-Arnau A, Herman A, Dumoutier L, Baeck M. Correlations between disease activity, autoimmunity and biological parameters in patients with chronic spontaneous urticaria. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2020.
35. Labor Berlin. Immunglobuline. Verfügbar unter: <https://www.laborberlin.com/unsere-leistungen/leistungsverzeichnis-detail/?id=205>. Abgerufen am 11. November 2021.
36. Lennox RD, Leahy MJ. Validation of the Dermatology Life Quality Index as an outcome measure for urticaria-related quality of life. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2004;93(2):142-6.
37. Aghamohammadi A, Cheraghi T, Gharagozlou M, Movahedi M, Rezaei N, Yeganeh M, Parvaneh N, Abolhassani H, Pourpak Z, Moin M. IgA deficiency: correlation between clinical and immunological phenotypes. *J Clin Immunol.* 2009;29(1):130-6.

38. Kessel A, Helou W, Bamberger E, Sabo E, Nusem D, Panassof J, Toubi E. Elevated serum total IgE--a potential marker for severe chronic urticaria. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;153(3):288-93.
39. Zhang L, Qiu L, Wu J, Qi Y, Wang H, Qi R, Yao X, Zhu H, Li Y, Hao S, Lu Q, Long H, Lian S, Zhang H, Zhu W, Lai W, Su X, Lu R, Guo Z, Li J, Li M, Liu Q, Wang H, He L, Nong X, Li F, Li Y, Yao C, Xu J, Tang H, Wang D, Li Z, Yu H, Xiao S, An J, Pu X, Yu S, Zhang J, Chen X, Gao X, Chen H, Xiao T. IgE and IgG Anti-Thyroid Autoantibodies in Chinese Patients With Chronic Spontaneous Urticaria and a Literature Review. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2022;14(1):131-42.
40. Magerl M, Terhorst D, Metz M, Altrichter S, Zuberbier T, Maurer M, Bergmann KC. Benefit of mepolizumab treatment in a patient with chronic spontaneous urticaria. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2018;16(4):477-8.
41. Maurer M, Altrichter S, Metz M, Zuberbier T, Church MK, Bergmann KC. Benefit from reslizumab treatment in a patient with chronic spontaneous urticaria and cold urticaria. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2018;32(3):e112-e3.
42. Freeman GL. Syndromes associated with eosinopenia. *Allergy.* 1998;53(3):331-3.
43. Altrichter S, Zampeli V, Ellrich A, Zhang K, Church MK, Maurer M. IgM and IgA in addition to IgG autoantibodies against FcεRIα are frequent and associated with disease markers of chronic spontaneous urticaria. *Allergy.* 2020;75(12):3208-15.
44. Pasquier B, Launay P, Kanamaru Y, Moura IC, Pfirsch S, Ruffié C, Hénin D, Benhamou M, Pretolani M, Blank U, Monteiro RC. Identification of FcαRI as an inhibitory receptor that controls inflammation: dual role of FcRγ ITAM. *Immunity.* 2005;22(1):31-42.
45. van Gool MMJ, van Egmond M. IgA and FcαRI: Versatile Players in Homeostasis, Infection, and Autoimmunity. *Immunotargets Ther.* 2020;9:351-72.

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Merle Sauer, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Die Rolle von niedrigen Immunglobulin A- und E-Spiegeln bei chronischer spontaner Urtikaria“ („The role of low levels of immunoglobulins A and E in chronic spontaneous urticaria“) 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 Autor\*innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

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

Datum

Unterschrift

---

## Anteilerklärung an der erfolgten Publikation

Merle Sauer hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Publikation 1: Sauer M, Scheffel J, Frischbutter S, Kolkhir P, Xiang YK, Siebenhaar F, Altrichter S, Maurer M, Metz M, Krause K. *Lower IgA Levels in Chronic Spontaneous Urticaria Are Associated With Lower IgE Levels and Autoimmunity*. Front Immunol 2021;12:657211.

Beitrag im Einzelnen:

- Mitentwicklung der Fragestellung
- Aufarbeitung der Patient\*innendatenbank und Einleitung der Nachbestimmung fehlender Immunglobulin-Werte
- Etablierung und Durchführung des Basophilen-Aktivierungs-Tests im Labor
- Mitwirkung bei der Etablierung des ELISA zur Messung von IgE-anti-TPO-Spiegeln im Labor
- Statistische Auswertung der Laborwerte und klinischen Daten der Patient\*innen
- Erstellung aller Abbildungen und Tabellen
- Kritische Interpretation der Ergebnisse
- Verfassung des Manuskripts (inklusive Text, Diagrammen und Tabellen) und Überarbeitung der Korrekturen der Koautor\*innen
- Einreichung des Manuskripts und Hauptschriftverkehr mit den Gutachter\*innen

---

Unterschrift, Datum und Stempel der erstbetreuenden Hochschullehrerin

---

Unterschrift der Doktorandin

## Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2019** Selected Editions: SCIE,SSCI  
 Selected Categories: **"Immunology"** Selected Category Scheme: WoS  
**Gesamtanzahl: 158 Journale**

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	NATURE REVIEWS IMMUNOLOGY	42,168	40.358	0.068470
2	IMMUNITY	54,819	22.553	0.124040
3	NATURE IMMUNOLOGY	44,709	20.479	0.081870
4	Annual Review of Immunology	17,080	19.900	0.019310
5	Lancet HIV	3,301	14.813	0.018090
6	IMMUNOLOGICAL REVIEWS	15,973	13.939	0.026690
7	Science Immunology	2,516	13.440	0.015070
8	TRENDS IN IMMUNOLOGY	13,037	13.422	0.025020
9	JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE	63,562	11.743	0.067350
10	JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY	52,417	10.228	0.077410
11	Journal for ImmunoTherapy of Cancer	4,557	9.913	0.016030
12	SEMINARS IN IMMUNOLOGY	5,345	9.186	0.010250
13	Cancer Immunology Research	6,969	8.728	0.026440
14	ALLERGY	18,217	8.706	0.024340
15	Cellular & Molecular Immunology	4,604	8.484	0.010020
16	CLINICAL INFECTIOUS DISEASES	66,656	8.313	0.123760
17	AUTOIMMUNITY REVIEWS	9,902	7.767	0.018300
18	Journal of Allergy and Clinical Immunology-In Practice	5,946	7.574	0.018100
19	Seminars in Immunopathology	3,734	7.480	0.006690
20	CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY	9,628	7.290	0.016900
21	JOURNAL OF CLINICAL IMMUNOLOGY	5,262	6.780	0.007610

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
22	Mucosal Immunology	7,191	6.726	0.021240
23	JOURNAL OF AUTOIMMUNITY	7,159	6.658	0.014180
24	BRAIN BEHAVIOR AND IMMUNITY	16,285	6.633	0.028560
25	Clinical & Translational Immunology	1,082	6.464	0.003890
26	CLINICAL REVIEWS IN ALLERGY & IMMUNOLOGY	3,317	6.437	0.005910
27	EMERGING INFECTIOUS DISEASES	30,705	6.259	0.055920
28	Oncolmunology	10,116	5.869	0.029410
29	Journal of Neuroinflammation	13,709	5.793	0.025870
30	Emerging Microbes & Infections	2,956	5.776	0.009740
31	npj Vaccines	596	5.699	0.002400
32	Journal of the International AIDS Society	4,956	5.553	0.018220
33	Virulence	4,334	5.542	0.009420
34	CANCER IMMUNOLOGY IMMUNOTHERAPY	8,390	5.442	0.011550
35	Advances in Immunology	2,357	5.359	0.003740
36	BIODRUGS	1,803	5.313	0.002980
37	EXERCISE IMMUNOLOGY REVIEW	784	5.300	0.000770
38	Frontiers in Immunology	45,626	5.085	0.133080
39	JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES	45,480	5.022	0.074340
40	IMMUNOLOGY	11,269	5.016	0.012590
41	ANNALS OF ALLERGY ASTHMA & IMMUNOLOGY	8,213	4.969	0.011830
42	Journal of Inflammation Research	859	4.953	0.001990
43	Journal of Innate Immunity	2,239	4.932	0.003930



# Lower IgA Levels in Chronic Spontaneous Urticaria Are Associated With Lower IgE Levels and Autoimmunity

Merle Sauer<sup>1,2</sup>, Jörg Scheffel<sup>1</sup>, Stefan Frischbutter<sup>1</sup>, Pavel Kolkhir<sup>1,3</sup>, Yi-Kui Xiang<sup>1</sup>, Frank Siebenhaar<sup>1</sup>, Sabine Altrichter<sup>1</sup>, Marcus Maurer<sup>1</sup>, Martin Metz<sup>1</sup> and Karoline Krause<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Dermatological Allergy, Allergie-Centrum-Charité, Department of Dermatology and Allergy, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany, <sup>2</sup> Berlin Institute of Health (BIH) at Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany, <sup>3</sup> Division of Immune-Mediated Skin Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

## OPEN ACCESS

### Edited by:

Pedro Giavina-Bianchi,  
University of São Paulo, Brazil

### Reviewed by:

Salah Mécheri,  
Institut Pasteur, France  
Nicolas Charles,  
Institut National de la Santé et de la  
Recherche Médicale (INSERM),  
France

### \*Correspondence:

Karoline Krause  
karoline.krause@charite.de

### Specialty section:

This article was submitted to  
Molecular Innate Immunity,  
a section of the journal  
Frontiers in Immunology

**Received:** 22 January 2021

**Accepted:** 19 April 2021

**Published:** 03 May 2021

### Citation:

Sauer M, Scheffel J, Frischbutter S,  
Kolkhir P, Xiang Y-K, Siebenhaar F,  
Altrichter S, Maurer M, Metz M  
and Krause K (2021) Lower IgA  
Levels in Chronic Spontaneous  
Urticaria Are Associated With Lower  
IgE Levels and Autoimmunity.  
*Front. Immunol.* 12:657211.  
doi: 10.3389/fimmu.2021.657211

**Background:** The pathogenesis of chronic spontaneous urticaria (CSU) is still insufficiently understood. Recent findings suggest that immunoglobulins, in particular IgE but also IgA, play a role in the development of CSU.

**Objective:** Our aim was to assess differences in clinical and laboratory markers between CSU patients with and without lower levels of serum IgA and IgE.

**Methods:** We analyzed the data of 606 patients with CSU by dividing them into four groups based on their IgA and IgE levels. The groups were compared for their spectrum of symptoms, disease activity, concomitant autoimmunity and routine laboratory markers. Autoreactivity was assessed by basophil activation test (BAT). Moreover, IgE-anti-thyroid peroxidase (TPO) was measured.

**Results:** Of the patients with lower IgE levels, 66.5% also had lower IgA levels ( $r=0.316$ ,  $p<0.001$ ). Patients with lower IgA and lower IgE levels showed a higher prevalence of recurrent angioedema ( $p=0.03$ ,  $p=0.04$ ) and concomitant autoimmunity ( $p=0.006$ ,  $p<0.001$ ). Autoreactivity was also found more frequently in patients with lower IgA and lower IgE levels ( $p=0.003$ ,  $p<0.001$ ). Reduced basophil counts were linked to both, lower IgA and lower IgE levels ( $p<0.001$ ), whereas low eosinophil counts were primarily present in patients with lower IgE levels ( $p=0.04$ ,  $p<0.001$ ). Patients with elevated IgE-anti-TPO levels had lower IgA ( $p=0.007$ ) and IgE levels ( $p=0.001$ ).

**Conclusion:** Lower IgA levels in CSU are linked to lower IgE levels and features of autoimmune urticaria. Our findings encourage to screen CSU patients for serum IgA and IgE levels and to further assess their role as disease biomarkers.

**Keywords:** immunoglobulin A, immunoglobulin E, chronic spontaneous urticaria, autoreactivity, autoimmune disease, basophils, eosinophils

## INTRODUCTION

Chronic spontaneous urticaria (CSU) is a common disease that affects around 1% of the general population (1). It is characterized by the appearance of pruritic wheals, angioedema or both for more than six weeks without a specific and definite triggering factor (2).

The symptoms of CSU are primarily caused by the activation and degranulation of skin mast cells (3). The specific mechanisms that lead to this activation are still not clarified entirely. Based on recent pathomechanistic studies and different response profiles to anti-immunoglobulin E (IgE) treatment, the concept of two different types of autoimmunity in CSU was established (4). In type I autoimmunity, or autoallergy, patients have IgE-antibodies against different autoantigens, such as thyroid peroxidase (TPO) (5), interleukin-24 (6) or double stranded DNA (7) that crosslink the IgE on mast cells and basophils and thus lead to degranulation. Type IIb autoimmunity is characterized by mast cell-activating IgG-antibodies, for example against IgE (8) or its high-affinity receptor FcεRI (9), that induce histamine release of mast cells and basophils. Patients with type IIb autoimmunity are characterized by a positive autologous serum skin test (ASST), serum autoreactivity in basophil activation test (BAT) or basophil histamine release assay (BHRA) and a positive immunoassay for IgG-antibodies against FcεRI or IgE (10). However, recent findings show that only in 8% of patients with type IIb autoimmune CSU all three elements are present simultaneously (11).

Low levels of IgE in patients with CSU have been linked to type IIb autoimmunity (11). Also, total levels of IgE are linked to the response to treatment with omalizumab, a therapeutic anti-IgE-antibody, with non-responders to this third-line treatment showing lower levels of IgE (12). Patients with type IIb autoimmune CSU also respond slower to omalizumab treatment (13). In contrast, CSU patients with type I autoimmunity and high IgE levels show better and faster responses to omalizumab, respectively (14, 15).

Currently, little is known about the role of immunoglobulin A (IgA) in CSU. Selective immunoglobulin A-deficiency (SIgAD) is the most common primary immunodeficiency. It is defined as a serum IgA level of less than 0.07 g/l with normal levels of serum immunoglobulin G (IgG) and immunoglobulin M (IgM) in patients older than four years in whom other causes of hypogammaglobulinemia have been excluded (16). Patients with SIgAD have a higher risk of autoimmune diseases (17), as do patients with CSU (18). Furthermore, in patients with SIgAD the prevalence of inflammatory skin diseases including CSU is higher (19). Interestingly, Frossi et al. found SIgAD in patients with CSU to be linked to the presence of other autoimmune diseases and signs of

type IIb autoimmune CSU, such as positive ASST and BAT results (20). However, only four patients (all of them with exceptionally low IgA levels) were included in this study. Therefore, further work on the importance of IgA in CSU in a bigger cohort is required.

We hypothesized that lower levels of IgA are linked to features of type IIb autoimmune CSU including lower IgE. To test our hypothesis, we measured total serum IgA and IgE levels in more than 600 CSU patients and assessed those with lower levels of one or both for their clinical and laboratory features.

## METHODS

### Patients

We analyzed the data of 606 patients with CSU treated at the Urticaria Reference and Excellence Center (UCARE) (21) at Charité-Universitätsmedizin Berlin. All patients provided oral and written informed consent that included the publication of their pseudonymized data. For affected children (n=10), parents provided written informed consent. The study was approved by the Ethics Committee of Charité-Universitätsmedizin Berlin, Germany.

The patients were divided into four groups based on their IgA and IgE levels: 1) lower IgA and lower IgE levels (IgA<sup>lower</sup>IgE<sup>lower</sup>), 2) lower IgA and normal or elevated IgE levels (IgA<sup>lower</sup>IgE<sup>n/hi</sup>), 3) lower IgE and normal or elevated IgA levels (IgA<sup>n/hi</sup>IgE<sup>lower</sup>) and 4) normal or elevated IgA and IgE levels (IgA<sup>n/hi</sup>IgE<sup>n/hi</sup>). Based on the median IgA value of 1.84 g/l in this cohort of 606 CSU patients, we classified patients who had a serum IgA level of <1.84 g/l as having lower IgA levels. For lower IgE levels, the cut-off of <40 kU/l was used as this had previously been reported to be clinically relevant in CSU patients (11, 22).

All patients with complete routine diagnostic data on immunoglobulin levels A, E, G and M, were included in the study (n=523). Additionally, to increase group sizes, partially missing immunoglobulin values were determined in retrospect from frozen sera of patients who were known to have either lower IgA or lower IgE levels (n=83).

Patients treated with anti-IgE-antibodies (omalizumab) or immunosuppressives were not included in the study. Moreover, patients were asked, if possible, to stop taking oral corticosteroids and antihistamines, starting four weeks before the analysis, to ensure reliable results.

### Clinical Markers

Disease activity was measured by the 7-day once-daily urticaria activity score (UAS7) that is based on wheal number and itch severity documented by the patient (minimum: 0, maximum: 42) (2). To assess health-related quality of life impairment, the dermatology life quality index (DLQI) was applied (minimum: 0, maximum: 30) (23). Furthermore, the spectrum of symptoms (wheals with or without angioedema) and the prevalence of concomitant diseases, especially autoimmunity, were assessed.

### Routine Laboratory Markers

Aside from serum levels of IgA and IgE, different serologic markers were assessed in all patients including C-reactive

**Abbreviations:** ANA, Anti-nuclear antibodies; ANCA, Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies; ASST, Autologous serum skin test; BAT, Basophil activation test; BSA, Bovine serum albumin; CSU, Chronic spontaneous urticaria; DLQI, Dermatology life quality index; EDTA, Ethylenediaminetetraacetic acid; FBS, Fetal bovine serum; IgA, Immunoglobulin A; IgE, Immunoglobulin E; IgG, Immunoglobulin G; IgM, Immunoglobulin M; IQR, Interquartile range; Md, Median; PBS, phosphate-buffered saline; SIgAD, Selective immunoglobulin A-deficiency; TBS, Tris-buffered saline; TPO, Thyroid peroxidase; UAS, Urticaria activity score.

protein, leukocyte, basophil and eosinophil count, IgG and IgM levels.

### Assessment of Autoimmunity

Patients were screened for the presence of comorbid autoimmune disease and elevated levels of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA), (cANCA  $\geq 10$  U/ml, pANCA  $\geq 5$  U/ml), anti-nuclear antibodies (ANA) ( $\geq 1:160$ ), rheumatoid factor IgM ( $\geq 20$  U/ml), circulating immune complexes ( $\geq 55$   $\mu$ g/ml), IgG-anti-TPO ( $\geq 35$  kU/l) or thyroid stimulating hormone-receptor-antibodies ( $\geq 2$  U/l).

### Assessment of Autoreactivity

Autoreactivity was assessed by an indirect BAT to screen for autoantibodies in the patients' serum. Moreover, IgE-anti-TPO as a potential relevant autoallergen in CSU was measured (5).

The BAT was performed with fresh healthy donor basophils and frozen patient serum that was thawed and diluted in phosphate-buffered saline (PBS) (final concentration of 20%). 50  $\mu$ l of heparinized whole blood, taken from the same healthy donor for all experiments, was incubated with 50  $\mu$ l of 20% serum for 15 minutes at 37°C and with 5% CO<sub>2</sub> in a 96 well plate. As a positive control, 50  $\mu$ l PBS containing 2.5  $\mu$ g/ml mouse anti-human IgE HP6029 and 2.5  $\mu$ g/ml mouse anti-human IgE HP6061 (both SouthernBiotech, Birmingham, AL) was used. PBS functioned as a negative control. After washing the samples with 150  $\mu$ l PBS + 2mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA; Invitrogen, Carlsbad, CA) the plate was centrifuged at 340 x g for 10 minutes at 4°C. The supernatant was aspirated with a vacuum pump and the cells were stained with antibodies against CD3 (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, REF#560365), CD193 (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, REF#558208), CD63 (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, REF#561982) and CD203c (Beckman Coulter, Brea, CA, REF#IM3575) at 1:42 each in FACS buffer (1% bovine serum albumin [BSA; Serva, Heidelberg, Germany] in PBS) supplemented with 2.4% Kiovig (Baxter AG, Vienna, Austria). The cells were lysed with 200  $\mu$ l of red blood cell lysis buffer (BioLegend, San Diego, CA) for five minutes. After centrifugation, the supernatant was discarded and the pellet was resuspended in 250  $\mu$ l MACS buffer (1% BSA + 2 mM EDTA in PBS). Samples were then measured by flow cytometry (MACS Quant, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) and analyzed using FlowJo (v.10.6.1, BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ). The gating strategy used here is shown in the **Supplemental Figure 1**. The BAT was considered positive, if more than 7.77% of the total basophils were both CD63 and CD203c positive. As cut-off, the 95th percentile of double positive cells induced by control sera (n=51) was used.

CSU serum levels of IgE-anti-TPO were measured in an enzyme-linked immunosorbent assay. The plate was coated overnight with 2  $\mu$ g/ml of MHE-18 (BioLegend, San Diego, CA). After blocking with 1% fetal bovine serum (FBS, Biochrom, Berlin, Germany) in tris-buffered saline (TBS), plates were incubated with serum (diluted 1:5 in TBS, overnight, at 4°C), followed by biotinylated human-TPO (in.vent Diagnostica GmbH, Hennigsdorf, Germany). For detection, streptavidin-HRP (ThermoFisher Scientific,

Waltham, MA) and ECL Prime (GE Healthcare, Chicago, IL) were used. Between each step, intensive washing with TBS containing 0.05% Tween 20 was performed. Chimeric human IgE-anti-TPO was used as positive control and standard. It was obtained from the supernatant of SP-2/Sp1.4 transfected mouse myeloma cells (kindly provided by Sandra McLachlan, Thyroid Autoimmune Disease Unit, Cedars-Sinai Medical Center and University of California Los Angeles) grown in 2 mM L-Glutamine, 10% FBS gold IMEM-medium, 10  $\mu$ g/ml Streptomycin and 100 U/ml Penicillin (all Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Germany), as described before (5). IgE-anti-TPO levels >1.09 ng/ml were considered as elevated. As cut-off, the 95th percentile of IgE-anti-TPO levels measured in healthy control sera (n=14) was used.

### Statistical Analysis

Statistical analysis was performed with the Statistical Package for the Social Science (IBM SPSS version 27; IBM Corp, New York, NY) and figures were created using GraphPad Prism (version 9.0.0; GraphPad Software, San Diego, CA). Normal distribution was tested with Kolmogorov Smirnov test. As the data was not normally distributed, the median (Md) and interquartile range (IQR) were used. For comparison of continuous variables, the Mann-Whitney-U test was performed when comparing two groups and the Kruskal-Wallis test (one-way ANOVA) was applied when comparing more than two groups. Correlation was assessed using Spearman-Rho test for variables that were not normally distributed. Binary variables were analyzed using Pearson Chi-square test. Post hoc analysis involved pairwise comparisons using the z-test of two proportions with a Bonferroni correction. Statistical significance was indicated by  $p \leq 0.05$ .

## RESULTS

### Lower IgA Levels Are Linked to Lower IgE and IgG Levels and Higher IgM Levels

In our study cohort the median age of patients was 43 years, ranging from 13 to 82 years. More female (n=461) than male patients (n=145) with CSU were included in the cohort. The median disease duration was two years and the median age at diagnosis 36 years. During the examination period, 4.7% of patients (n=17) received low to medium doses of oral corticosteroids and 23.4% (n=88) received antihistamines (**Table 1**).

More than a third of CSU patients showed lower IgE levels (n=224, 37.0%). Of these patients, 66.5% (n=149) were classified as having lower IgA levels (**Table 1**). IgA and IgE levels were significantly correlated ( $r=0.316$ ,  $p<0.001$ ) (**Figure 1A**) and patients with lower IgA (<1.84 g/l) also had significantly lower IgE levels (md=42.50 kU/l vs. md=111.00 kU/l,  $p<0.001$ ) (**Figure 1B**).

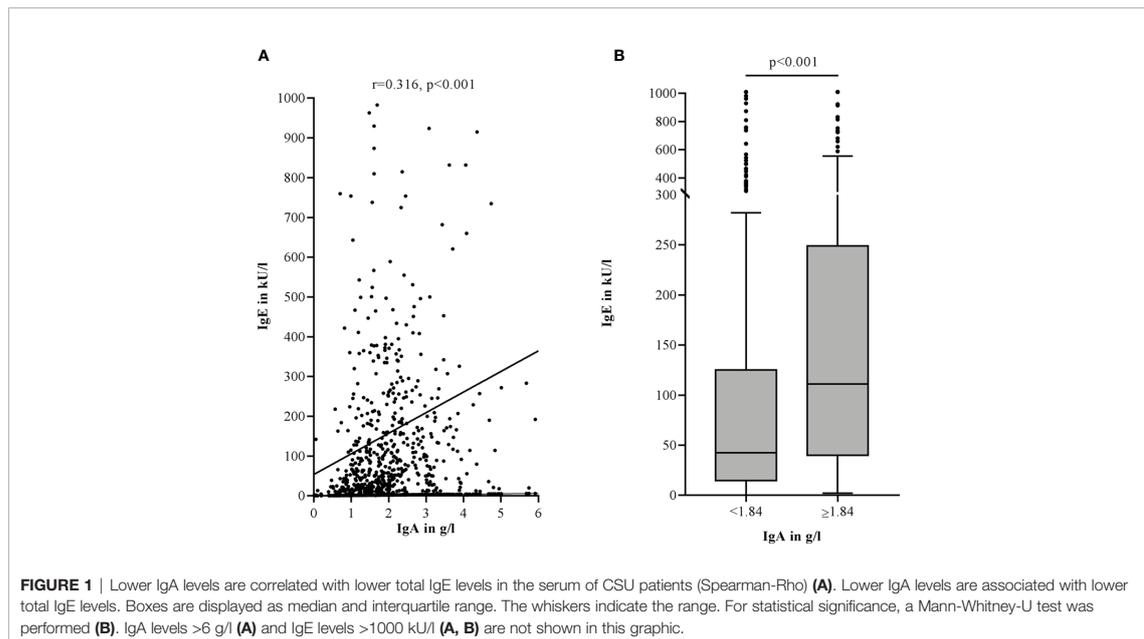
Moreover, IgG levels were particularly lower in patients with lower IgA levels. The difference was significant between IgA<sup>lower</sup>/IgE<sup>lower</sup> patients compared to IgA<sup>hi</sup>/IgE<sup>lower</sup> patients

**TABLE 1** | Main clinical and laboratory features of the patients.

	Lower IgA and lower IgE levels (IgA <sup>lower</sup> , IgE <sup>lower</sup> )	Lower IgA and normal or elevated IgE levels (IgA <sup>lower</sup> , IgE <sup>normal</sup> )	Lower IgE and normal or elevated IgA levels (IgA <sup>normal</sup> , IgE <sup>lower</sup> )	Normal or elevated IgA and IgE levels (IgA <sup>normal</sup> , IgE <sup>normal</sup> )	Significance level
	n=149 (24.6%)	n=154 (25.4%)	n=75 (12.4%)	n=228 (37.6%)	
Female patients, % (n)	86.6 (129)	78.6% (121)	73.3 (55)	68.4 (156)	<b>p=0.001</b>
Age at diagnosis in years, md (IQR)	40.00 (26.00-49.60)	31.92 (23.00-42.00)	41.00 (27.25-50.00)	37.00 (26.42-50.00)	<b>p=0.001</b>
Disease duration in years, md (IQR)	1.58 (1.00-5.00)	2.08 (1.00-7.00)	2.00 (1.00-6.00)	2.14 (1.00-8.00)	p=0.16
Antihistamine treatment*, % (n)	23.7 (23)	23.7 (22)	25.5 (14)	22.1 (29)	p=0.97
Systemic corticosteroid treatment*, % (n)	3.2 (3)	7.9 (7)	5.7 (3)	3.1 (4)	p=0.35
IgA in g/l (0.7-4.0), md (IQR)	1.27 (0.87-1.53)	1.42 (1.13-1.61)	2.37 (1.98-3.16)	2.47 (2.14-3.10)	<b>p&lt;0.001</b>
IgE in kU/l (0.0-100.0), md (IQR)	14.60 (6.37-23.60)	122.50 (64.00-241.00)	17.20 (8.54-27.70)	160.00 (89.95-287.00)	<b>p&lt;0.001</b>
IgG in g/l (7.0-16.0), md (IQR)	9.05 (7.81-10.80)	9.57 (8.51-10.52)	10.05 (8.83-11.74)	10.24 (8.77-12.07)	<b>p&lt;0.001</b>
IgM in g/l (0.4-2.3), md (IQR)	1.05 (0.89-1.49)	0.99 (0.67-1.40)	0.98 (0.71-1.30)	0.97 (0.67-1.37)	p=0.33
UAS7 (0-42), md (IQR)	19.00 (10.00-27.00)	18.00 (12.00-25.00)	17.00 (9.00-29.00)	16.00 (8.00-23.00)	p=0.14
DLQI (0-30), md (IQR)	9.00 (4.00-13.00)	9.50 (6.00-15.00)	6.00 (3.00-12.50)	6.00 (3.00-11.00)	<b>p=0.01</b>
Presence of angioedema, % (n)	49.7 (73)	33.8 (50)	34.3 (24)	35.1 (74)	<b>p=0.01</b>
C-reactive protein in mg/l, md (IQR)	2.00 (1.00-5.40)	1.90 (0.70-6.45)	2.25 (0.90-5.25)	2.50 (1.00-5.60)	p=0.65
Leukocyte count/nl, md (IQR)	6.16 (5.15-7.47)	6.61 (5.17-7.85)	5.59 (4.78-7.01)	6.31 (5.43-7.58)	p=0.12
Eosinophil count/nl, md (IQR)	0.09 (0.06-0.17)	0.17 (0.09-0.29)	0.13 (0.08-0.19)	0.16 (0.10-0.24)	<b>p&lt;0.001</b>
Basophil count/nl, md (IQR)	0.01 (0.00-0.02)	0.02 (0.01-0.03)	0.02 (0.01-0.03)	0.02 (0.01-0.04)	<b>p&lt;0.001</b>
IgE-anti-TPO in ng/ml, md (IQR)	1.01 (0.80-1.17)	0.91 (0.73-1.16)	1.00 (0.83-1.13)	0.92 (0.76-1.08)	p=0.26

DLQI, Dermatology life quality index; IgA, Immunoglobulin A; IgE, Immunoglobulin E; IgG, Immunoglobulin G; IgM, Immunoglobulin M; IQR, Interquartile range; Md, Median; TPO, Thyroid peroxidase; UAS, Urticaria activity score.

\*Treatment with antihistamines or systemic corticosteroids (prednisone, median 7 mg/d, range 1-40 mg/d) at the time of immunoglobulin assessment or in the 7 days before. Reference values for serum immunoglobulin classes are indicated in brackets. For clinical scores minimum and maximum values are presented. Significances for differences between the groups were measured by Kruskal-Wallis test for continuous variables and Pearson Chi-square test for binary variables. Statistically significant correlations are written in boldface.



( $p=0.002$ ) and  $IgA^{n/hi}IgE^{n/hi}$  patients ( $p<0.001$ ) (**Figure 2A**). IgG levels also correlated significantly with IgA ( $r=0.280$ ,  $p<0.001$ ) and less strongly with IgE levels ( $r=0.104$ ,  $p=0.01$ ) (**Figure 2B**).

IgM levels revealed no significant differences between the groups but were especially high in  $IgA^{lower}IgE^{lower}$  patients (**Table 1**) and showed a weak negative correlation with IgA levels ( $r=-0.090$ ,  $p=0.03$ ).

### Lower IgA and IgE Levels Are Associated With Female Gender, High Rates of Angioedema and Lower Basophil and Eosinophil Counts

Levels of IgA were lower in women ( $md=1.76$  g/l) compared to men ( $md=2.12$  g/l) ( $p<0.001$ ), as were levels of IgE ( $md=60.90$  kU/l vs.  $118.00$  kU/l,  $p<0.001$ ). The proportion of females was significantly higher in  $IgA^{lower}IgE^{lower}$  patients compared to  $IgA^{n/hi}IgE^{n/hi}$  patients (86.6% vs. 68.4%,  $p<0.001$ ). With a median age of 32 years at diagnosis,  $IgA^{lower}IgE^{n/hi}$  patients were significantly younger compared to all other groups ( $IgA^{lower}IgE^{lower}$ :  $p=0.006$ ,  $IgA^{n/hi}IgE^{lower}$ :  $p=0.009$ ,  $IgA^{n/hi}IgE^{n/hi}$ :  $p=0.002$ ) (**Table 1**).

The prevalence of recurrent angioedema was highest in  $IgA^{lower}IgE^{lower}$  patients. Here, nearly half of the patients, namely 49.7% showed angioedema. The difference was significant compared to  $IgA^{lower}IgE^{n/hi}$  patients (33.8%,  $p=0.03$ ) and  $IgA^{n/hi}IgE^{n/hi}$  patients (35.1%,  $p=0.04$ ) (**Table 1**).

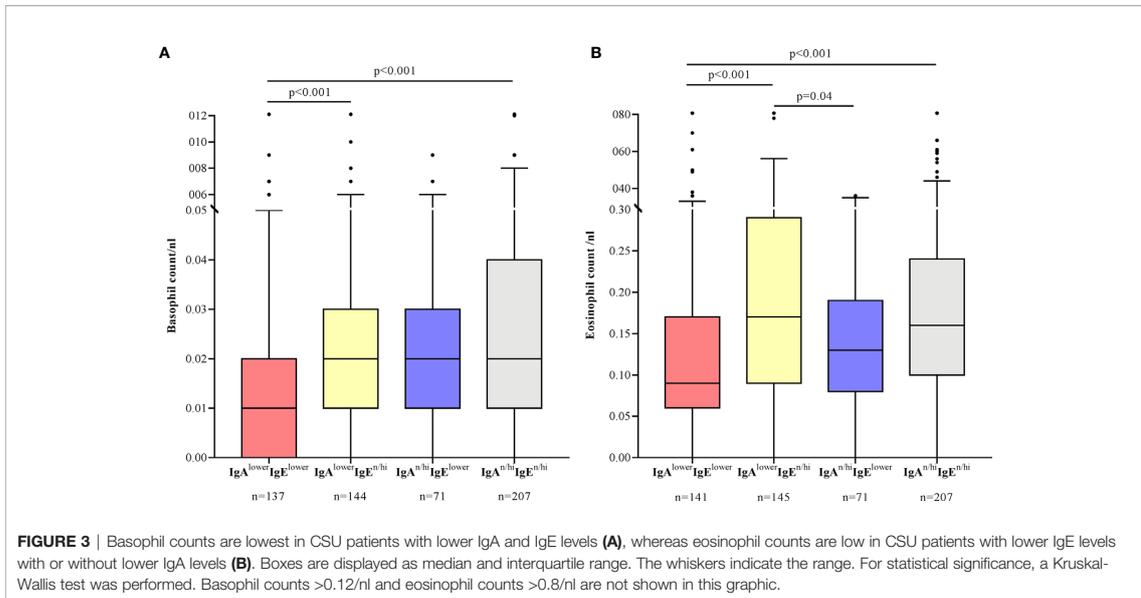
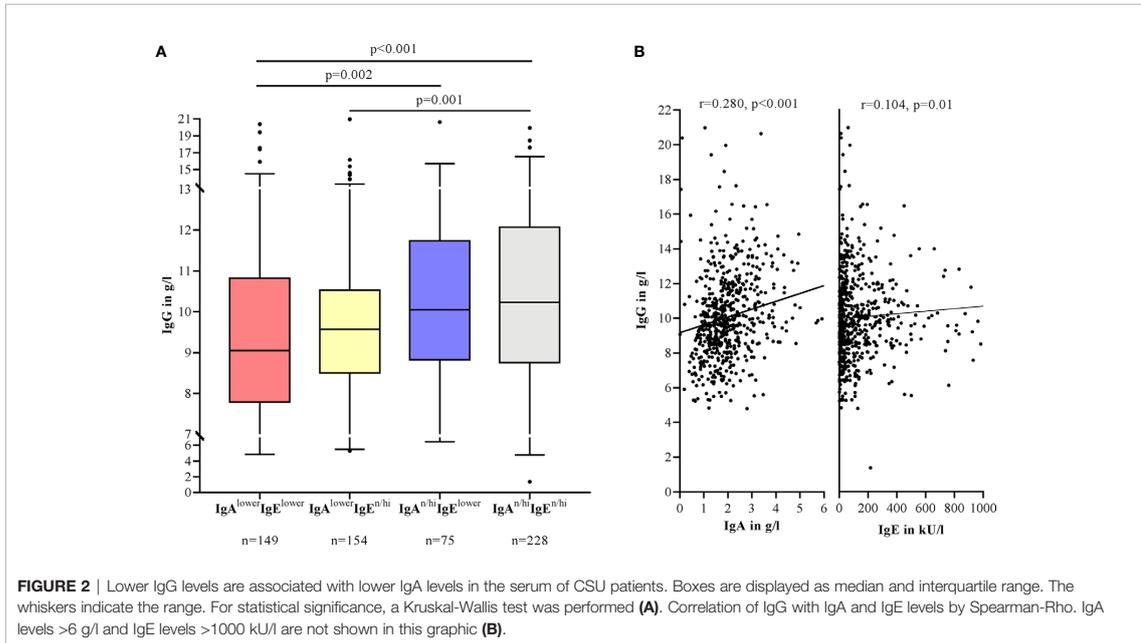
Quality of life impairment, as assessed by DLQI was highest in patients with lower levels of IgA. The difference was significant for  $IgA^{lower}IgE^{n/hi}$  patients ( $md=9.5$ ) compared to  $IgA^{n/hi}IgE^{n/hi}$  patients ( $md=6.0$ ,  $p=0.01$ ). The disease activity did not show significant differences between the groups as assessed by UAS7

(**Table 1**). However, for both UAS7 and DLQI, a negative correlation with IgA levels was found (UAS7:  $r=-0.095$ ,  $p=0.04$ ; DLQI:  $r=-0.173$ ,  $p=0.005$ ). Of note, the correlations increased when only including patients with concomitant recurrent angioedema (UAS7:  $r=-0.242$ ,  $p=0.001$ ; DLQI:  $r=-0.291$ ,  $p=0.003$ ) and the correlations completely disappeared when excluding patients with concomitant autoimmune phenomena ( $n=248$ ).

Basophil counts were lowest in  $IgA^{lower}IgE^{lower}$  patients. The differences were significant compared to  $IgA^{lower}IgE^{n/hi}$  patients ( $p<0.001$ ) and  $IgA^{n/hi}IgE^{n/hi}$  patients ( $p<0.001$ ) (**Figure 3A**). Eosinophil counts were mainly linked to lower IgE levels as shown by significantly lower eosinophil numbers in  $IgA^{lower}IgE^{lower}$  and  $IgA^{n/hi}IgE^{lower}$  patients compared to  $IgA^{lower}IgE^{n/hi}$  patients ( $p<0.001$ ,  $p=0.04$ ) (**Figure 3B**).

### Lower IgA and IgE Levels Are Linked to High Rates of Concomitant Autoimmune Diseases, Autoreactivity and High Levels of IgE-anti-TPO

Four of ten CSU patients (248 of 594, 41.8%) had one or more comorbid autoimmune disease and/or elevated levels of specific relevant autoantibodies. The most common comorbid autoimmune diseases were Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease. Positivity to ANA, ANCA, rheumatoid factor IgM or circulating immune complexes was associated mostly to lower IgE levels ( $IgA^{lower}IgE^{lower}$  and  $IgA^{n/hi}IgE^{lower}$ ), whereas the prevalence of thyroid autoimmune diseases was especially high in patients with both lower IgA and lower IgE levels (**Table 2**). In total, the proportion of patients with autoimmune diseases and/



or elevated autoantibodies was therefore highest in patients with lower IgE levels (**Figure 4**).

The BAT as a marker of type IIb autoimmunity was positive in 16.6% of CSU patients (n=500), with highest percentages of activated basophils (CD63 and CD203c positivity) in patients with lower IgA and IgE levels (IgA<sup>lower</sup>IgE<sup>lower</sup>). The difference in activation rates was significant compared to all other groups

(p=0.006, p=0.005, p<0.001) (**Figure 5A**). This effect was independent of the prevalence of autoimmune diseases as the exclusion of all patients with autoimmune phenomena (n=275 remaining) still revealed highest rates in the IgA<sup>lower</sup>IgE<sup>lower</sup> group compared to all other groups (p=0.04, p<0.001, p=0.009).

Both IgA and IgE levels showed a significant negative correlation with the percentage of activated cells (IgA: r=-0.208,

**TABLE 2** | Prevalence of autoimmune phenomena in patients with CSU sorted by type.

Type	Criteria	IgA <sup>lower</sup> IgE <sup>lower</sup>	IgA <sup>lower</sup> IgE	IgA <sup>lower</sup> IgE <sup>n/hi</sup>	IgA <sup>n/hi</sup> IgE <sup>lower</sup>	IgA <sup>n/hi</sup> IgE <sup>n/hi</sup>	Significance level
<b>A</b> Clinically diagnosed autoimmune disease	Patient history confirmed by treating physician	23.5% (n=35)	14.3% (n=22)	14.3% (n=22)	14.7% (n=11)	11.0% (n=25)	<b>p&lt;0.01</b>
<b>B</b> ANA, ANCA, rheumatoid factor IgM and/or circulating immune complexes	Positivity of ≥1 of the following	37.0% (n=54)	28.4% (n=42)	28.4% (n=42)	34.7% (n=25)	24.7% (n=55)	p=0.06
ANCA	cANCA ≥10 U/ml, pANCA ≥5 U/ml	6.0% (n=7)	5.6% (n=7)	5.6% (n=7)	5.7% (n=3)	4.0% (n=7)	p=0.85
ANA	≥1:160	38.7% (n=36)	29.1% (n=25)	29.1% (n=25)	39.5% (n=17)	24.6% (n=29)	p=0.09
Rheumatoid factor IgM	≥20 U/ml	4.2% (n=6)	6.3% (n=9)	6.3% (n=9)	0.0% (n=0)	3.6% (n=8)	p=0.17
Circulating immune complexes	≥55 µg/ml	11.8% (n=15)	5.6% (n=7)	5.6% (n=7)	16.4% (n=10)	8.2% (n=16)	p=0.08
<b>C</b> Thyroid antibodies + clinical phenotype	Positivity of ≥1 of the following + clinic of hypo- or hyperthyroidism	16.4% (n=24)	7.4% (n=11)	7.4% (n=11)	8.1% (n=6)	7.0% (n=16)	<b>p&lt;0.01</b>
IgG-anti-TPO	≥35 kU/l	35.0% (n=49)	12.8% (n=18)	12.8% (n=18)	16.7% (n=12)	21.4% (n=48)	<b>p&lt;0.001</b>
Thyroid stimulating hormone-receptor-antibodies	≥2 U/l	7.3% (n=10)	12.9% (n=18)	12.9% (n=18)	4.2% (n=3)	5.5% (n=12)	p=0.15
Autoimmune phenomena	<b>A</b> and/or <b>B</b> and/or <b>C</b>	55.1% (n=81)	36.0% (n=54)	36.0% (n=54)	50.0% (n=37)	34.1% (n=76)	<b>p&lt;0.001</b>

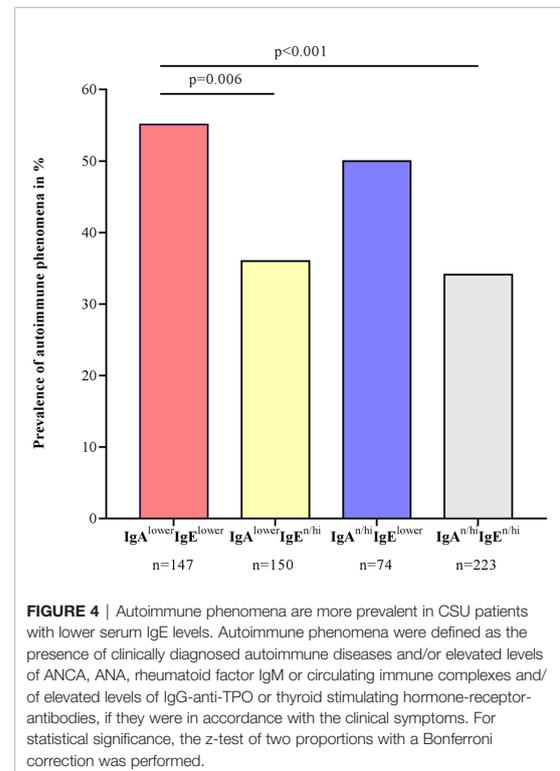
ANA, Anti-nuclear antibodies; ANCA, Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies; IgA, Immunoglobulin A; IgE, Immunoglobulin E; IgG, Immunoglobulin G; IgM, Immunoglobulin M; TPO, Thyroid peroxidase. Significances for differences between the groups were measured by Pearson Chi-square test. Statistically significant correlations are written in boldface.

p<0.001; IgE: r=-0.218, p<0.001) (**Figure 5B**). Positive BAT rates were also found more often in IgA<sup>lower</sup>IgE<sup>lower</sup> patients (32.6%) compared to IgA<sup>lower</sup>IgE<sup>n/hi</sup> patients (14.2%, p=0.003) and IgA<sup>n/hi</sup>IgE<sup>n/hi</sup> patients (7.1%, p<0.001). There was a weak correlation between UAS7 and the percentage of activated cells (r=0.106, p=0.04).

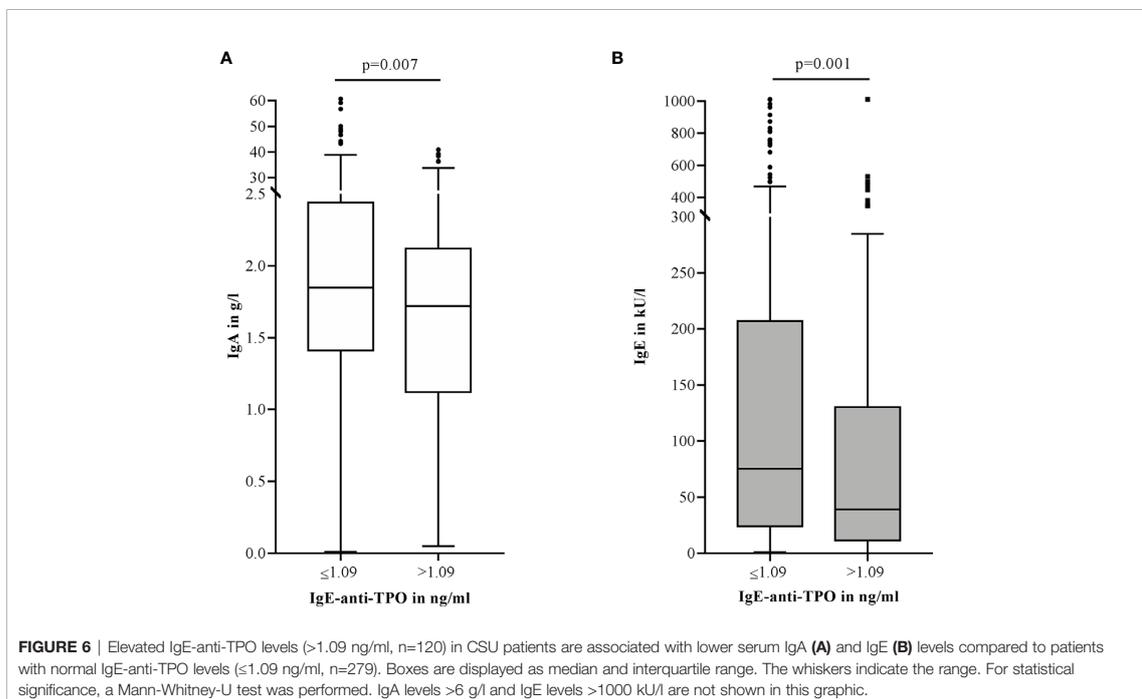
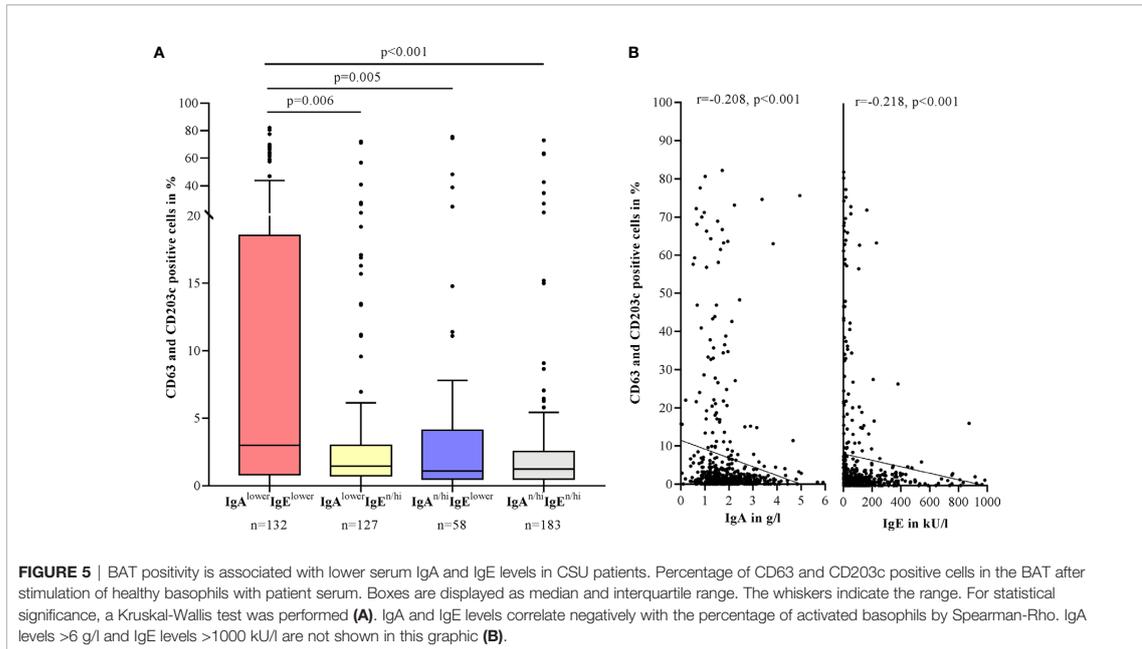
IgE-anti-TPO levels were measured in 399 patients. Although quantitative IgE-anti-TPO levels did not markedly differ between the four groups (**Table 1**), patients with elevated IgE-anti-TPO levels had significantly lower IgA (md=1.72 g/l vs. 1.85 g/l, p=0.007) (**Figure 6A**) and IgE levels (md=39.25 kU/l vs. 75.40 kU/l, p=0.001) (**Figure 6B**) and IgE-anti-TPO showed a weak negative correlation with IgE levels (r=-0.120, p=0.02). Nearly half of the patients with elevated levels of IgG-anti-TPO or thyroid stimulating hormone-receptor antibodies (n=107), also had elevated IgE-anti-TPO levels (n=52, 48.6%).

**DISCUSSION**

This is the first study on IgA levels in a sizeable cohort of CSU patients. Lower IgA and lower IgE levels often appear together and the combination of both is linked to features of autoreactivity (e.g. positive BAT and elevated IgE-anti-TPO levels) and the appearance of autoimmune phenomena.



**FIGURE 4** | Autoimmune phenomena are more prevalent in CSU patients with lower serum IgE levels. Autoimmune phenomena were defined as the presence of clinically diagnosed autoimmune diseases and/or elevated levels of ANCA, ANA, rheumatoid factor IgM or circulating immune complexes and/or elevated levels of IgG-anti-TPO or thyroid stimulating hormone-receptor-antibodies, if they were in accordance with the clinical symptoms. For statistical significance, the z-test of two proportions with a Bonferroni correction was performed.



More than half of the patients with lower IgE levels also showed reduced IgA levels, indicating that these two types of immunoglobulins are linked to each other. This is supported by observations in common variable immunodeficiency, which frequently presents with very low levels of IgA in combination with reduced levels of IgE (24). Interestingly, patients with both lower IgA and lower IgE levels also had reduced IgG levels but increased IgM levels as compared to other groups. An explanation for this finding could be a B-cell defect resulting in an impaired antibody class switch with imbalanced immunoglobulin production in CSU. This has been reported for patients with SIgAD, who showed increased levels of serum IgM as a compensatory mechanism. The increased IgM levels might protect patients against severe infections, as SIgAD patients with normal IgM levels developed severe infections more often (25).

However, it remains to be clarified whether lower IgA and IgE levels were present in patients before the development of their urticaria and were thus involved in the pathogenesis of the disease, or whether the imbalanced immunoglobulins were caused by the disease itself.

A functional role of lower IgA in the pathogenesis of CSU could be attributed to the signaling through Fc $\alpha$ RI. In a murine IgE-mediated model of asthma it was shown that stimulation of Fc $\alpha$ RI with serum IgA inhibits Fc $\epsilon$ RI-induced degranulation of mast cells by IgE based on an antagonism between IgA and IgE via their respective receptors (26). In humans, Fc $\alpha$ RI is expressed on immune cells such as eosinophils, neutrophils and monocytes but not on mast cells. Serum IgA in humans is supposed to negatively regulate immune cell activation and degranulation via Fc $\alpha$ RI (27, 28). One could hypothesize that lower IgA in CSU would lead to increased activation of eosinophils, neutrophils and monocytes resulting in inflammation and autoimmunity.

The quality of life was impaired the greatest in patients with lower IgA levels (IgA<sup>lower</sup>IgE<sup>lower</sup> and IgA<sup>lower</sup>IgE<sup>n/hi</sup>), whereas the CSU disease activity did not differ significantly. We attribute the effect on quality of life to higher rates of concomitant conditions, such as autoimmune phenomena and recurrent angioedema in patients with lower IgA and lower IgE levels. Rates of recurrent angioedema, for instance, were highest in patients with lower IgA and lower IgE levels. Patients with positive ASST results have been found to be more likely to develop angioedema (29). This fits our observation of frequent autoreactivity in patients with lower IgA and IgE levels. Of further interest, Bond et al. reported a link between SIgAD and hereditary angioedema (30).

In our study we found that basophil counts seem to be influenced especially by the combination of lower IgA and lower IgE levels, whereas eosinophil counts are related predominantly to the levels of IgE. Earlier reports found that basopenia is linked to severe, antihistamine-resistant CSU and type IIb autoimmunity (31), which fits our results that patients with lower IgA and IgE levels show more type IIb autoimmunity. It is hypothesized that basopenia is caused by the recruitment of circulating basophils into the wheals (8, 32). Recent findings also

indicate a connection between eosinopenia and type IIb autoimmunity, high disease activity, poor response to treatment and lower IgE levels (33). This is in line with the results of our study. Also, it was shown that some CSU patients can benefit from anti-interleukin-5-targeted treatment with mepolizumab (34) or reslizumab (35) which affect recruitment, activation and survival of eosinophils. Beyond this, concomitant lower IgA levels were found in some patients with eosinophil deficiency (36). The exact role of eosinophils in the pathogenesis of CSU, however, remains unclear (37).

Our data imply that lower IgA and lower IgE levels taken together are more sensitive in diagnosing type IIb autoimmunity in CSU patients than lower IgE levels alone. The connection between lower levels of serum IgE and type IIb autoimmunity that we found has been described previously (38, 39). However, the reason for this remains unknown. One hypothesis is that IgE complexes with anti-IgE-antibodies and is therefore not measurable in these patients (40).

Recently, IgM- and IgA-antibodies against the IgE receptor Fc $\epsilon$ RI were found in addition to IgG-antibodies, which are characteristic for type IIb autoimmunity in CSU (41). Although only IgM-antibodies could be linked to type IIb autoimmunity so far, based on our results it would be of interest to measure IgA-antibodies in a CSU cohort.

The prevalence of SIgAD was shown to be increased in patients with autoimmune diseases and the other way around (42). Abolhassani et al. proposed that this effect is mediated by a reduced mucosal defence in patients with SIgAD. Thus, antigens from the environment could enter the circulation more easily and result in the development of autoreactive antibodies via induction of molecular mimicry and cross-reaction with self-antigens (43). In our study only three patients showed signs of SIgAD (meaning an IgA level <0.07 g/l), but it is reasonable to think that lower normal levels of IgA, although not as low as in SIgAD might have a similar, less strong effect. Another explanation for the association of lower IgA levels with autoreactivity may be the presence of IgG- or IgE-anti-IgA-antibodies (44). Since patients with reduced IgA levels are more likely to develop autoreactive antibodies, this could result in the maturation of autoantibodies that are directed against IgE leading to decreased serum IgE levels.

We also found that high IgE-anti-TPO levels, a common autoantibody in type I autoimmunity in CSU, are connected principally to lower total IgE levels. This stands in contrast to earlier findings suggesting that type I autoimmunity in CSU is connected to high levels of IgE (45, 46). Our results, instead, indicate that lower IgE levels may be linked to features of both, type I autoimmunity, as well as type IIb autoimmunity. Of note, we did not assess other specific IgE autoantibodies besides IgE-anti-TPO. As the levels of specific IgE autoantibodies may be more relevant for the diagnosis of type I autoimmunity as compared to the levels of total IgE, future studies should screen for different IgE autoantibodies in order to distinguish between types of autoimmunity in CSU.

A limitation of our study is the classification into lower vs. normal and elevated IgA levels based on a median IgA level of

1.84 g/l in our cohort. Whether the distribution of IgA values differs in other populations, needs to be studied. Nevertheless, our results emphasize that not only very low IgA levels are of importance in CSU patients, but also that levels on the lower range of the normal value should be evaluated.

Further limitations in the design of our study are the gender and age differences between the four groups (Table 1). The fact that women's IgA and IgE levels are lower has been found previously (47–49). Therefore, it has to be considered whether sex is a confounding factor in our study. Especially when investigating the prevalence of autoimmune phenomena this could be of relevance, since these are known to be increased in women. But when only looking at the male patients (n=145) in our study population, autoimmune phenomena, although not statistically significant, were also associated with lower levels of IgE (47.4% in IgA<sup>lower</sup>IgE<sup>lower</sup> and 45.0% in IgA<sup>n/hi</sup>IgE<sup>lower</sup> patients compared to 31.3% in IgA<sup>lower</sup>IgE<sup>n/hi</sup> and 27.1% in IgA<sup>n/hi</sup>IgE<sup>n/hi</sup> patients).

In addition, IgA<sup>lower</sup>IgE<sup>n/hi</sup> were younger at the time of diagnosis compared to all other groups. IgA levels usually rise with the age (47, 50), which could explain why younger patients had lower IgA levels. However, this effect is not seen when looking at patients who had lower IgE levels on top (IgA<sup>lower</sup>IgE<sup>lower</sup>, md=40 years). This may be attributed to IgE levels, that often drop with higher age, possibly due to the decrease of sensitization (51). Further work on the effect of age on the combined role of IgA and IgE levels is needed.

To conclude, our results show that reduced immunoglobulin levels are common in CSU and associated with autoimmunity. Our findings implicate that especially the combination of lower serum IgA and IgE levels is of relevance in the diagnostic workup of CSU patients, as it is connected to higher rates of type IIb autoimmunity, according to BAT results, as well as more angioedema and lower basophil counts. Lower IgE, independent of IgA values, is connected to lower eosinophil counts, higher levels of IgE-anti-TPO and autoimmune phenomena, whereas lower IgA is connected to lower IgG levels and decreased quality of life. The pathomechanisms underlying the decrease in immunoglobulin levels and their interaction in CSU (e.g. impaired class switch) are still not well understood and further work on the role of both immunoglobulins as diagnostic biomarkers is required. The assessment of serum IgA and IgE levels is cost-effective and easy-to-perform. It may be useful in diagnosing subgroups of CSU (e.g. type IIb autoimmunity). Also, it may help to identify appropriate and optimal therapies for each patient based on a precision medicine approach, such as anti-IgE-, anti-interleukin-5-targeted therapies or immunosuppressives, if CSU first-line-treatment fails.

## DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

## ETHICS STATEMENT

The studies involving human participants were reviewed and approved by Ethikkommission, Ethikausschuss am Campus Charité - Mitte, Charité - Universitätsmedizin Berlin. Written informed consent to participate in this study was provided by the participants' legal guardian/next of kin.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

MS and KK substantially contributed to the conception and design of the study, performed analyses and interpretation of the data and drafted the manuscript. PK contributed to the statistical analyses and interpretation of the data. MS and Y-KX performed the cellular assays. JS and SF substantially contributed to the development and interpretation of laboratory tests. MMA and MME contributed to interpretation of the data. JS, SF, PK, Y-KX, FS, SA, MMA, and MME provided critical input to the manuscript. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

## FUNDING

This study was funded by intramural grants only. MS was supported by a medical doctoral research stipend funded by Charité and Berlin Institute of Health. PK was supported by the "Russian Academic Excellence Project 5-100" and a GA<sup>2</sup>LEN stipend.

## ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank all patients for their participation in our study and the medical staff at the Urticaria Reference and Excellence Center for taking good care of them and gathering the clinical data. Furthermore, we would like to thank Niklas A. Mahnke for his excellent technical assistance and Dennis Ernst for his support in establishing the basophil activation test. We acknowledge support from the German Research Foundation (DFG) and the Open Access Publication Fund of Charité – Universitätsmedizin Berlin.

## SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.657211/full#supplementary-material>

**Supplementary Figure 1** | Gating strategy of the basophil activation test by flow cytometry. Relationships between the plots are indicated by arrows. Representative plots of basophils from a positive and negative control as well as after treatment with an exemplary CSU serum are shown.

## REFERENCES

- Fricke J, Ávila G, Keller T, Weller K, Lau S, Maurer M, et al. Prevalence of Chronic Urticaria in Children and Adults Across the Globe: Systematic Review With Meta-Analysis. *Allergy* (2020) 75(2):423–32. doi: 10.1111/all.14037
- Zuberbier T, Aberer W, Asero R, Abdul Latiff AH, Baker D, Ballmer-Weber B, et al. The EAACI/GA(2)LEN/EDF/WAO Guideline for the Definition, Classification, Diagnosis and Management of Urticaria. *Allergy* (2018) 73(7):1393–414. doi: 10.1111/all.13414
- Church MK, Kolkhir P, Metz M, Maurer M. The Role and Relevance of Mast Cells in Urticaria. *Immunol Rev* (2018) 282(1):232–47. doi: 10.1111/imr.12632
- Kolkhir P, Church MK, Weller K, Metz M, Schmetzer O, Maurer M. Autoimmune Chronic Spontaneous Urticaria: What We Know and What We do Not Know. *J Allergy Clin Immunol* (2017) 139(6):1772–81. doi: 10.1016/j.jaci.2016.08.050
- Altrichter S, Peter HJ, Pisarevskaja D, Metz M, Martus P, Maurer M. Ige Mediated Autoallergy Against Thyroid Peroxidase—a Novel Pathomechanism of Chronic Spontaneous Urticaria? *PLoS One* (2011) 6(4):e14794. doi: 10.1371/journal.pone.0014794
- Schmetzer O, Lakin E, Topal FA, Preusse P, Freier D, Church MK, et al. IL-24 is a Common and Specific Autoantigen of IgE in Patients With Chronic Spontaneous Urticaria. *J Allergy Clin Immunol* (2018) 142(3):876–82. doi: 10.1016/j.jaci.2017.10.035
- Hatada Y, Kashiwakura J, Hayama K, Fujisawa D, Sasaki-Sakamoto T, Terui T, et al. Significantly High Levels of anti-dsDNA Immunoglobulin E in Sera and the Ability of dsDNA to Induce the Degranulation of Basophils From Chronic Urticaria Patients. *Int Arch Allergy Immunol* (2013) 161 Suppl 2:154–8. doi: 10.1159/000350388
- Grattan CE, Francis DM, Hide M, Greaves MW. Detection of Circulating Histamine Releasing Autoantibodies With Functional Properties of anti-IgE in Chronic Urticaria. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol* (1991) 21(6):695–704. doi: 10.1111/j.1365-2222.1991.tb03198.x
- Fiebiger E, Maurer D, Holub H, Reiningger B, Hartmann G, Woisetschlager M, et al. Serum IgG Autoantibodies Directed Against the Alpha Chain of Fc Epsilon RI: A Selective Marker and Pathogenetic Factor for a Distinct Subset of Chronic Urticaria Patients? *J Clin Invest* (1995) 96(6):2606–12. doi: 10.1172/JCI118325
- Konstantinou GN, Asero R, Ferrer M, Knol EF, Maurer M, Raap U, et al. EAACI Taskforce Position Paper: Evidence for Autoimmune Urticaria and Proposal for Defining Diagnostic Criteria. *Allergy* (2013) 68(1):27–36. doi: 10.1111/all.12056
- Schoepke N, Asero R, Ellrich A, Ferrer M, Gimenez-Arnau A, EHG C, et al. Biomarkers and Clinical Characteristics of Autoimmune Chronic Spontaneous Urticaria: Results of the PURIST Study. *Allergy* (2019) 74(12):2427–36. doi: 10.1111/all.13949
- Deza G, Bertolin-Colilla M, Pujol RM, Curto-Barredo L, Soto D, Garcia M, et al. Basophil FcεpsilonRI Expression in Chronic Spontaneous Urticaria: A Potential Immunological Predictor of Response to Omalizumab Therapy. *Acta Dermato-Venerol* (2017) 97(6):698–704. doi: 10.2340/00015555-2654
- Gericke J, Metz M, Ohanyan T, Weller K, Altrichter S, Skov PS, et al. Serum Autoreactivity Predicts Time to Response to Omalizumab Therapy in Chronic Spontaneous Urticaria. *J Allergy Clin Immunol* (2017) 139(3):1059–61. doi: 10.1016/j.jaci.2016.07.047
- Weller K, Ohanyan T, Hawro T, Ellrich A, Sussman G, Koplowitz J, et al. Total IgE Levels are Linked to the Response of Chronic Spontaneous Urticaria Patients to Omalizumab. *Allergy* (2018) 73(12):2406–8. doi: 10.1111/all.13586
- Asero R. Chronic Spontaneous Urticaria Treated With Omalizumab: What Differentiates Early From Late Responders? *Eur Ann Allergy Clin Immunol* (2021) 53(1):47–8. doi: 10.23822/EurAnnACI.1764-1489.147
- Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. Diagnostic Criteria for Primary Immunodeficiencies. Representing Pagid (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). *Clin Immunol (Orlando Fla)* (1999) 93(3):190–7. doi: 10.1006/clim.1999.4799
- Ludvigsson JF, Neovius M, Hammarstrom L. Association Between IgA Deficiency & Other Autoimmune Conditions: A Population-Based Matched Cohort Study. *J Clin Immunol* (2014) 34(4):444–51. doi: 10.1007/s10875-014-0009-4
- Kolkhir P, Borzova E, Grattan C, Asero R, Pogorelov D, Maurer M. Autoimmune Comorbidity in Chronic Spontaneous Urticaria: A Systematic Review. *Autoimmun Rev* (2017) 16(12):1196–208. doi: 10.1016/j.autrev.2017.10.003
- Magen E, Masalha A, Waitman DA, Kahan N, Viner I, Klassov L, et al. Prevalence of Dermatologic Diseases Among Patients With Selective Immunoglobulin A Deficiency. *Allergy Asthma Proc* (2017) 38(1):70–7. doi: 10.2500/aap.2017.38.4018
- Frossi B, De Carli S, Bossi F, Pucillo C, De Carli M. Co-Occurrence of Chronic Spontaneous Urticaria With Immunoglobulin A Deficiency and Autoimmune Diseases. *Int Arch Allergy Immunol* (2016) 169(2):130–4. doi: 10.1159/000445058
- Maurer M, Metz M, Bindslev-Jensen C, Bousquet J, Canonica GW, Church MK, et al. Definition, Aims, and Implementation of GA(2) Len Urticaria Centers of Reference and Excellence. *Allergy* (2016) 71(8):1210–8. doi: 10.1111/all.12901
- Montjoye L, Darrigade AS, Giménez-Arnau A, Herman A, Dumoutier L, Baeck M. Correlations Between Disease Activity, Autoimmunity and Biological Parameters in Patients With Chronic Spontaneous Urticaria. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* (2021) 53(2):55–66. doi: 10.23822/EurAnnACI.1764-1489.132
- Lennox RD, Leahy MJ. Validation of the Dermatology Life Quality Index as an Outcome Measure for Urticaria-Related Quality of Life. *Ann Allergy Asthma Immunol* (2004) 93(2):142–6. doi: 10.1016/S1081-1206(10)61466-4
- Lawrence MG, Palacios-Kibler TV, Workman LJ, Schuyler AJ, Steinke JW, Payne SC, et al. Low Serum Ige Is a Sensitive and Specific Marker for Common Variable Immunodeficiency (Cvid). *J Clin Immunol* (2018) 38(3):225–33. doi: 10.1007/s10875-018-0476-0
- Aghamohammadi A, Cheraghi T, Gharagozlou M, Movahedi M, Rezaei N, Yeganeh M, et al. Iga Deficiency: Correlation Between Clinical and Immunological Phenotypes. *J Clin Immunol* (2009) 29(1):130–6. doi: 10.1007/s10875-008-9229-9
- Pasquier B, Launay P, Kanamaru Y, Moura IC, Pfrsch S, Ruffié C, et al. Identification of FcαRI as an Inhibitory Receptor That Controls Inflammation: Dual Role of FcγRIIIa. *Immunity* (2005) 22(1):31–42. doi: 10.1016/S1074-7613(04)00377-2
- Ben Mkaddem S, Rossato E, Heming N, Monteiro RC. Anti-Inflammatory Role of the IgA Fc Receptor (CD89): From Autoimmunity to Therapeutic Perspectives. *Autoimmun Rev* (2013) 12(6):666–9. doi: 10.1016/j.autrev.2012.10.011
- van Gool MMJ, van Egmond M. Iga and FcαRI: Versatile Players in Homeostasis, Infection, and Autoimmunity. *Immunotarg Ther* (2020) 9:351–72. doi: 10.2147/ITT.S266242
- Nettis E, Dambra P, D'Oronzio L, Cavallo E, Loria MP, Fanelli M, et al. Reactivity to Autologous Serum Skin Test and Clinical Features in Chronic Idiopathic Urticaria. *Clin Exp Dermatol* (2002) 27(1):29–31. doi: 10.1046/j.0307-6938.2001.00962.x
- Bond WRJr., Herrod HG, Duberstein LE. Hereditary Angioedema: Association With IgA Deficiency and Otolaryngologic Disorders. *Laryngoscope* (1981) 91(3):416–21. doi: 10.1288/00005537-198103000-00012
- Grattan CE, Walpole D, Francis DM, Niimi N, Dootson G, Edler S, et al. Flow Cytometric Analysis of Basophil Numbers in Chronic Urticaria: Basopenia is Related to Serum Histamine Releasing Activity. *Clin Exp Allergy* (1997) 27(12):1417–24. doi: 10.1111/j.1365-2222.1997.tb02986.x
- Grattan CE, Dawn G, Gibbs S, Francis DM. Blood Basophil Numbers in Chronic Ordinary Urticaria and Healthy Controls: Diurnal Variation, Influence of Loratadine and Prednisolone and Relationship to Disease Activity. *Clin Exp Allergy* (2003) 33(3):337–41. doi: 10.1046/j.1365-2222.2003.01589.x
- Kolkhir P, Church MK, Altrichter S, Skov PS, Hawro T, Frischbutter S, et al. Eosinopenia, in Chronic Spontaneous Urticaria, is Associated With High Disease Activity, Autoimmunity, and Poor Response to Treatment. *J Allergy Clin Immunol Pract* (2020) 8(1):318–25. doi: 10.1016/j.jaip.2019.08.025
- Magerl M, Terhorst D, Metz M, Altrichter S, Zuberbier T, Maurer M, et al. Benefit of Mepolizumab Treatment in a Patient With Chronic Spontaneous Urticaria. *J Dtsch Dermatol Ges* (2018) 16(4):477–8. doi: 10.1111/ddg.13481
- Maurer M, Altrichter S, Metz M, Zuberbier T, Church MK, Bergmann KC. Benefit From Reslizumab Treatment in a Patient With Chronic Spontaneous

- Urticaria and Cold Urticaria. *J Eur Acad Dermatol Venereol* (2018) 32(3): e112–3. doi: 10.1111/jdv.14594
36. Gleich GJ, Klion AD, Lee JJ, Weller PF. The Consequences of Not Having Eosinophils. *Allergy* (2013) 68(7):829–35. doi: 10.1111/all.12169
37. Altrichter S, Frischbutter S, Fok JS, Kolkhir P, Jiao Q, Skov PS, et al. The Role of Eosinophils in Chronic Spontaneous Urticaria. *J Allergy Clin Immunol* (2020) 145(6):1510–6. doi: 10.1016/j.jaci.2020.03.005
38. De Swert A, Van Den Keybus C, Kasran A, Cadot P, Neyens K, Coorevits L, et al. Detection of Basophil-Activating IgG Autoantibodies in Chronic Idiopathic Urticaria by Induction of CD 63. *J Allergy Clin Immunol* (2005) 116(3):662–7. doi: 10.1016/j.jaci.2005.04.042
39. Cho CB, Stutes SA, Altrich ML, Ardoin SP, Phillips G, Ogbogu PU. Autoantibodies in Chronic Idiopathic Urticaria and Nonurticarial Systemic Autoimmune Disorders. *Ann Allergy Asthma Immunol* (2013) 110(1):29–33. doi: 10.1016/j.anaai.2012.10.020
40. Abd El-Azim M, Abd El-Azim S. Chronic Autoimmune Urticaria: Frequency and Association With Immunological Markers. *J Investigational Allergol Clin Immunol* (2011) 21(7):546–50.
41. Altrichter S, Zampeli V, Ellrich A, Zhang K, Church MK, Maurer M. Igm and IgA in Addition to IgG Autoantibodies Against Fcεr1α are Frequent and Associated With Disease Markers of Chronic Spontaneous Urticaria. *Allergy* (2020) 75(12):3208–15. doi: 10.1111/all.14412
42. Singh K, Chang C, Gershwin ME. Iga Deficiency and Autoimmunity. *Autoimmun Rev* (2014) 13(2):163–77. doi: 10.1016/j.autrev.2013.10.005
43. Abolhassani H, Gharib B, Shahinpour S, Masoom SN, Havaei A, Mirminachi B, et al. Autoimmunity in Patients With Selective IgA Deficiency. *J Investigational Allergol Clin Immunol* (2015) 25(2):112–9.
44. Freeman GL. Syndromes Associated With Eosinopenia. *Allergy* (1998) 53(3):331–3. doi: 10.1111/j.1398-9995.1998.tb03901.x
45. Shin YS, Suh DH, Yang EM, Ye YM, Park HS. Serum Specific Ige to Thyroid Peroxidase Activates Basophils in Aspirin Intolerant Urticaria. *J Korean Med Sci* (2015) 30(6):705–9. doi: 10.3346/jkms.2015.30.6.705
46. Sánchez J, Sánchez A, Cardona R. Causal Relationship Between Anti-TPO Ige and Chronic Urticaria by In Vitro and In Vivo Tests. *Allergy Asthma Immunol Res* (2019) 11(1):29–42. doi: 10.4168/aa.2019.11.1.29
47. Gonzalez-Quintela A, Alende R, Gude F, Campos J, Rey J, Mejjide LM, et al. Serum Levels of Immunoglobulins (Igg, IgA, IgM) in a General Adult Population and Their Relationship With Alcohol Consumption, Smoking and Common Metabolic Abnormalities. *Clin Exp Immunol* (2008) 151(1):42–50. doi: 10.1111/j.1365-2249.2007.03545.x
48. Jarvis D, Luczynska C, Chinn S, Burney P. The Association of Age, Gender and Smoking With Total IgE and Specific Ige. *Clin Exp Allergy* (1995) 25(11):1083–91. doi: 10.1111/j.1365-2222.1995.tb03255.x
49. Omenaas E, Bakke P, Elsayed S, Hanoa R, Gulsvik A. Total and Specific Serum IgE Levels in Adults: Relationship to Sex, Age and Environmental Factors. *Clin Exp Allergy* (1994) 24(6):530–9. doi: 10.1111/j.1365-2222.1994.tb00950.x
50. Weber-Mzell D, Kotanko P, Hauer AC, Goriup U, Haas J, Lanner N, et al. Gender, Age and Seasonal Effects on IgA Deficiency: A Study of 7293 Caucasians. *Eur J Clin Invest* (2004) 34(3):224–8. doi: 10.1111/j.1365-2362.2004.01311.x
51. Amaral AFS, Newson RB, Abramson MJ, Antó JM, Bono R, Corsico AG, et al. Changes in IgE Sensitization and Total IgE Levels Over 20 Years of Follow-Up. *J Allergy Clin Immunol* (2016) 137(6):1788–95. doi: 10.1016/j.jaci.2015.09.037

**Conflict of Interest:** PK received personal fees from Novartis and Roche, outside the submitted work. FS received grants and/or personal fees from Allakos, Blueprint, Hyphens, Genentech, Novartis, PEDIAPHARM, and Uriach, outside the submitted work. SA received grants and/or personal fees from Allakos, AstraZeneca, CSL Behring, Moxie and Sanofi, outside the submitted work. MMA received grants and/or personal fees from Allakos, Amgen, Aralez, Argenx, AstraZeneca, Celldex, Centogene, CSL Behring, FAES, Genentech, GInnovation, Innate Pharma, Kyowa Kirin, Leo Pharma, Lilly, Menarini, Moxie, Novartis, Roche, Sanofi/Regeneron, Third HarmonicBio, UCB, and Uriach, outside the submitted work. MME received personal fees from Amgen, Aralez, Argenx, Bayer, Moxie, Novartis, Roche, Sanofi and Uriach, outside the submitted work. KK received grants and/or personal fees from Bayer, Berlin Chemie, CSL Behring, Moxie, Novartis, Roche and Shire/Takeda, outside the submitted work.

The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2021 Sauer, Scheffel, Frischbutter, Kolkhir, Xiang, Siebenhaar, Altrichter, Maurer, Metz and Krause. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

## **Lebenslauf**

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

---

## Komplette Publikationsliste

### Originalarbeiten

1. **Sauer M**, Scheffel J, Frischbutter S, Kolkhir P, Xiang YK, Siebenhaar F, Altrichter S, Maurer M, Metz M, Krause K. *Lower IgA Levels in Chronic Spontaneous Urticaria Are Associated With Lower IgE Levels and Autoimmunity*. *Front Immunol* 2021;12:657211.  
Impact-Faktor 2019: 5,085
2. Kolkhir P, Kovalkova E, Chernov A, Danilycheva I, Krause K, **Sauer M**, Shulzhenko A, Fomina D, Maurer M. *Autoimmune Chronic Spontaneous Urticaria Detection with IgG Anti-TPO and Total IgE*. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021:S2213-2198(21)00884-9.  
Impact-Faktor 2019: 7,574

### Poster

1. **Sauer M**, Siebenhaar F, Altrichter S, Maurer M, Metz M, Krause K. *Chronic spontaneous urticaria and low immunoglobulin levels: correlation with disease activity and serologic markers*. 4<sup>th</sup> GA<sup>2</sup>LEN Global Urticaria Forum 2018, Berlin, Germany.
2. **Sauer M**, Scheffel J, Frischbutter S, Xiang YK, Siebenhaar F, Altrichter S, Maurer M, Metz M, Krause K. *Low IgA and IgE levels in patients with chronic spontaneous urticaria are associated with autoimmune phenomena*. GA2LEN UCARE Urticaria Conference 2019, Istanbul, Turkey.
3. **Sauer M**, Scheffel J, Frischbutter S, Kolkhir P, Xiang YK, Siebenhaar F, Altrichter S, Maurer M, Metz M, Krause K. *Low levels of IgA in chronic spontaneous urticaria are associated with low levels of IgE and autoimmunity*. 47. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung 2021, Berlin, Germany.

## Danksagung

Abschließend möchte ich mich herzlich bei allen bedanken, die mir bei der Erstellung dieser Arbeit zur Seite standen.

Mein Dank gilt insbesondere meiner Doktormutter Prof. Dr. med. Karoline Krause, die mir dieses spannende Forschungsthema überlassen hat und mich an das wissenschaftliche Arbeiten herangeführt hat. Ohne ihr unermüdliches Engagement und ihre stetige Unterstützung und Bestärkung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinem Zweitbetreuer Prof. Dr. med. Martin Metz, dessen Erfahrung aus seiner langjährigen wissenschaftlichen Karriere ebenfalls wesentlich zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen hat.

Weiterhin möchte ich mich bei Prof. Dr. med. Marcus Maurer bedanken, der mich wohlwollend in seine Arbeitsgruppe aufnahm und mir so alle für die Durchführung dieser Arbeit notwendigen Mittel und Hilfen zur Verfügung stellte.

Mein herzlicher Dank gilt außerdem auch allen Mitarbeitern der AG Maurer und insbesondere dem Labor-Team, das mich bei der Arbeit im Labor unentwegt unterstützt hat. Besonders Dr. Jörg Scheffel und Niklas Mahnke möchte ich hier nennen, die mir mit viel Geduld bei dem Erlernen der für diese Arbeit notwendigen Techniken zur Seite standen.

Außerdem möchte ich mich für die finanzielle Unterstützung des Publikationsfonds aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) und der Charité bedanken, die mir die Publikation eines Open-Access-Artikels ermöglicht hat. Für die Förderung im Rahmen eines Promotionsstipendiums gilt mein Dank auch dem Berliner Institut für Gesundheitsforschung (Berlin Institute of Health).

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern für die uneingeschränkte und liebevolle Unterstützung während meines gesamten Medizinstudiums und der Forschungszeit im Zuge dieser Arbeit bedanken. Weiterhin danke ich meinen Geschwistern und meinen Freunden, die mir ebenfalls immer beigestanden haben.