

4. Ergebnisse

4. 1. CCR3 mRNA-Expression und Zytokin- und Chemokin- mRNA-Expressionsprofil bei eosinophiler Polyposis nasi

Untersuchung und Vergleich der mRNA- Expression des Chemokinrezeptors CCR3, der Chemokine Eotaxin und RANTES und der Zytokine IL-10, IFN- γ , IL4 und IL-5 in eosinophilen Nasenpolypen und der Concha inferior einer Kontrollgruppe.

In die Studie wurden 30 Patienten mit vergleichbarer Ausprägung der Erkrankung und vergleichbarem Grad der Eosinophilie und 10 Kontrollpersonen eingeschlossen. Entsprechend den Ergebnissen der Evaluierung ergab sich folgende Verteilung auf die einzelnen Gruppen:

Nicht allergische Patienten	n= 10 (33%)
Allergische Patienten (gesamt)	n=14 (47%)
davon ohne zusätzliche ASS-Intoleranz	n= 9 (30%)
davon mit zusätzlicher ASS-Intoleranz	n=5 (17%)
Patienten mit ASS-Intoleranz (gesamt)	n=11 (31%)
davon ohne zusätzliche Allergie	n=6 (20%)
davon mit zusätzlicher Allergie	n=5 (17%)

4. 1. 1. Quantitative Analyse der CCR3-, Eotaxin-, RANTES-, IL-10-, IFN- γ -, IL4- und IL-5 mRNA- Expression über die vergleichende C_T Methode

Die Untersuchung der mRNA-Expression der einzelnen Parameter in eosinophilen Nasenpolypen von Patienten und in der Concha inferior einer Kontrollgruppe ergab, dass bis auf IL-5, alle untersuchten Parameter in beiden Gruppen exprimiert wurden. Eine IL-5 mRNA-Expression konnte nur im Gewebe der Patientengruppe, nicht aber in der Kontrollgruppe nachgewiesen werden.

Im Vergleich der mRNA- Expression der Patienten- und der Kontrollgruppe zeigte sich, dass die mRNA-Expression für CCR3, Eotaxin, IL-10 und IL-4 in der Patientengruppe gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht war. Dahingegen konnte kein signifikanter Unterschied in der RANTES- und IFN- γ mRNA- Expression zwischen den beiden Gruppen verifiziert werden. Für IL-5 war wegen des fehlenden Nachweises in der Concha inferior der Kontrollgruppe kein Vergleich möglich. Die einzelnen Ergebnisse sind in Tabelle 4.1. zusammengefasst.

	Gewebe	N	ΔC_T [Gewebe-HPRT]	$\Delta\Delta C_T$ [ΔC_T - ΔC_T Muschel]	$2^{-\Delta\Delta C_T}$ [mRNAPolyp/ Muschel]	Signifikanz
CCR3	Muschel	10	11.7 ± 0,2	0.0 ± 0,2	1.0	P < 0,001**
	Eos. Polyp	30	7.8 ± 0.1	-3.9 ± 0.1	15.3	
Eotaxin	Muschel	10	1.8 ± 0.07	0.0 ± 0.07	1.0	0,001*
	Eos. Polyp	30	0.4 ± 0.04	-1.4 ± 0.04	2.7	
RANTES	Muschel	10	0.4 ± 0.16	0.0 ± 0.16	1	0,446
	Eos. Polyp	30	0.05 ± 0.04	-0,38 ± .04	1.3	
IL-10	Muschel	8	8.4 ± 0.18	0.0 ± 0.18	1.0	0,003*
	Eos. Polyp	22	5.9 ± 0.08	-2.5 ± 0.08	5.7	
IFNγ	Muschel	10	9.2 ± 0.24	0.0 ± 0.24	1.0	0,902
	Eos. Polyp	17	10.0 ± 0.06	0.8 ± 0.06	0.5	
IL-4	Muschel	3	9.2 ± 0.4	0.0 ± 0.4	1.0	0,04*
	Eos. Polyp	17	6.6 ± 0.12	-2.6 ± 0.12	6.3	
IL-5	Muschel	0	-	-	entfällt	-
	Eos. Polyp	17	8.5 ± 0.15	-	entfällt	

Tabelle 4.1. Darstellung der Ergebnisse der relativen Quantifizierung über die vergleichende C_T Methode. Die mRNA Expression wird für jeden untersuchten Parameter als n-facher Wert der Expression in der Patientengruppe zur Expression in der Kontrollgruppe angegeben. Die ΔC_T und $\Delta\Delta C_T$ Werte sind als MW \pm Standardabweichung dargestellt; * P < 0,05, ** P < 0,001.

4. 1. 2. Darstellung und Vergleich der mRNA- Expression aller untersuchten Parameter in Abhängigkeit von der Ätiologie

Folgende Gruppen wurden für jeden Parameter in Boxplots dargestellt und hinsichtlich signifikanter Unterschiede (Mann-Whitney-Test) verglichen :

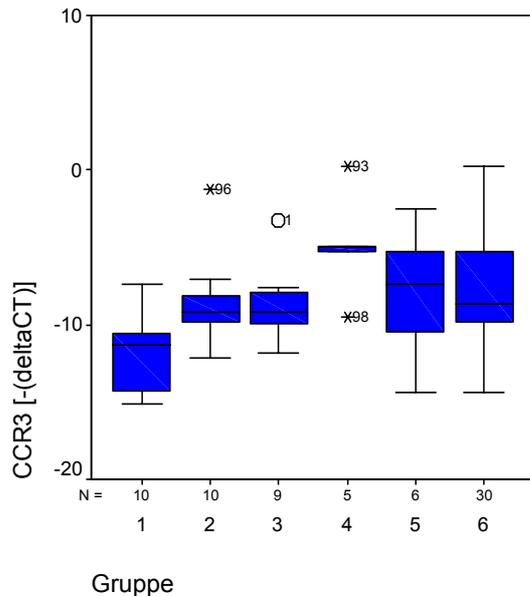
- 1 = Kontrollgruppe
- 2 = nicht allergische Patienten (n. allerg. P.)
- 3 = allergische Patienten (allerg. P.)
- 4 = Patienten mit Allergie und ASS-Intoleranz (All.+ASS-Intol.)
- 5 = Patienten mit ASS-Intoleranz (ASS-Intol.)
- 6 = alle Patienten

Vergleich der CCR3 mRNA- Expression in allen untersuchten Gruppen

Die CCR3 mRNA- Expression war in der Patienten- gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Innerhalb der Patientengruppe war die Expression bei den Patienten mit Allergie und ASS- Intoleranz gegenüber allen anderen Patienten signifikant erhöht (Abb. 4.1., Tab. 4.2.).

CCR3

Abb. 4.1. Darstellung der CCR3 [-(deltaCT)] Werte in den Gruppen1-6 in Boxplots.



Gruppe A	Gruppe B	Expression Gruppe A / Gruppe B	Signifikanz
alle Patienten	Kontrollgruppe	↑	P < 001**
n. allerg. P.	allerg. P.	-	1,0
n. allerg. P.	All.+ASS-Intol.	↓	0,055
n. allerg. P.	ASS-Intol.	↓	0,635
allerg. P.	All.+ASS- Intol.	↓	0,06
allerg. P.	ASS- Intol.	↓	0,607
All.+ASS-Intol.	ASS- Intol.	↑	0,247
n. allerg. P.	alle anderen Patienten	↓	0,37
allerg. P.	alle anderen Patienten	↓	0,39
All.+ASS- Intol.	alle anderen Patienten	↑	0,03*
ASS- Intol.	alle anderen Patienten	↑	0,9

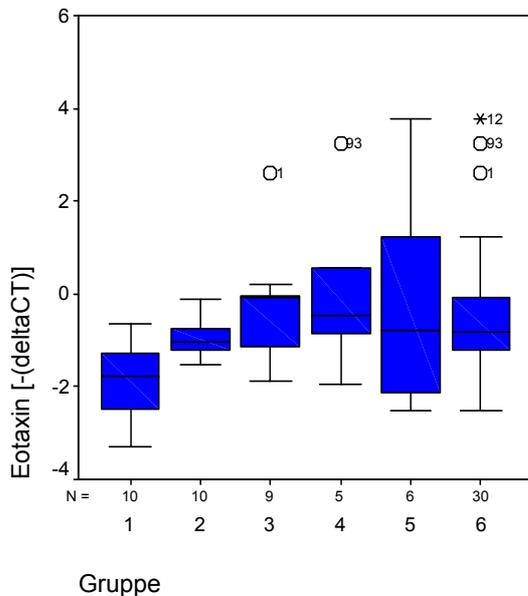
Tabelle 4.2. Vergleich der CCR3 [-(deltaCT)] Werte der einzelnen Gruppen. Dabei wird angegeben, in welcher der verglichenen Gruppen die Expression höher ausfällt und ob die Unterschiede signifikant sind; * p< 0,05, ** p< 0,001.

Vergleich der Eotaxin mRNA- Expression in allen untersuchten Gruppen

In der Patientengruppe war die Eotaxin mRNA- Expression signifikant gegenüber der Kontrollgruppe erhöht. Innerhalb der Patientengruppe waren keine signifikanten Unterschiede nachweisbar (Abb. 4.2., Tab. 4.3.).

Eotaxin

Abb. 4.2. Darstellung der Eotaxin $[-(\text{deltaCT})]$ Werte in den Gruppen 1-6 in Boxplots.



Gruppe A	Gruppe B	Expression Gruppe A / Gruppe B	Signifikanz
alle Patienten	Kontrollgruppe	↑	0,001*
n. allerg. P.	allerg. P.	↓	0,133
n. allerg. P.	All.+ASS-Intol.	↓	0,206
n. allerg. P.	ASS- Intol.	↓	0,635
allerg. P.	All.+ASS-Intol.	↓	1,0
allerg. P.	ASS- Intol.	↑	0,689
All.+ASS- Intol.	ASS- Intol.	↑	0,662
n. allerg. P.	alle anderen Patienten	↓	0,131
allerg. P.	alle anderen Patienten	↑	0,32
All.+ASS- Intol.	alle anderen Patienten	↑	0,44
ASS- Intol.	alle anderen Patienten	↓	0,9

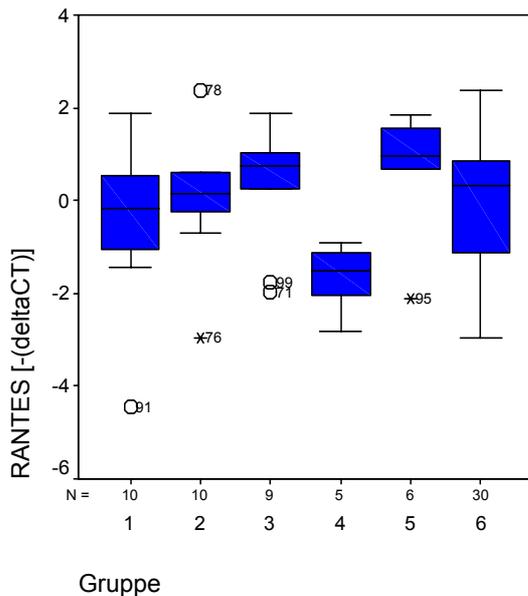
Tabelle 4.3. Vergleich der Eotaxin $[-(\text{deltaCT})]$ Werte der einzelnen Gruppen. Dabei wird angegeben, in welcher der verglichenen Gruppen die Expression höher ausfällt und ob die Unterschiede signifikant sind; * $P < 0,05$, ** $P < 0,001$.

Vergleich der RANTES mRNA- Expression in allen untersuchten Gruppen

Zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe ergab sich kein signifikanter Unterschied. Dagegen war die Expression der Patienten mit Allergie und ASS- Intoleranz gegenüber den nicht allergischen, den allergischen und auch gegenüber allen anderen Patienten signifikant verringert.

RANTES

Abb. 4.3. Darstellung der RANTES $[-(\text{deltaCT})]$ Werte in den Gruppen 1-6 in Boxplots.



Gruppe A	Gruppe B	Expression Gruppe A / Gruppe B	Signifikanz
alle Patienten	Kontrollgruppe	↑	0,446
n. allerg. P.	allerg. P.	↓	0,268
n. allerg. P.	All.+ASS-Intol.	↑	0,012*
n. allerg. P.	ASS. Intol.	↓	0,088
allerg. P.	All.+ASS-Intol.	↑	0,029*
allerg. P.	ASS- Intol.	↓	0,529
All.+ASS-Intol.	ASS- Intol.	↓	0,052
n. allerg. P.	alle anderen Patienten	↓	0,6
allerg. P.	alle anderen Patienten	↑	0,27
All.+ASS-Intol.	alle anderen Patienten	↓	0,006*
ASS- Intol.	alle anderen Patienten	↓	0,09

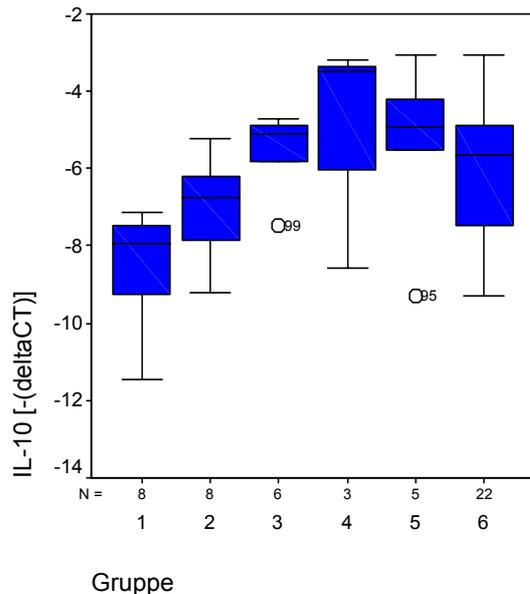
Tabelle 4.4. Vergleich der RANTES $[-(\text{deltaCT})]$ Werte der einzelnen Gruppen. Dabei wird angegeben, in welcher der verglichenen Gruppen die Expression höher ausfällt und ob die Unterschiede signifikant sind; * $P < 0,05$, ** $P < 0,001$.

Vergleich der IL-10 mRNA- Expression in allen untersuchten Gruppen

Die IL-10 mRNA- Expression war in der Patientengruppe gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Dahingegen war die Expression in der Gruppe der nicht allergischen Patienten gegenüber den Allergikern und gegenüber der Gruppe aller anderen Patienten signifikant verringert.

IL-10

Abb. 4.4. Darstellung der IL-10 [-(deltaCT)] Werte in den Gruppen1-6 in Boxplots.



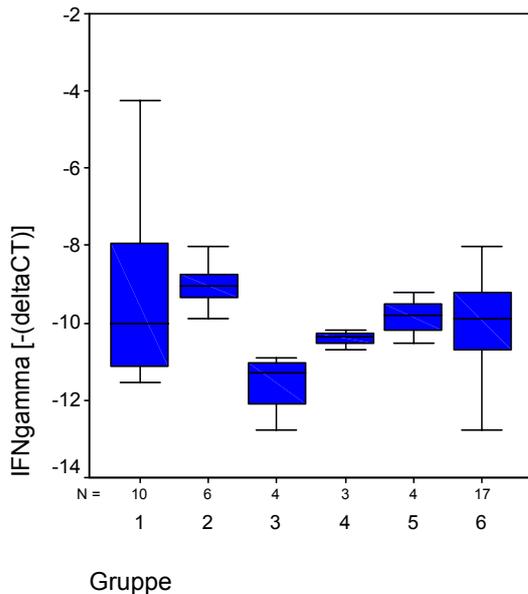
Gruppe A	Gruppe B	Expression Gruppe A / Gruppe B	Signifikanz
alle Patienten	Kontrollgruppe	↑	0,003*
n. allerg. P.	allerg. P.	↓	0,022*
n. allerg. P.	All.+ASS-Intol.	↓	0,376
n. allerg. P.	ASS- Intol.	↓	0,127
allerg. P.	All.+ASS-Intol.	↓	0,548
allerg. P.	ASS- Intol.	↓	0,697
All.+ASS-Intol.	ASS- Intol.	↑	0,786
n. allerg. P.	alle anderen Patienten	↓	0,02*
allerg. P.	alle anderen Patienten	↑	0,39
All.+ASS-Intol.	alle anderen Patienten	↑	0,39
ASS- Intol.	alle anderen Patienten	↑	0,36

Tabelle 4.5. Vergleich der IL-10 [-(deltaCT)] Werte der einzelnen Gruppen. Dabei wird angegeben, in welcher der verglichenen Gruppen die Expression höher ausfällt und ob die Unterschiede signifikant sind; * P< 0,05, ** P<0,001.

Vergleich der IFN- γ mRNA- Expression in allen untersuchten Gruppen

Es ergab sich eine signifikant erhöhte Expression in der nicht allergischen Patientengruppe gegenüber den Allergikern, den Allergikern mit ASS-Intoleranz und allen anderen Patienten. Für die Gruppe der Allergiker konnte eine signifikant verringerte Expression gegenüber den ASS- Intoleranten und gegenüber allen anderen Patienten festgestellt werden (Abb. 4.5., Tab. 4.6.)

IFN- γ Abb. 4.5. Darstellung der IFN- γ [-(deltaCT)] Werte in den Gruppen 1-6 in Boxplots.

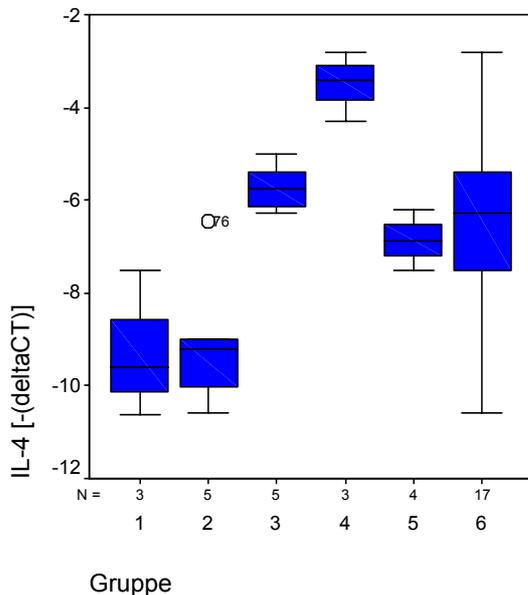


Gruppe A	Gruppe B	Expression Gruppe A / Gruppe B	Signifikanz
alle Patienten	Kontrollgruppe	↓	0,902
n. allerg. P.	allerg. P.	↑	0,01*
n. allerg. P.	All.+Ass-Intol.	↑	0,024*
n. allerg. P.	ASS. Intol.	↑	0,114
allerg. P.	All.+Ass-Intol.	↓	0,057
allerg. P.	ASS. Intol.	↓	0,029*
All.+Ass-Intol.	ASS. Intol.	↓	0,229
n. allerg. P.	alle anderen Patienten	↑	0,002*
allerg. P.	alle anderen Patienten	↓	0,001*
All.+Ass-Intol.	alle anderen Patienten	↓	0,43
ASS. Intol.	alle anderen Patienten	↑	0,7

Tabelle 4.6. Vergleich der IFN γ [-(deltaCT)] Werte der einzelnen Gruppen. Dabei wird angegeben, in welcher der verglichenen Gruppen die Expression höher ausfällt und ob die Unterschiede signifikant sind; * P< 0,05, ** P<0,001.

Vergleich der IL-4 mRNA- Expression in allen untersuchten Gruppen

IL-4 Abb. 4.6. Darstellung der IL-4 $[-(\text{deltaCT})]$ Werte in den Gruppen 1-6 in Boxplots.



Gruppe A	Gruppe B	Expression Gruppe A / Gruppe B	Signifikanz
alle Patienten	Kontrollgruppe	↑	0,04*
n. allerg. P.	allerg. P.	↓	0,008*
n. allerg. P.	All.+ASS-Intol.	↓	0,036*
n. allerg. P.	ASS- Intol.	↓	0,111
allerg. P.	All.+ASS-Intol.	↓	0,036*
allerg. P.	ASS- Intol.	↑	0,032*
All.+ASS-Intol.	ASS- Intol.	↑	0,057
n. allerg. P.	alle anderen Patienten	↓	0,002*
allerg. P.	alle anderen Patienten	↑	0,16
All.+ASS-Intol.	alle anderen Patienten	↑	0,003*
ASS- Intol.	alle anderen Patienten	↓	0,41

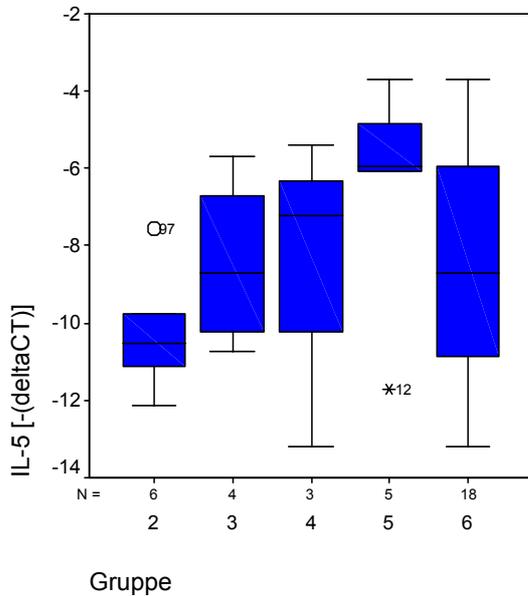
Tabelle 4.7. Vergleich der IL-4 $[-(\text{deltaCT})]$ Werte der einzelnen Gruppen. Dabei wird angegeben, in welcher der verglichenen Gruppen die Expression höher ausfällt und ob die Unterschiede signifikant sind; * $P < 0,05$, ** $P < 0,001$.

Für die Gruppe der Allergiker ließ sich eine signifikant erhöhte IL-4 mRNA- Expression gegenüber den nicht Allergikern und der Gruppe der ASS-Intoleranten verifizieren. Die Expression in der Gruppe der Patienten mit Allergie und ASS- Intoleranz hingegen zeigte eine signifikante erhöhte Expression gegenüber den Allergikern, den nicht-Allergikern und der Gruppe aller anderen Patienten. Im Gegensatz dazu war in der Gruppe der nicht Allergiker die IL-4 mRNA-

Expression im Vergleich mit allen anderen Patienten signifikant herunterreguliert (Abb. 4.6., Tab. 4.7.)

Vergleich der IL-5 mRNA- Expression in allen untersuchten Gruppen

Abb. 4.7. Darstellung der IL-5 [-(deltaCT)] Werte in den Gruppen 2-6 in Boxplots.



Gruppe A	Gruppe B	Expression Gruppe A / Gruppe B	Signifikanz
alle Patienten	Kontrollgruppe	0 (a)	-
n. allerg. P.	allerg. P.	↓	0,171
n. allerg. P.	All.+ASS-Intol.	↓	0,548
n. allerg. P.	ASS- Intol.	↓	0,082
allerg. P.	All.+ASS-Intol.	↓	0,85
allerg. P.	ASS- Intol.	↓	0,413
All.+ASS-Intol.	ASS- Intol.	↓	0,39
n. allerg. P.	alle anderen Patienten	↓	0,06
allerg. P.	alle anderen Patienten	↑	0,87
All.+ASS-Intol.	alle anderen Patienten	-	1
ASS- Intol.	alle anderen Patienten	↑	0,09

Tabelle 4.8. Vergleich der IL-5 [-(deltaCT)] Werte der einzelnen Gruppen. Dabei wird angegeben, in welcher der verglichenen Gruppen die Expression höher ausfällt und ob die Unterschiede signifikant sind; * P< 0,05, ** P<0,001.

a Der Mann-Whitney-Test kann bei leeren Gruppen nicht ausgeführt werden.

Innerhalb der Patientengruppe gab es keine signifikanten Unterschiede in der IL-5 mRNA Expression zwischen den einzelnen Gruppen (Abb. 4.7., Tab. 4.8.)

4. 1. 3. Untersuchung von Beziehungen zwischen den Werten der PCR- Analyse- Ergebnis der Spearman-Korrelationsanalyse

Die CCR3 mRNA- Expression korrelierte auf dem 0,01-Niveau zweiseitig signifikant mit der Eotaxin- Expression und der Expression der Zytokine IL-10, IL-4 und IL-5.

Die mRNA- Expression der Chemokine korrelierte signifikant mit der folgenden Zytokine:

Eotaxin mit IL-10 und IL-4, RANTES mit IL-10 und IL-5.

Die Korrelationsanalyse der mRNA-Expression der einzelnen Zytokine untereinander ergab folgende signifikante Beziehungen: IL-10 mit IL-4 und IL-5, IFN- γ negative Korrelation zu IL-4.

	CCR3 (deltaCT)	Eotaxin (deltaCT)	RANTES (deltaCT)	IL-10 (deltaCT)	IFN-γ (deltaCT)	IL-4 (deltaCT)	IL-5 (deltaCT)
CCR3 (deltaCT) Korrelationskoeffizient		,459**	-,142	,625**	-,096	,611**	,589**
Eotaxin (deltaCT) Korrelationskoeffizient	,459**		,228	,812**	-,064	,694**	,214
RANTES (deltaCT) Korrelationskoeffizient	-,142	,228		,480**	,251	-,097	,408*
IL-10 (deltaCT) Korrelationskoeffizient	,625**	,812**	,480**		-,008	,662**	,486**
IFN-γ (deltaCT) Korrelationskoeffizient	-,096	-,064	,251	-,008		-,605**	-,148
IL-4 (deltaCT) Korrelationskoeffizient	,611**	,694**	-,097	,662**	-,605**		,349
IL-5 (deltaCT) Korrelationskoeffizient	,589**	,214	,408*	,486**	-,148	,349	

Tabelle 4.9. Darstellung der Werte des Spearman Korrelationskoeffizienten bei Korrelation der (ΔC_T)- Werte der einzelnen Parameter untereinander; ** die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig), * die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

4. 1. 4. Vergleich der Parameter Krankheitsdauer und Zahl der Vor- Operationen zwischen den Patientengruppen

Patienten mit gleichzeitig bestehender Allergie und ASS- Intoleranz hatten eine signifikant höhere Anzahl an Vor- Operationen als nicht allergische Patienten und als Patienten, die nur Allergiker waren. Insgesamt zeigte die Gruppe mit gleichzeitig bestehender Allergie und ASS- Intoleranz im Vergleich mit allen anderen Patienten die höchste Rate an Rezidiveingriffen (Tab. 4.10.).

Gruppe A	Gruppe B	Dauer der Erkrankung Signifikanz	Anzahl der Vor-OP's Signifikanz
n. allerg. P.	allerg. P.	0,5	1,0
n. allerg. P.	All.+ASS-Intol.	0,8	0,02* (B)
n. allerg. P.	ASS- Intol.	0,6	0,2
allerg. P.	All.+ASS-Intol.	0,6	0,01* (B)
allerg. P.	ASS- Intol.	0,3	0,2
All.+ASS-Intol.	ASS- Intol.	0,8	0,3
n. allerg. P.	alle anderen Patienten	n.e.	0,3
allerg. P.	alle anderen Patienten	n.e.	0,4
All.+ASS-Intol.	alle anderen Patienten	n.e.	0,045* (A)
ASS- Intol.	alle anderen Patienten	n.e.	0,5

Tabelle 4.10. Vergleich der Krankheitsdauer und Anzahl der Vor-OP's der einzelnen Gruppen. Die Gruppe mit dem höheren Wert wird bei Signifikanz (Mann-Whitney-Test) jeweils angegeben; * P< 0,05, ** P<0,001, n.e.= nicht erhoben.

4. 1. 5. Untersuchung der Beziehungen zwischen der Krankheitsdauer und der Zahl der Vor- Operationen und den untersuchten Parametern der PCR-Analyse

Die IL-4 mRNA- Expression korrelierte zweiseitig signifikant mit der Dauer der Erkrankung in Jahren. Hinsichtlich der Anzahl der Vor-Operationen ergab sich eine negative Korrelation mit der IL-10 mRNA-Expression.

	CCR3 (deltaCT)	Eotaxin (deltaCT)	RANTES (deltaCT)	IL-10 (deltaCT)	IFN-γ (deltaCT)	IL-4 (deltaCT)	IL-5 (deltaCT)
Dauer/a Korrelationskoeffizient	,126	-,077	-,189	-,094	-,073	,347*	,205
Zahl-Vor-OP's Korrelationskoeffizient	,037	-,212	-,122	-,309*	-,169	,005	,272

Tabelle 4.11. Darstellung der Werte des Spearman Korrelationskoeffizienten bei Korrelation der Krankheitsdauer und Anzahl der Vor-OP's mit den (deltaCT)-Werten; ** die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig), * 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

4. 2. CCR3- bindende Chemokine bei eosinophiler Polyposis nasi

Untersuchung und Vergleich des Proteingehaltes der Chemokine Eotaxin, Eotaxin-2, Eotaxin-3, RANTES, MCP-3 und MCP-4 in Nasenpolypen von Patienten mit unterschiedlichem Grad der Gewebeseosinophilie und verschiedenen assoziierten Ätiologien und der Concha inferior von Kontrollpersonen.

In die Studie wurden 24 Patienten mit chronischer Sinusitis und Polyposis nasi mit unterschiedlicher Ausprägung der Eosinophilie und 8 Kontrollpersonen eingeschlossen. Durch die Evaluierung wurden jeweils 8 Patienten für die einzelnen Gruppen ausgewählt.

1 = Kontrollgruppe

2 = nicht allergische Patienten (n. allerg.P.)

3 = allergische Patienten (allerg. P.)

4 = Patienten mit ASS-Intoleranz (ASS-Intol.)

5 = alle Patienten

4. 2. 1. Quantitative Analyse des Proteingehaltes in den untersuchten Gruppen

In Tabelle 4.12. sind die ermittelten Werte der Proteinkonzentration (MW \pm Standardabweichung) für die einzelnen Chemokine in den 5 Gruppen zusammenfassend dargestellt. In der Patientengruppe wurde folgende Reihenfolge hinsichtlich der Proteinkonzentration ermittelt:

RANTES > Eotaxin-2 > Eotaxin-3 > Eotaxin > MCP-4 > MCP-3. Die Unterschiede innerhalb der Eotaxinfamilie waren dabei signifikant: Eotaxin/Eotaxin-2 ($p=0,012$) und Eotaxin/Eotaxin-3 ($p=0,007$).

Gruppe n	Eotaxin pg/ μ g	Eotaxin-2 pg/ μ g	Eotaxin-3 pg/ μ g	RANTES pg/ μ g	MCP-3 pg/ μ g	MCP-4 pg/ μ g
1 n	0,01 \pm 0,003 4	0,02 \pm 0,01 3	0,01 \pm 0,003 5	0,79 \pm 0,70 8	0,01 \pm 0,01 5	0,03 \pm 0,03 3
2 n	0,10 \pm 0,05 5	0,27 \pm 0,32 4	0,21 \pm 0,19 6	0,91 \pm 0,66 8	0,02 \pm 0,008 3	0,08 \pm 0,06 5
3 n	0,14 \pm 0,11 7	0,25 \pm 0,19 6	0,14 \pm 0,11 7	0,79 \pm 0,94 8	0,01 \pm 0,009 6	0,08 \pm 0,04 6
4 n	0,26 \pm 0,18 8	0,34 \pm 0,10 8	0,29 \pm 0,16 8	0,55 \pm 0,36 8	0,02 \pm 0,008 7	0,15 \pm 0,04 8
5 n	0,18 \pm 0,15 20	0,29 \pm 0,20 18	0,22 \pm 0,17 21	0,75 \pm 0,71 24	0,02 \pm 0,009 16	0,11 \pm 0,06 19

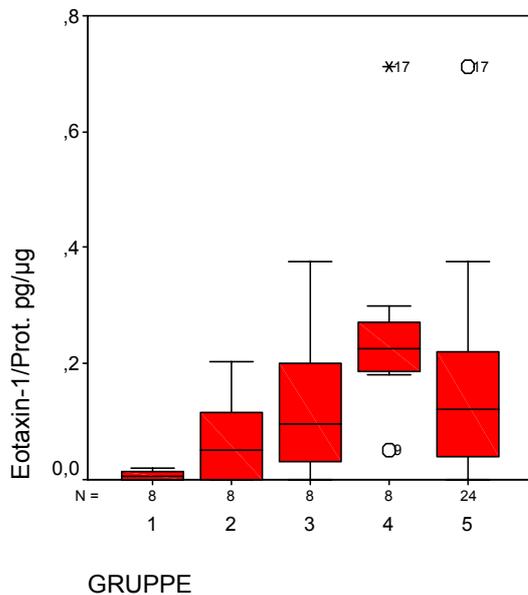
Tabelle 4.12. Darstellung der Chemokin- Proteinkonzentration in pg/ μ g Gesamtprotein als MW \pm Standardabweichung der positiven Proben (n) in den Gruppen1-5.

4. 2. 2. Vergleich der Eotaxin-, Eotaxin-2-, Eotaxin-3-, RANTES-, MCP-3- und MCP-4 – Proteinkonzentration in den untersuchten Gruppen

Eotaxin

Die Eotaxinkonzentration war in der Patientengruppe verglichen mit der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Bei den nicht allergischen Patienten war der Gehalt gegenüber den ASS-Intoleranten und allen anderen Patienten signifikant verringert (Abb. 4.8., Tab. 4.13).

Abb. 4.8. Darstellung der Eotaxin-Konzentration in den Gruppen1-5 in Boxplots.



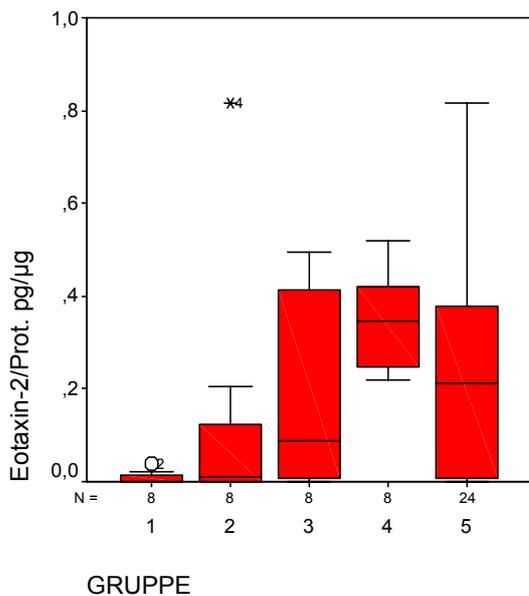
	alle Pat. bzw. alle anderen P.	n. allerg. P.	allerg. P.	ASS- Intol.
Kontrollgruppe	0,001*			
alle Patienten	-	-	-	-
n. allerg. P.	0,02*	-	0,244	0,005*
allerg. P.	0,7	0,244	-	0,065
ASS- Intol.	0,05	0,005*	0,065	-

Tabelle 4.13. Vergleich der Eotaxin- Proteinkonzentration aller Proben zwischen den Gruppen 1-5 (Mann-Whitney-U-Test) und Angabe der exakten Signifikanz; * P< 0,05, ** P< 0,001.

Eotaxin-2

Die Eotaxin-2- Konzentration war in der Patientengruppe verglichen mit der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Bei den nicht allergischen Patienten war der Gehalt gegenüber den ASS-Intoleranten und allen anderen Patienten signifikant verringert. Dahingegen zeigte die Gruppe Der ASS-Intoleranten einen signifikant erhöhten Eotaxin-2-Gehalt gegenüber allen anderen Patienten (Abb. 4.9., Tab. 4.14).

Abb. 4.9. Darstellung der Eotaxin-2- Konzentration in den Gruppen1-5 in Boxplots.



	alle Pat. bzw. alle anderen P.	n. allerg. P.	allerg. P.	ASS. Intol.
Kontrollgruppe	0,007*			
alle Patienten	-	-	-	-
n. allerg. P.	0,049*	-	0,418	0,009*
allerg. P.	0,729	0,418	-	0,154
ASS. Intol.	0,018*	0,009*	0,154	-

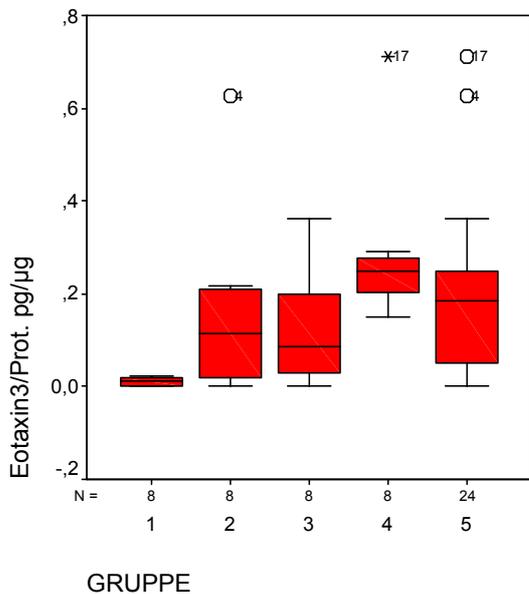
Tabelle 4.14. Vergleich der Eotaxin-2 Proteinkonzentration aller Proben zwischen den Gruppen 1-5 (Mann-Whitney-U-Test) und Angabe der exakten Signifikanz; * P< 0,05, ** P< 0,001.

Eotaxin-3

Die Eotaxin-3- Konzentration war in der Patientengruppe verglichen mit der Kontrollgruppe signifikant erhöht. In der Gruppe der ASS- Intoleranten war der Gehalt gegenüber den nicht allergischen, den allergischen und gegenüber allen anderen Patienten signifikant erhöht.

(Abb. 4.10., Tab. 4.15).

Abb. 4.10. Darstellung der Eotaxin-3- Konzentration in den Gruppen1-5 in Boxplots.



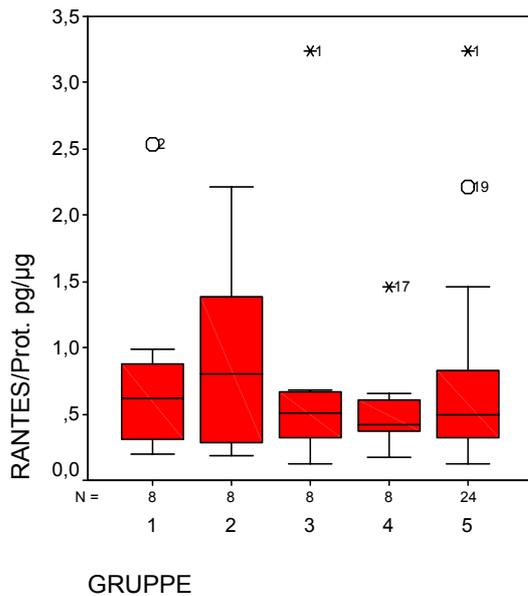
	alle Pat. bzw. alle anderen P.	n. allerg. P.	allerg. P.	ASS. Intol.
Kontrollgruppe	0,001*			
alle Patienten	-	-	-	-
n. allerg. P.	0,214	-	0,959	0,037*
allerg. P.	0,238	0,959	-	0,028*
ASS. Intol.	0,011*	0,037*	0,028*	-

Tabelle 4.15. Vergleich der Eotaxin-3 Proteinkonzentration aller Proben zwischen den Gruppen 1-5 (Mann-Whitney-U-Test) und Angabe der exakten Signifikanz; * P< 0,05, ** P< 0,001.

RANTES

Für die RANTES -Konzentration konnte weder im Vergleich der Patienten- und der Kontrollgruppe, noch im Vergleich der einzelnen Patientengruppen ein signifikanter Unterschied ermittelt werden (Abb. 4.11., Tab. 4.16).

Abb. 4.11. Darstellung der RANTES- Konzentration in den Gruppen1-5 in Boxplots.



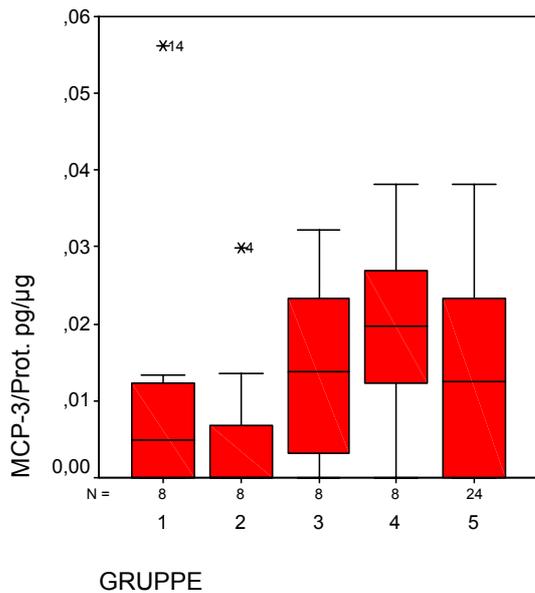
	alle Pat. bzw. alle anderen P.	n. allerg. P.	allerg. P.	ASS. Intol.
Kontrollgruppe	0,749			
alle Patienten	-	-	-	-
n. allerg. P.	0,49	-	0,574	0,574
allerg. P.	0,834	0,574	-	0,878
ASS. Intol.	0,653	0,574	0,878	-

Tabelle 4.16. Vergleich der RANTES Proteinkonzentration aller Proben zwischen den Gruppen 1-5 (Mann-Whitney-U-Test) und Angabe der exakten Signifikanz; * P< 0,05, ** P< 0,001.

MCP-3

Die MCP-3- Konzentration zeigte im Vergleich der Patienten- und der Kontrollgruppe keinen signifikanten Unterschied. Innerhalb der Patientengruppe war jedoch bei den nicht allergischen Patienten der Gehalt gegenüber den ASS- Intoleranten und allen anderen Patienten signifikant verringert (Abb. 4.12, Tab. 4.17).

Abb. 4.12. Darstellung der MCP-3- Konzentration in den Gruppen1-5 in Boxplots.



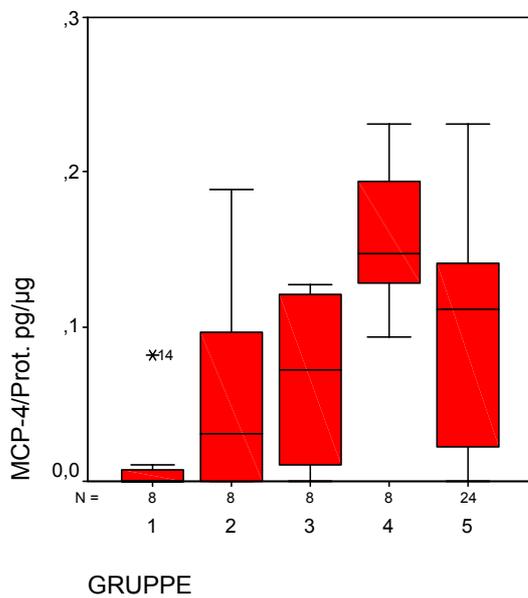
	alle Pat. bzw. alle anderen P.	n. allerg. P.	allerg. P.	ASS. Intol.
Kontrollgruppe	0,447			
alle Patienten	-	-	-	-
n. allerg. P.	0,028*	-	0,101	0,030*
allerg. P.	0,688	0,101	-	0,44
ASS. Intol.	0,084	0,030*	0,44	-

Tabelle 4.17. Vergleich der MCP-3 Proteinkonzentration aller Proben zwischen den Gruppen 1-5 (Mann-Whitney-U-Test) und Angabe der exakten Signifikanz; * P< 0,05, ** P< 0,001.

MCP-4

Die MCP-4- Konzentration war in der Patientengruppe verglichen mit der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Zusätzlich war in der Gruppe der ASS- Intoleranten der Gehalt gegenüber den nicht allergischen, den allergischen und gegenüber allen anderen Patienten signifikant erhöht (Abb. 4.13., Tab. 4.18).

Abb. 4.13. Darstellung der MCP-4- Konzentration in den Gruppen1-5 in Boxplots.



	alle Pat. bzw. alle anderen P.	n. allerg. P.	allerg. P.	ASS. Intol.
Kontrollgruppe	0,004*			
alle Patienten	-	-	-	-
n. allerg. P.	0,134	-	0,795	0,02*
allerg. P.	0,151	0,795	-	0,003*
ASS. Intol.	0,002*	0,02*	0,003*	-

Tabelle 4.18. Vergleich der MCP-4 Proteinkonzentration aller Proben zwischen den Gruppen 1-5 (Mann-Whitney-U-Test) und Angabe der exakten Signifikanz; * P< 0,05, ** P< 0,001.

4. 2. 3. Untersuchung von Beziehungen zwischen den einzelnen Chemokinen (Proteingehalt) - Ergebnis der Spearman-Korrelationsanalyse

Die Auswertung der Korrelationsanalyse ergab, dass bis auf RANTES, bei allen anderen CC-Chemokinen eine jeweils zweiseitig signifikante positive Korrelation zwischen den Werten der Proteinkonzentration aller untersuchten Chemokinen bestand. Für RANTES ergab sich zu keinem der untersuchten Werte eine signifikante Korrelation (Tab. 4.19).

	Eotaxin pg/μg	Eotaxin-2 pg/μg	Eotaxin-3 pg/μg	RANTES pg/μg	MCP-3 pg/μg	MCP-4 pg/μg
Eotaxin pg/μg	1,000	,586**	,836**	,062	,442**	,803**
Eotaxin-2 pg/μg	,586**	1,000	,745(**)	,014	,445**	,694**
Eotaxin3 pg/μg	,836**	,745(**)	1,000	,062	,457**	,875**
RANTES pg/μg	,062	,014	,062	1,000	,022	,088
MCP-3 pg/μg	,442**	,445**	,457**	,022	1,000	,553**
MCP-4 pg/μg	,803**	,694**	,875**	,088	,553**	1,000

Tabelle 4.19. Darstellung der Werte des Spearman Korrelationskoeffizienten bei Korrelation der Konzentrations-Werte der einzelnen Chemokine untereinander; ** die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig), * die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

4. 2. 4. Beziehungen zwischen der Anzahl der Eosinophilen im Gewebe, der Chemokin- Proteinkonzentration und der Ätiologie

Die Korrelationsanalyse ergab, dass die Chemokinkonzentration der CCR3- bindenden Chemokine Eotaxin, Eotaxin-2, Eotaxin-3 , MCP-3 und MCP-4 signifikant mit der Anzahl der Eosinophilen im Gewebe korreliert. Dagegen konnte für RANTES eine solche Korrelation nicht nachgewiesen werden (Tab. 4.20.).

Parameter	Eosinophile im Gewebe	
Eotaxin pg/μg	Korrelationskoeffizient Sig. (2-seitig)	,663 ** P< 0,001
Eotaxin-2 pg/μg	Korrelationskoeffizient Sig. (2-seitig)	,590 ** P=0,002
Eotaxin-3 pg/μg	Korrelationskoeffizient Sig. (2-seitig)	,585 ** P=0,003
RANTES pg/μg	Korrelationskoeffizient Sig. (2-seitig)	-,203 P=0,340
MCP-3 pg/μg	Korrelationskoeffizient Sig. (2-seitig)	,493 * P=0,014
MCP-4 pg/μg	Korrelationskoeffizient Sig. (2-seitig)	,606 ** P=0,002

Tabelle 4.20. Darstellung der Werte des Spearman Korrelationskoeffizienten bei Korrelation der jeweiligen Chemokinkonzentration mit der Anzahl der Eosinophilen im Gewebe; ** die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig), * die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

Die Untersuchung der nach der Ätiologie eingeteilten Gruppen ergab signifikante Unterschiede in bezug auf die Anzahl der Eosinophilen zwischen allen Gruppen. So war deren Anzahl bei den Allergikern und den ASS- Intoleranten gegenüber den Nicht- Allergikern signifikant erhöht. Die Gruppe mit ASS- Intoleranz hatte wiederum eine signifikant erhöhte Gewebeeosinophilie im Vergleich mit den Allergikern (Tab. 4.21).

	Gruppen		Exakte Signifikanz (2-seitig)
Anzahl der Eosinophilen im Gewebe	n. allerg.P.	allerg. P.	0,003*
	n. allerg. P.	ASS- Intol.	P< 0,001**
	allerg. P.	ASS- Intol.	P< 0,001**

Tabelle 4.21. Vergleich der Anzahl der Eosinophilen im Gewebe in den Gruppen 2-4, Mann-Whitney-U-Test und Angabe der exakten Signifikanz; * P< 0,05, ** P< 0,001.

4. 3. Die allergische Immunantwort und ihr Einfluss auf die Zusammensetzung der Sekundärfollikel und die Immunglobulinsynthese in humanen Gaumentonsillen

4. 3. 1. Ergebnis der histologischen Untersuchung

Histologisch ließ sich die typische mikroanatomische Architektur mit dem Kryptenepithel, den Sekundärfollikeln mit Keimzentrum und Mantelzone und der extrafollikulären Region in den Tonsillenschnitten aller untersuchten Tonsillen nachweisen. Histomorphologisch fielen bei den rezidivierend entzündeten Tonsillen zahlreiche Sekundärfollikel sowie tiefe, narbige Krypten mit einzelnen Epitheldefekten und einer exsudativen Kryptitis (Abb. 1a) auf. Im Vergleich dazu zeigten die Tonsillen der Kontrollpersonen lediglich einige wenige und kleinere Sekundärfollikel sowie fissurähnliche Krypten ohne floride Entzündungszeichen (Abb. 1b).

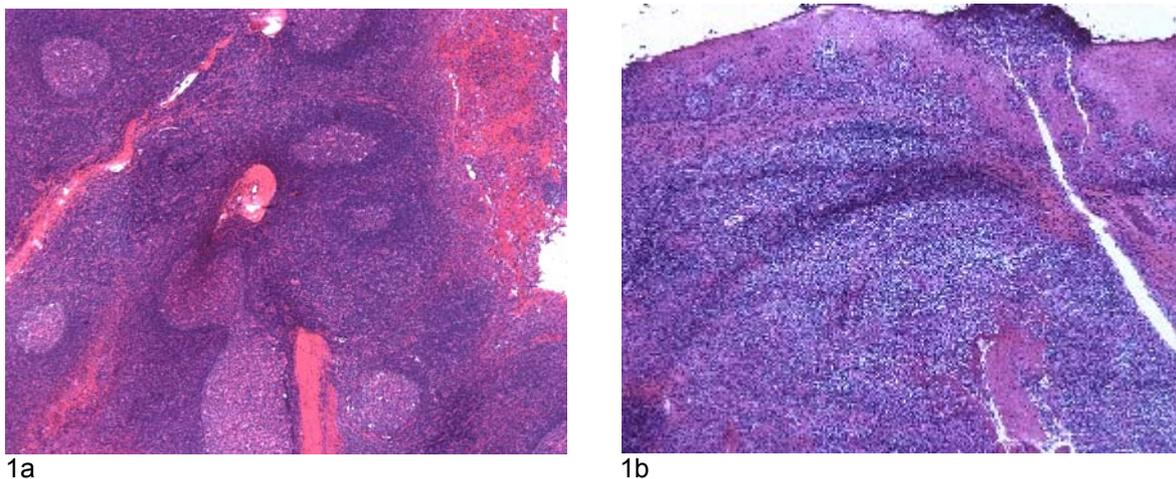


Abb. 1 Tonsillenschnitt, Paraffin, HE-Färbung, 50xVergrößerung.
1a: repräsentativer Patient (chronische Tonsillitis), 1b: repräsentative gesunde Kontrolle.

4. 3. 2. Die Verteilung CD20⁺, CD38⁺, CD4⁺ und Ki67⁺ Zellen

Jeweils ein Tonsillenschnitt aus der Gruppe der allergischen und nicht allergischen Patienten und ein Bild der Kontrollpersonen werden als repräsentatives Beispiel für jeden gefärbten Marker gezeigt (Abb. 2, 3, 4, 5). Dabei wurde die Anzahl gefärbter Zellen für jede untersuchte Zellpopulation zwischen den verschiedenen Mikrokompartimenten verglichen. Die Region mit den meisten gefärbten Zellen wurde mit ++ bewertet, Regionen mit geringerer Zahl gefärbter Zellen mit +, waren nur vereinzelte Zellen sichtbar, wurde dies mit +/- bewertet. Tabelle 4.22. fasst die Ergebnisse der Verteilung CD20⁺, CD38⁺, CD4⁺, Ki67⁺ Zellen in den einzelnen Mikrokompartimenten zusammen.

Verteilung der CD20⁺, CD38⁺, CD4⁺ Zellen

In dieser Studie ergab sich kein Unterschied hinsichtlich der typischen B- und T- Zellverteilung in den einzelnen Mikrokompartimenten zwischen der allergischen und nicht allergischen Patientengruppe und den Kontrollen. In den Sekundärfollikeln ließen sich in allen untersuchten Tonsillen CD20⁺, CD38⁺ und CD4⁺ Zellen anfärben. CD20⁺ Zellen waren vor allem in den Keimzentren und in der Mantelzone nachweisbar, in der extrafollikulären Region und im Kryptenepithel konnte eine geringere Anzahl dieser Zellpopulation beobachtet werden. Dahingegen ließen sich CD38⁺ Zellen vor allem in der extrafollikulären Region und in den Follikeln und zu einem kleineren Anteil im Kryptenepithel lokalisieren. CD4⁺ Zellen waren ebenfalls überwiegend in der extrafollikulären Region, in den Follikeln und zu einem kleineren Anteil im Kryptenepithel detektierbar. In den gesunden Tonsillen erschien die Anzahl CD20⁺, CD38⁺ und CD4⁺ Zellen im Gegensatz zur Patientengruppe in allen Kompartimenten vermindert.

Verteilung Ki67⁺ Zellen

Deutliche Unterschiede zwischen der Patientengruppe und den Kontroll-Tonsillen waren nach Färbung mit dem Proliferationsmarker Ki67 nachweisbar. Die Schnitte zeigten bei der Patientengruppe eine deutlich höhere Anzahl (Abb. 5a,b) Ki67⁺ Zellen, die vor allem in der dunklen Zone der Follikel konzentriert waren. Ein Unterschied zwischen den Tonsillenschnitten allergischer- und nicht allergischer Patienten war nicht detektierbar. Im Gegensatz dazu war bei den Kontrollpersonen lediglich eine sehr geringe Anzahl Ki67⁺ Zellen sichtbar (Abb. 5c).

		Lymphfollikel	Extrafollikuläre Region	Kryptenepithel
CD20	allerg. P.	++	+	+
	n. allerg. P.	++	+	+
	gesunde K.	+	+	+
CD38	allerg. P.	++	++	+
	n. allerg. P.	++	++	+
	gesunde K.	+	+	+
CD4	allerg. P.	++	++	+
	n. allerg. P.	++	++	+
	gesunde K.	+	+	+
Ki67	allerg. P.	++	+	+
	n. allerg. P.	++	+	+
	gesunde K.	-/+	-	-

Tabelle 4.22. Verteilung CD20⁺, CD38⁺, CD4⁺, Ki67⁺ Zellen in den verschiedenen Mikrokompartimenten allergischer Patienten (allerg.P.), nicht allergischer Patienten (n.allerg.P.) und gesunder Kontrollen (gesunde K.); Region mit der größten Anzahl gefärbter Zellen (++) , Region mit geringerer Anzahl gefärbter Zellen (+), nur vereinzelte Zellen gefärbt (-/+).

Repräsentatives Beispiel für jeden gefärbten Marker

CD20⁺ Zellen in Tonsillenschnitten

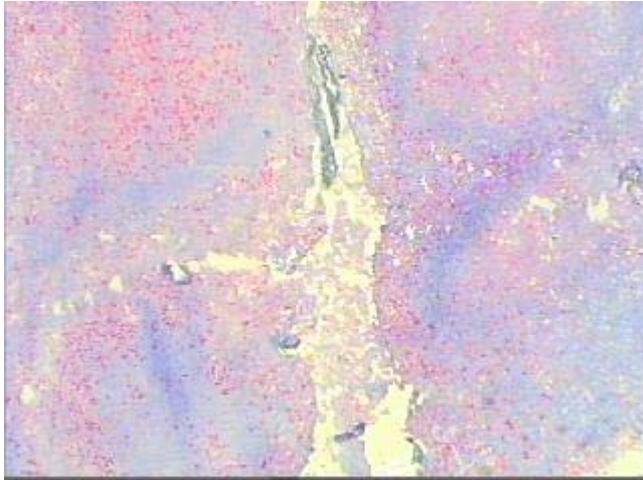


Abb. 2a

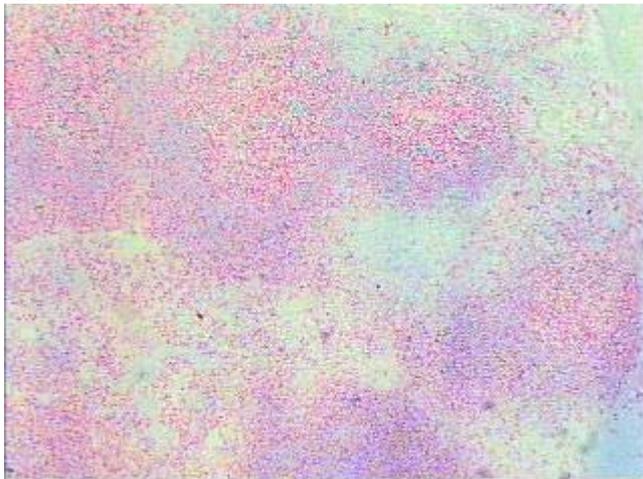


Abb. 2b

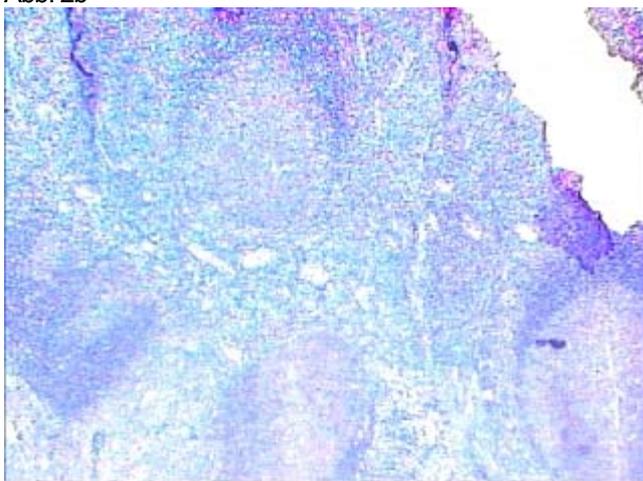


Abb. 2c

Abb. 2
CD20⁺ Zellen in Tonsillenschnitten, HE-Färbung, 40xVergrößerung.
2a: repräsentativer allergischer Patient
2b: repräsentativer nicht allergischer Patient
2c: gesunde Kontrolle

CD38⁺ Zellen in Tonsillenschnitten

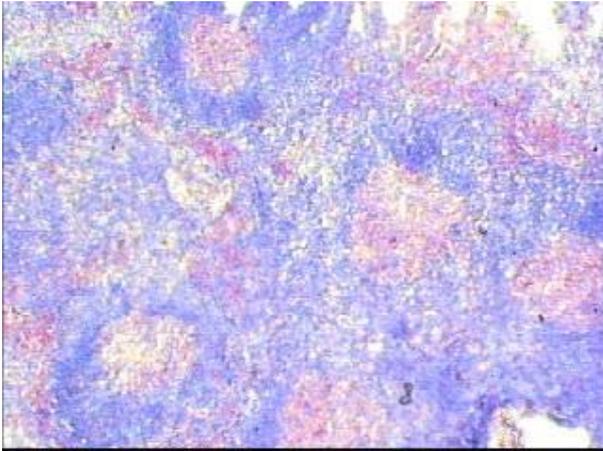


Abb. 3a

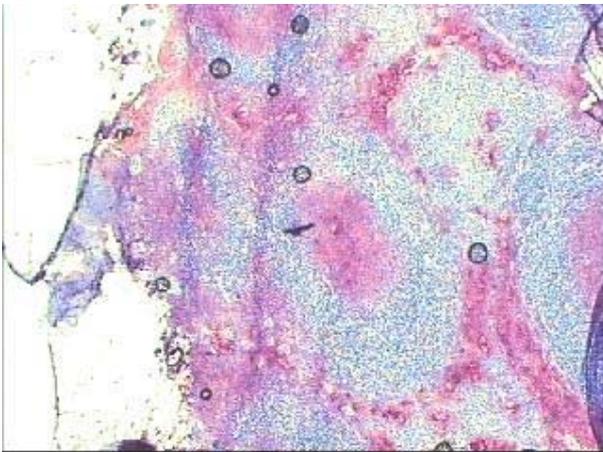


Abb. 3b

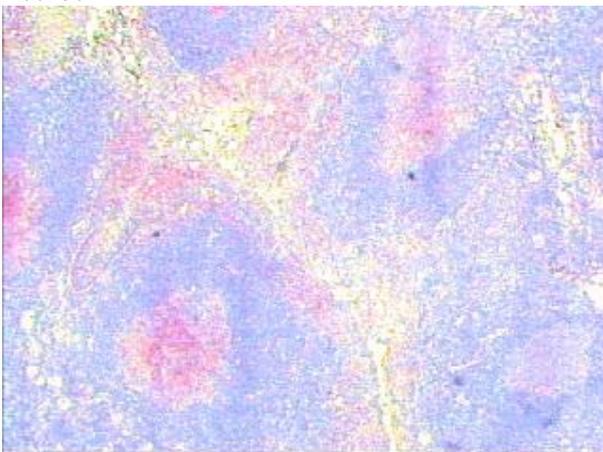


Abb. 3c

Abb. 3
CD38⁺ Zellen in Tonsillenschnitten, HE-Färbung, 40xVergrößerung.
3a: repräsentativer allergischer Patient
3b: repräsentativer nicht allergischer Patient
3c: gesunde Kontrolle

CD4⁺ Zellen in Tonsillenschnitten

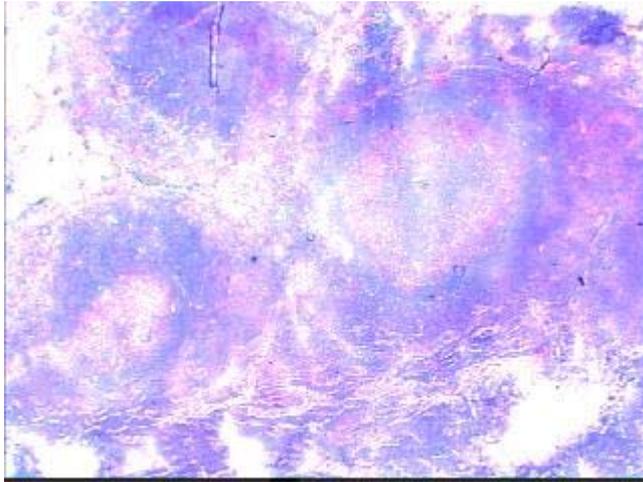


Abb. 4a

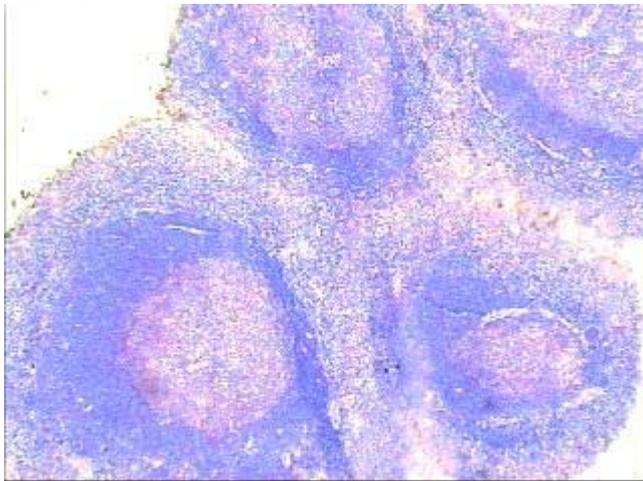


Abb. 4b

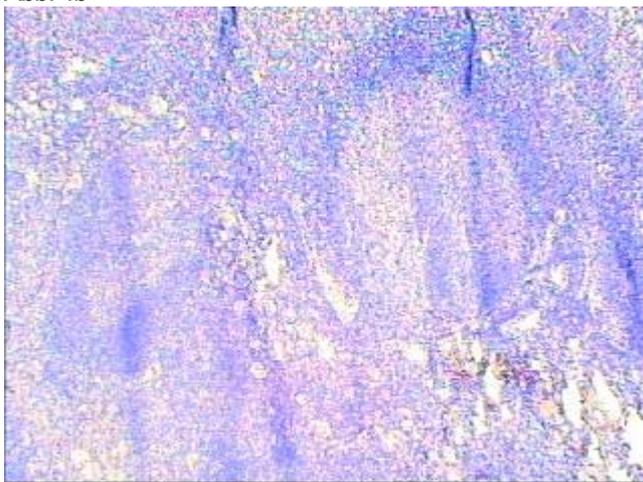


Abb. 4c

Abb. 4
CD4⁺ Zellen in Tonsillenschnitten, HE-Färbung, 40xVergrößerung.

4a: repräsentativer allergischer Patient

4b: repräsentativer nicht allergischer Patient

4c: gesunde Kontrolle

Ki67⁺ Zellen in Tonsillenschnitten

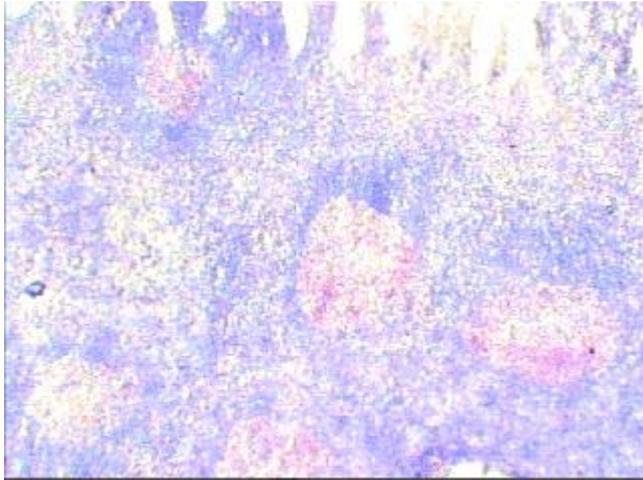


Abb. 5a

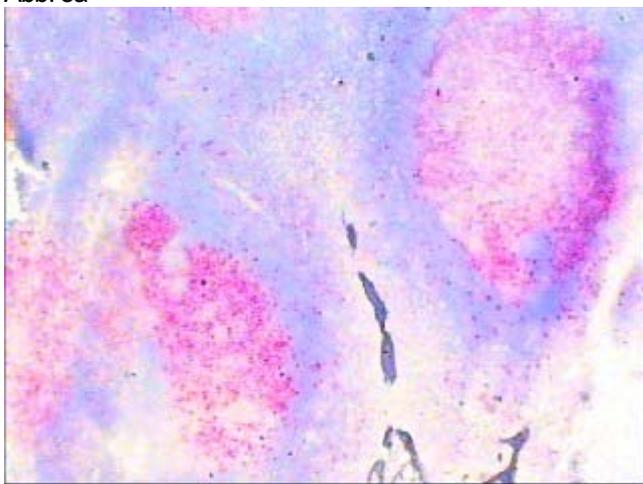


Abb. 5b

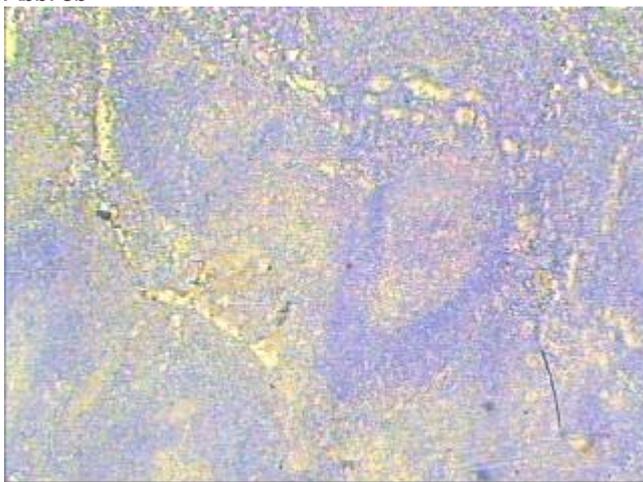


Abb. 5c

Abb. 5
Ki67⁺ Zellen in Tonsillenschnitten, HE-Färbung, 40xVergrößerung.

5a: repräsentativer allergischer Patient

5b: repräsentativer nicht allergischer Patient

5c: gesunde Kontrolle

4. 3. 3. Nachweis und Verteilung IgA⁺ Zellen

In allen Tonsillenschnitten konnten IgA positive Plasmazellen durch eine intrazelluläre zytoplasmatische AK- Färbung sichtbar gemacht werden. In den Schnitten der nicht allergischen Patienten und der Kontrollpersonen ließ sich eine vergleichbare Anzahl IgA-positiver Zellen mit typischer Plasmazellmorphologie detektieren (Abb. 6c-f). Die IgA-positiven Plasmazellen waren vor allem in der extrafollikulären Region und im Bereich der Krypten nachweisbar, wobei ihre Anzahl in den Tonsillenschnitten der allergischen Patienten gegenüber den nicht allergischen Patienten und den gesunden Kontrollpersonen deutlich reduziert erschien (Tab. 4.23.). Die Abbildungen 6a,b zeigen Tonsillenschnitte eines

Repräsentatives Beispiel für IgA⁺ Zellen in Tonsillenschnitten

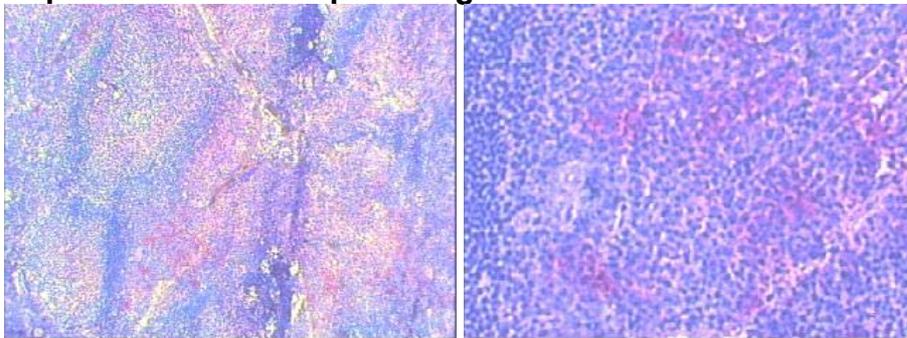


Abb. 6a

Abb. 6b

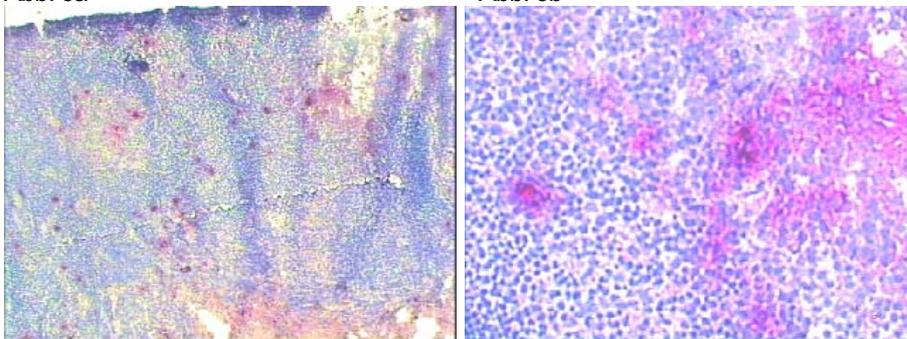


Abb.6c

Abb.6d

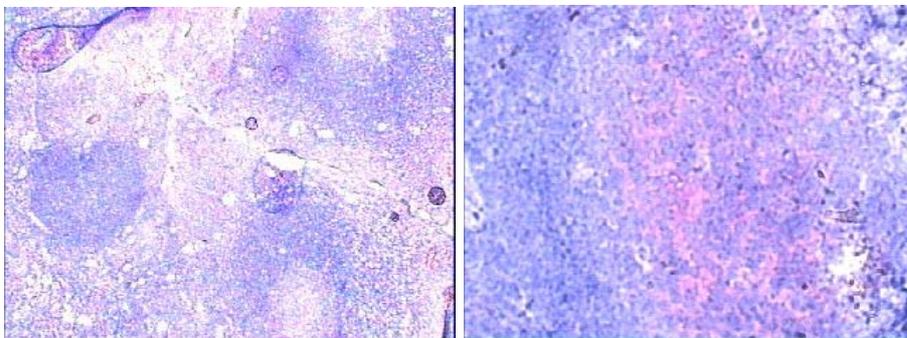


Abb. 6e

Abb.6f

Abb. 6 IgA⁺ Zellen in Tonsillenschnitten, HE-Färbung.

6a repräsentativer allergischer Patient, 40xVergrößerung. 6b 200xVergrößerung.

6c repräsentativer nicht allergischer Patient, 40xVergrößerung. 6d 200xVergrößerung.

6e gesunde Kontrolle, 40xVergrößerung. 6f 200xVergrößerung.

repräsentativen allergischen Patienten mit einer schwachen IgA-Färbung in den Krypten und vereinzelt IgA-positiven Plasmazellen.

Gruppe	IgA enthaltene Plasmazellen
Allergische Patienten	-/+
Nicht allergische Patienten	+
Gesunde Kontrollen	+

Tabelle 4.23. Beurteilung IgA enthaltener Plasmazellen nach intrazellulärer zytoplasmatischer AK-Färbung bei allergischen Patienten, nicht allergischen Patienten und gesunden Kontrollen. Die Beurteilung erfolgte folgendermaßen: (++) angefärbte Zellen/Schnitt > 100; (+) 100 > angefärbte Zellen/Schnitt > 50; (-/+) vereinzelte Zellen.

Zusammenfassend waren die Tonsillenschnitte der Betv1 allergischen und der nicht allergischen Patientengruppe sowie der gesunden Kontrollpersonen absolut vergleichbar hinsichtlich der typischen morphologischen Strukturen und der B- und T Zell Verteilung in den verschiedenen Mikrokompartimenten.

Im Gegensatz dazu fiel eine unterschiedliche Expression und Verteilung von IgA positiven Plasmazellen in den Tonsillenschnitten nicht allergischer Patienten und gesunder Kontrollpersonen im Vergleich zu den Betv1 allergischen Patienten auf. Bei den allergischen Patienten war der Anteil IgA positiver Plasmazellen verringert.

In den Tonsillenschnitten der Patienten kamen vergrößerte Sekundärfollikel, deren Anzahl ebenfalls erhöht war sowie eine größere Anzahl proliferierender Zellen in den Follikeln verglichen mit den Kontrollpersonen zur Darstellung. Hier gab es keine Unterschiede zwischen der Betv1 allergischen- und der nicht allergischen Patientengruppe.