

Aus dem Zentrum der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde
des Klinikums der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main
Direktor: Prof. Dr. med. Wolfgang Gstöttner

**Überschießende Reaktion auf Pilze – eine mögliche Genese für
chronische Rhinosinusitis?
Eine histologische, zytologische und immunologische Untersuchung**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin
des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Dr. med. Daniel Groisman
aus Riga

Frankfurt am Main, 2006

Dekan: Prof. Dr. med. J. Pfeilschifter

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. A. May

Koreferent: Prof. Dr. med. V. Gall

Tag der mündlichen Prüfung: 24.08.06

In großer Dankbarkeit möchte ich diese Arbeit meinen geliebten Eltern widmen ohne deren Hilfe mein Medizinstudium und Zahnmedizinstudium nicht möglich gewesen wäre.

Inhaltsverzeichnis

1	Einführung und Fragestellung	8
2	Literaturübersicht	11
2.1	Anatomie der Nase	11
2.1.1	Nasenmuscheln (Conchae nasales)	12
2.1.2	Sinus frontalis (Stirnbeinhöhle)	15
2.1.3	Sinus ethmoidales (Siebbeinzellen)	15
2.1.4	Sinus sphenoidalis (Keilbeinhöhle)	15
2.1.5	Gefäßversorgung, Lymphabfluss und nervale Versorgung der Nasennebenhöhlen	16
2.2	Histologie der Nasenhaupthöhle und der Nasennebenhöhlen	17
2.3	Mukoziliärer Transport und Nasenschleim	19
2.4	Allgemeine Abwehrmechanismen und immunologische Vorgänge in der Nasenschleimhaut	20
2.5	Die Granulozyten	21
2.5.1	Der eosinophile Granulozyt	22
2.5.2	Eosinophiles Cationisches Protein (ECP)	24
2.5.3	ECP im Nasensekret	24
2.6	Entzündliche Nasennebenhöhlenerkrankungen	25
2.6.1	Akute Sinusitis	26
2.6.2	Die Polyposis nasi eine Sonderform der chronischen Rhinosinusitis (CRS)	28
2.7	Pathogenitätsmechanismen der Poyposis nasi und die Sonderrolle der eosinophilen Granulozyten	30
2.8	Differenzierung, Migration und Apoptose des Eosinophilen	32
2.8.1	Oberflächenstrukturen eosinophiler Granulozyten	33
2.8.2	Aktivierung der Eosinophilen	33
2.8.3	Chemotaxis der Eosinophilen	35
2.8.4	Migration der Eosinophilen	36
2.9	Pilzsinusitiden	37

2.9.1	(Akute) fulminant invasive Pilzsinusitis	38
2.9.2	Chronisch invasive Pilzsinusitis	39
2.9.3	Pilzball (engl. fungus ball)	39
2.9.4	Chronische nicht-invasive Pilzsinusitis (Saprophytäre Kolonisation)	40
2.10	Allergic Fungal Rhinosinusitis (AFRS)	40
2.10.1	Ätiologie und Pathogenese der AFRS	40
2.10.2	Klinik und Diagnostik der AFRS	42
2.10.3	Histomorphologie der AFRS	44
2.11	Pilzspektrum	45
2.12	Radiologische Veränderungen bei Pilzinfektionen im Nasennebenhöhlensystem	49
2.13	Bevorzugte Operationsmethode: FESS	51
2.14	Medikamentöse Therapiemöglichkeiten	53
2.14.1	Glucocorticosteroide	53
2.14.2	Hyposensibilisierungstherapie	54
2.14.3	Antimykotika	56
3	Material und Methode	57
3.1	Gewinnung und Verarbeitung des Nasensekretes	57
3.2	Gewinnung und Verarbeitung des Serums	57
3.3	In-vitro-Diagnostik mit PHARMACIA UniCAP [®] -System	58
3.3.1	UniCAP [®] ECP-Bestimmung	58
3.3.2	UniCAP [®] Total IgE Bestimmung	61
3.3.3	UniCAP [®] Specific IgE Bestimmung	63
3.4	Kulturelle Untersuchung	66
3.5	Zytologische Untersuchung	68
3.6	Histologische Aufbereitung der Präparate	69
3.7	Statistische Auswertung	70
3.7.1	U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney	71
3.7.2	Der Korrelationskoeffizient „r“	72

4	Ergebnisse	73
4.1	Patienten- und Kontrollgruppe	73
4.2	ECP-Werte im Nasensekret und Serum	74
4.2.1	ECP-Werte im Nasensekret und Serum der Kontrollgruppe	74
4.2.2	Pearson-Korrelation der ECP-Werte der Kontrollgruppe	75
4.2.3	ECP-Werte im Nasensekret und Serum der CRS-Patienten	76
4.2.4	Pearson-Korrelation der ECP-Werte der Patientengruppe	78
4.2.5	Signifikanzprüfung der ECP-Werte im Nasensekret und Serum	79
4.3	Total-IgE im Serum	80
4.3.1	Total-IgE im Serum der Kontrollgruppe	80
4.3.2	Total-IgE im Serum der CRS-Patienten	82
4.3.3	Signifikanzprüfung der Total-IgE-Serumwerte	83
4.3.4	Pearson-Korrelation zwischen ECP-Werten und Total-IgE-Werten bei CRS-Patienten	84
4.4	Spezifisches-IgE im Serum	85
4.4.1	Spezifisches-IgE im Serum der Kontrollgruppe	85
4.4.2	Spezifisches-IgE im Serum der CRS-Patienten	87
4.5	Mykologische Ergebnisse	91
4.5.1	Pilzkulturen und spezifisches mx2-IgE der Kontrollgruppe	91
4.5.2	Pilzkulturen und spezifisches mx2-IgE der CRS-Patienten	92
4.6	Zytologische und histologische Ergebnisse	96
4.6.1	Zytologische Ergebnisse der Kontrollgruppe	96
4.6.2	Zytologische Ergebnisse der CRS-Patienten	97
4.7	Histologische Ergebnisse	101
4.7.1	Histologische Ergebnisse der Kontrollgruppe	101
4.7.2	Histologische Ergebnisse der CRS-Patienten	102

4.8	Signifikanzprüfung der ECP-Werte im Nasensekret bei Pilznachweis im Ausstrich, Histologie und Kultur	106
4.9	Aufgliederung der CRS-Patienten unter Berücksichtigung der histologischen, zytologischen und serologischen Befunden	107
4.9.1	Signifikanzprüfung Total-IgE-Serumwerte von Allergiker und nicht-Allergiker	108
5	Diskussion	109
5.1	Allergische Genese der eosinophilen Entzündung	110
5.2	Nicht-allergisch vermittelte Entzündung mit Eosinophilie	111
5.3	Überschießende Reaktion auf Pilze – Ursache für CRS bzw. Polyposis nasi?	114
5.4	Immunologische Serumuntersuchungen	120
5.5	Zellaktivierungsmarker ECP	123
5.6	Schlussfolgerungen	125
6	Aussichten und Therapieansätze bei eosinophilenmediierter CRS	128
7	Zusammenfassung	130
8	Abstract	133
9	Literaturverzeichnis	135
10	Lebenslauf	155
11	Danksagung	157
12	Schriftliche Erklärung	158

1 Einführung und Fragestellung

Die Polyposis nasi ist schon seit Jahrtausenden bekannt, dennoch sind ihre genauen Ursachen bzw. ihre Entstehungsmechanismen auch heute noch nicht ausreichend geklärt, wobei die Untersuchungen dadurch erschwert wurden, dass sich für die nasale Polyposis kein geeignetes Tiermodell durchgesetzt hat.

Im Gegensatz zur äußeren Haut, innerhalb derer das verhornende Plattenepithel als starkes mechanisches Abwehrschild wirkt, kommt es bei der Deposition der verschiedensten Agentien auf die Schleimhaut und im nachfolgenden Transport über die Schleimhaut zu einem intensiven Kontakt auf molekularbiologischer Ebene zwischen den deponierten Agentien und dem Flimmerepithel, wobei dem Nasensekret und seiner bakteriostatischen Wirkung (z.B. Lysozym, Laktoferrin, Ig A) eine große Bedeutung zukommt.

Durch moderne Untersuchungstechniken der Immunhistochemie wie z.B. In-situ-Hybridisierung, Polymerasekettenreaktion (PCR), quantitative Radioimmunoassays etc. konnten wesentliche Fortschritte im Verständnis der Physiologie und Pathophysiologie der Nasenschleimhaut bei allergischen und nicht-allergischen Rhinitisformen gewonnen werden.

Bei allen entzündlichen Reaktionen der Nasenschleimhaut liegt ein komplexes Wechselspiel von entzündungsfördernden und –hemmenden Faktoren zugrunde, wobei eine zunehmende Zahl von Zytokinen, Wachstumsfaktoren und entsprechenden Rezeptoren nachgewiesen wurden. Durch so genannte Adhäsionsmoleküle und –rezeptoren wird z.B. die Zellmobilität, die transendotheliale und transepitheliale Wanderung sowie der Verbleib in bestimmten Gewebekompartimenten gesteuert.

Es ist bekannt, dass bestimmte bakterielle und virale Infektionen als Auslöser von Entzündungen der Nasennebenhöhlen eine große Rolle spielen. In letzter Zeit wird auch die Rolle von Pilzen als Verursacher der chronischen Sinusitis diskutiert. **Ponikau et al. 1999** und **Stammerger et al. 2000** führen in diesem Zusammenhang an, dass eine überschießende Immunreaktion auf eingeatmete Pilzfragmente möglicherweise einer der Hauptgründe für bestimmte Formen der chronischen Rhinosinusitis und der Polyposis nasi sein könnte.

Nach **Bent und Kuhn 1994** liegt eine allergische Pilzsinusitis (AFS: „allergic fungal sinusitis“) dann vor, wenn klar definierte diagnostische Kriterien wie: Typ I Allergie gegen Pilzelemente, Polyposis nasi et sinuum, charakteristischer CT-Befund, positive Pilz-Histologie oder Pilzkultur, „allergic mucin“ und fehlender Hinweis für Invasivität, erfüllt sind.

Vorläufig bleibt es noch unklar, warum manche Menschen auf die im Nasenschleim abgelagerten Pilze mit massiver abnormer Immunreaktion antworten. **Ponikau et al. 2000**, **Stammerger et al. 2000** sowie **Braun und Hoffmann 2000** kamen zu dem Schluss, dass Eosinophile als Reaktion auf Pilzfragmente höchstwahrscheinlich ursächlich an der Entstehung der

chronischen Sinusitis beteiligt sind. Die immunologische Reaktion läuft nicht im Sinne einer IgE vermittelten Allergie ab, sondern die der parasitären Abwehr ähnlich. Auffällig ist eine hohe Eosinophilenanzahl im zähen Schleim dieser Kranken, die sich in Clustern um Pilzhefen gruppieren. Die eosinophilen Zellen durchwandern in intakter Form das Gewebe und degranulieren erst im Schleim. Das aus dem kristallinen Kern der eosinophilen Granula freigesetzte Major Basic Protein (MBP) wirkt unspezifisch toxisch auf Pilzen und auf Nasenschleimhautzellen. Dies führe sekundär zur Gewebsdestruktion und Polypenbildung. Immunologisch liege eine aberrante T-Zell-Reaktion auf Pilz-Antigenen vor. Dies wird als Hinweis auf eine mögliche pathogene Bedeutung der Pilze für eine Entzündung der Nasenschleimhaut mit Gewebsdestruktion gedeutet, die für die Entstehung einer chronischen Rhinosinusitis (CRS) und Polyposis nasi verantwortlich ist.

Buzina et al. 2000 konnten mit Hilfe von Genanalysen über 70 verschiedene Pilzspezies im Nasenschleim nachweisen. Etwa 80-90% der diffusen Polyposis nasi sind durch einen eosinophilen Entzündungstyp gekennzeichnet, während 10-20% einen neutrophilen Entzündungstyp aufweisen, deren Ursache nach wie vor unbekannt ist.

Früher hielt man das Auftreten von eosinophilen Granulozyten im Stroma von Nasenpolypen für ein untrügliches Zeichen einer allergischen Reaktion, heute wissen wir, dass eosinophile Granulozyten gerade bei nicht allergischen Erkrankungen der Nasenschleimhaut bzw. Nasenpolypen, wie das Beispiel des Azetylsalizyl-Intoleranz-Syndroms zeigt, wesentlich vermehrt sind.

Deswegen wurden die Krankheitsbilder differenzierter betrachtet und entsprechend von **Ferguson 2000** in „eosinophilic mucin rhinosinusitis“ (EMRS) und von **Ponikau et al. 1999** in „eosinophilic fungal rhinosinusitis (EFRS) umbenannt. EMRS ähnelt klinisch einer allergischen Pilzsinusitis, ohne dass Pilzelemente nachweisbar sind. Bei chronisch entzündlichen Nebenhöhlen-erkrankungen mit Eosinophilie und Pilznachweis spricht man dann von EFRS.

Diese neue Hypothese, dass Pilzfragmente ursächlich an der Entstehung der chronischen Sinusitis beteiligt sind führte zu einer intensiven, teilweise kontroversen Diskussion in den Fachkreisen, die bis heute andauert und nicht endgültig geklärt ist.

Da die Inzidenz und Prävalenz pilzassoziierter Rhinosinositiden geographischen Schwankungen unterworfen ist (Ferguson et al. 2000) und in Deutschland zu diesem Thema so gut wie keine gesicherten Daten vorliegen, führten wir eine histologische, immunologische und pilzkulturelle Studie an Patienten mit chronischer Rhinosinusitis (CRS) und Polyposis nasi durch.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit folgenden Fragen:

1. Überschießende Reaktion auf Pilze – eine mögliche Genese für chronische Rhinosinusitis bzw. Polyposis nasi?
2. Gibt es non-invasive Screeningmethoden um Patienten mit chronischer Rhinosinusitis bzw. Polyposis nasi zu erfassen, die immunologisch abnorm auf Pilzstrukturen reagieren?
3. Gibt es Unterschiede bezüglich Pilzkontamination der Nasenschleimhaut von Erkrankten und Gesunden?
4. Ist bei den Erkrankten histologisch nachweisbarer Schleim mit eingelagerten Eosinophilen (Clustern), Charcot-Leyden-Kristallen und Pilzhypen vorhanden?
5. Wie verhält sich das ECP im Nasensekret bei CRS-Patienten mit und ohne Nachweis von Pilzelementen im Nasensekret?

2 Literaturübersicht

2.1 Anatomie der Nase

Am knöchernen Schädel stellen die Aperturae piriformes den vorderen Eingang der Nasenhöhle (Cavitas nasi) dar. Die Nasenscheidewand (Septum nasi) trennt rechte und linke Nasenhöhle und bildet jeweils die mediale Nasenwand (Abb. 1). Das Septum nasi setzt sich aus Vomer, der Lamina perpendicularis ossis ethmoidalis und der Lamina quadrangularis (Cartilago septi nasi) zusammen. Der Vomer ist am Boden der Nasenhöhle mit der Crista nasalis des Processus palatinus der Maxilla und der Lamina horizontalis des Os palatinum verbunden (Lee 1995).

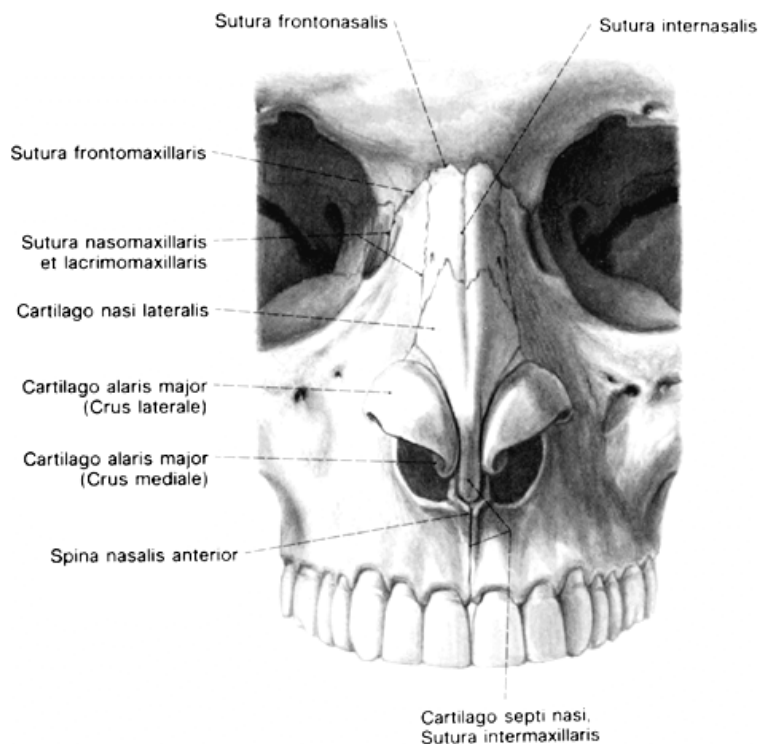
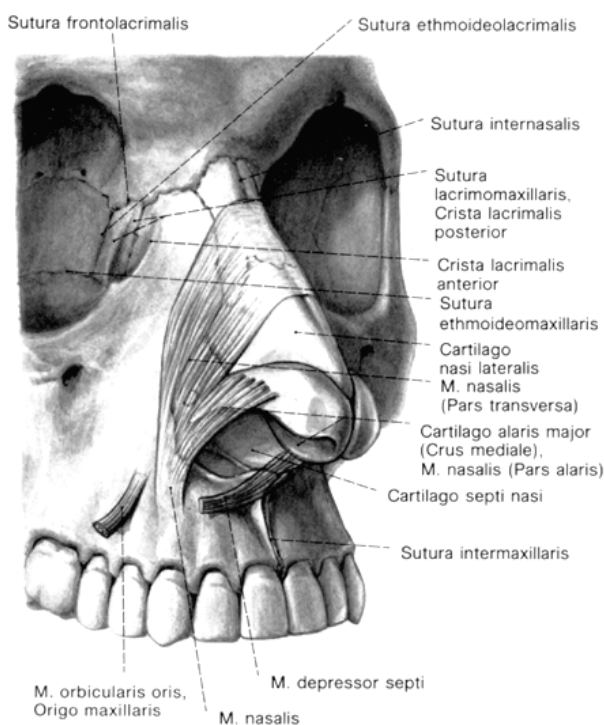


Abb.1 Das Knorpelgerüst der äußeren Nase

Die hinteren Nasenöffnungen (Choanen) führen in den Rachenraum (Pharynx). Das Nasenbein (Os nasale) bildet das knöcherne Dach der Nasenhöhle (Cavum nasi) und verbindet sich mit dem Stirnfortsatz des Oberkiefers (Processus frontalis maxillae) und dem Nasenfortsatz des Stirnbeins (Pars nasalis des Os frontalis). Die Pars nasalis des Os frontalis verbindet die beiden Partes orbitales des Os frontalis miteinander. Sie steht in syndesmalem Kontakt mit dem Os nasale und dem Processus frontalis maxillae. Ein unpaarer Mittelsteg ist die Spina nasalis ossis frontalis.

Das Knorpelgerüst der Nasenspitze besteht aus den beiden Flügelknorpeln (Cartilago alaris major), der Mittelteil der Nase wird vom Septumknorpel (Cartilago septi nasi) gestützt, dem seitlich die Dreiecksknorpel (Cartilago triangularis, Cartilago nasi lateralis) angelagert sind, die ihrerseits die Seitenwände der Nase verstärken. Der Flügelknorpel formt mit dem Crus mediale und dem Crus laterale das Nasenloch. Das knorpelige Septum bestimmt die Höhe der Nasenspitze und mit dem knöchernen Nasenbein die Höhe des Nasenrückens und die Form der äußeren Nase (Abb. 2).



Der Eingang zur Haupthöhle, der Nasenvorhof (Vestibulum nasi), ist mit äußerer Haut ausgekleidet, die feine Härchen (Vibrissae) und Talgdrüsen enthält. Der Nasenvorhof wird von der Nasenhöhle durch die Nasenklappe (Limen nasi) abgegrenzt, die sich an der unteren Kante des Dreiecksknorpels befindet (Schiebler u. Schmidt 1991; Boeninghaus 1993).

Abb. 2 Die Muskeln der äußeren Nase

2.1.1 Nasenmuskeln (Conchae nasales)

Die laterale Nasenwand trägt die drei Nasenmuskeln: Concha nasalis superior, Concha nasalis media und Concha nasalis inferior. Sie bestehen aus dünnem, schleimhautüberzogenen Knochen und bedecken je einen Nasengang. Die untere Nasenmuschel stellt einen selbständigen Knochen dar und besitzt drei Fortsätze: einen Processus lacrimalis, Processus maxillaris und Processus ethmoidalis (Abb. 3) (Lee 1995).

Unter der Concha nasalis inferior mündet in den Meatus nasi inferior der Ductus nasolacrimalis (Tränennasengang), unter der Concha nasalis media befindet sich im Meatus nasi medius das Infundibulum ethmoidale, das sich nasenwärts über den Hiatus semilunaris öffnet und die Ausführungsgänge des Sinus maxillaris (Kieferhöhle), Sinus frontalis (Stirnbeinhöhle), des Sinus ethmoidalis anteriores und medii (vordere und mittlere Siebbeinzellen) beinhalten. Unter der

Concha nasalis superior münden im Meatus nasi superior die hinteren Siebbeinzellen (Sinus ethmoidalis posteriores). Dahinter liegt das Ostium des Sinus sphenoidalis (Keilbeinhöhle) (Schiebler u. Schmidt 1991; Boenninghaus 1993).

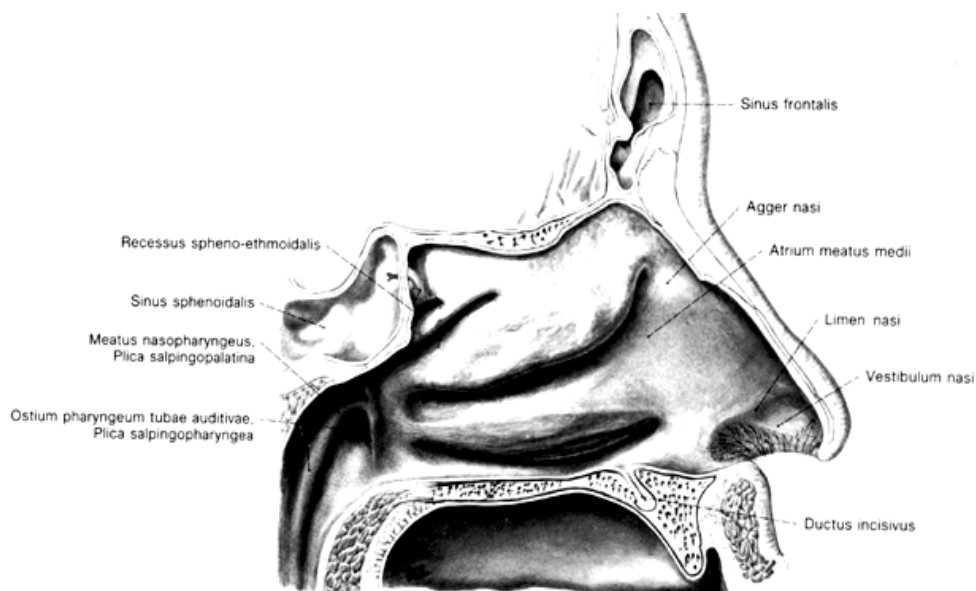
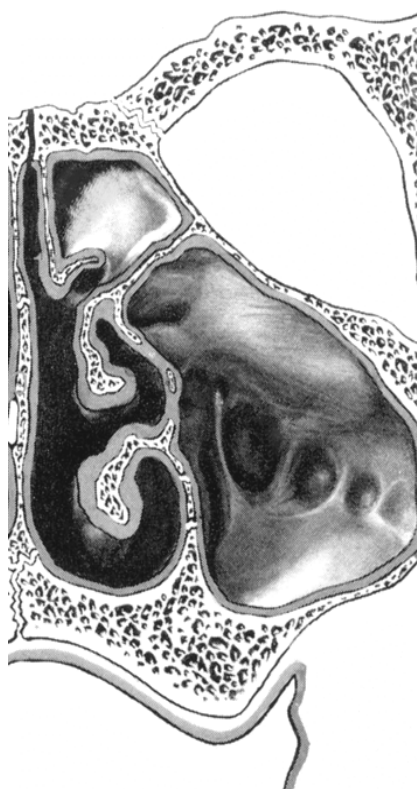


Abb. 3 Die laterale Nasenwand



Die Kieferhöhle (Sinus maxillaris, Antrum Highmori) als Bestandteil der Nasennebenhöhlen weist die Form einer vierseitigen Pyramide auf, deren Basis (mediale/nasale Wand) der lateralen Wand der Nasenhaupthöhle entspricht. Sie ist in den oberen Abschnitten bindegewebig angelegt (Abb. 4) (Boenninghaus 1993, Lee 1995).

An hochgelegener Stelle befindet sich das Ostium, das im Infundibulum ethmoidale mündet. Über das Infundibulum und den Hiatus semilunaris des mittleren Nasenganges erfolgt der Abfluss des Sekretes in die Nase.

Die obere (orbitale) Kieferhöhlenwand (Kieferhöhlendach) entspricht dem Orbitaboden. In ihr verläuft der N. infraorbitalis. Im hinteren Winkel zwischen medialer und oberer Wand sind bei Operationen die hinteren Siebbeinzellen erreichbar.

Abb. 4 Kieferhöhle und Nasenmuscheln

Die vordere (faciale) Wand birgt im oberen Abschnitt das Foramen infraorbitale, durch das der Nerv austritt. Die Jochbeinbucht (Recessus zygomaticus) befindet sich im lateralen Winkel zwischen oberer und vorderer Wand.

Der Kieferhöhlenboden mit Alveolarbucht (Recessus alveolaris) entspricht der unteren Wand. Lediglich durch dünne Knochenlamellen getrennt, wölben sich hier oftmals die Wurzeln der vier Backenzähne vor (relevant im Kontext odontogener Kieferhöhlenentzündungen sind vor allem der 2. Prämolare und der 1. Molar).

Die hintere Kieferhöhlenwand grenzt an die Fossa pterygopalatina, welche den venösen Plexus pterygoideus und die A. maxillaris birgt. Zudem liegen in der Fossa pterygopalatina das vom N. petrosus major versorgte Ganglion pterygopalatinum, das für die vegetative Steuerung der Nasenschleimhaut (parasympathisch: verstärkte Sekretabsonderung und Vasodilatation, sympathisch: sekrethemmend und vasokonstriktorisch) und der Schwellkörper in den Muscheln verantwortlich ist (Schiebler u. Schmidt 1991).

Die Stirn- und Kieferhöhlen sowie alle zum Siebbein gehörigen Gewebereiche und Ausbuchtungen sind mittels eines Systems von Spalten und Räumen mit der Nasenhöhle verbunden. Diese Spalten und Räume ermöglichen die für die gesunde Schleimhaut notwendige Drainage und Ventilation im Nasennebenhöhlenbereich (Weerda 1988; Simmen 1995).

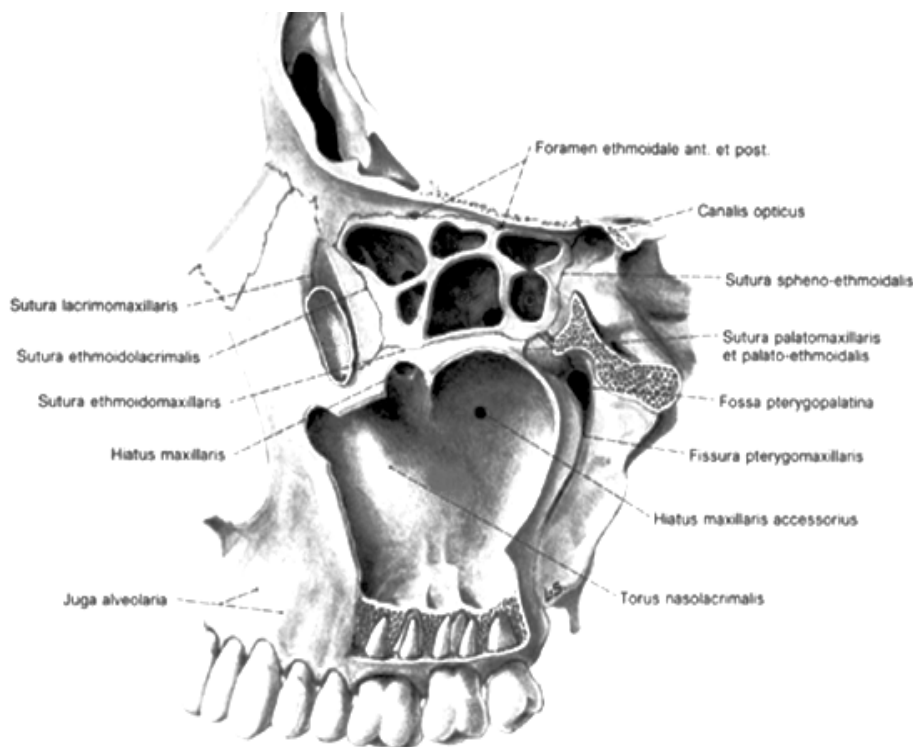


Abb.5 Stirnhöhle und Siebbeinzellen

2.1.2 Sinus frontalis (Stirnbeinhöhle)

Die Stirnbeinhöhle ruft den individuell unterschiedlich stark ausgeprägten Augenwulst, Arcus superciliaris, hervor. Der Boden des Sinus frontalis ist nur durch eine dünne Knochenlamelle von der Orbita getrennt, in dem der erste Trigeminusast nach vorne zum Foramen supraorbitale läuft, sein Dach bildet einen großen Teil des Bodens der vorderen Schädelgrube. Die Trennwand zwischen beiden Sinus, das Septum sinuum frontalem, steht in der Regel paramedian, so dass sich der Sinus frontalis einer Seite weit auf die Gegenseite ausdehnen kann. Der Sinus frontalis mündet im Bereich des Hiatus semilunaris in den Meatus nasi medius (Abb. 5) (Schiebler u. Schmidt 1991).

2.1.3 Sinus ethmoidales (Cellulae ethmoidales, Siebbeinzellen)

Sie grenzen medial an Nasenhöhle, lateral an die Augenhöhle, kaudal an die Kieferhöhle, kranial an die vordere Schädelgrube bzw. die Stirnbeinhöhle. Im Einzelnen handelt es sich bei den Siebbeinzellen um ein differenziertes System unvollständig getrennter Kammern, die sich nach ihrer Lage in vordere, mittlere und hintere Sinus untergliedern. Die vorderen Zellen sind der Stirn- und Kieferhöhle anatomisch und funktionell vorgeschaltet (Abb. 5). Die größte Siebbeinzelle ist die Bulla ethmoidalis. Ihre Wand bildet den hinteren Abschluss des Hiatus semilunaris. Die vorderen und mittleren Siebbeinzellen münden in den Hiatus semilunaris des Meatus nasi medius, die hinteren Siebbeinzellen in den Meatus nasi superior (Schiebler u. Schmidt 1991; Lee 1995; Berghaus et al. 1996).

2.1.4 Sinus sphenoidalis (Keilbeinhöhle)

Die Keilbeinhöhle liegt im Corpus ossis sphenoidalis. Das Septum sinuum sphenoidalium trennt paramedian zwei ungleich große Höhlen voneinander. Der knöchernen Boden der Keilbeinhöhle bildet das Dach des Meatus nasopharyngeus. Das Dach der Keilbeinhöhle erscheint durch Ausbildung der Fossa hypophysialis konvex. Die Seitenwand hat topographische Beziehung zum Sinus cavernosus und der A. carotis interna, die Vorderwand zu den hinteren Siebbeinzellen sowie dem hinteren Abschnitt der medialen Orbitalwand und zum N. opticus. Die Keilbeinhöhle öffnet sich in den Recessus sphenothmoidalis (Schiebler u. Schmidt 1991; Lee 1995; Boenninghaus 1993).

2.1.5 Gefäßversorgung, Lymphabfluss und nervale Versorgung der Nasennebenhöhlen

Die arterielle Versorgung der Nasennebenhöhlen erfolgt sowohl aus der A. carotis externa als auch aus der A. carotis interna. Kieferhöhle und Keilbeinhöhle werden ausschließlich von Ästen der A. carotis externa versorgt, Stirnhöhle und Siebbeinzellen dagegen aus beiden Gefäßgebieten.

Die Kieferhöhle erhält ihre arterielle Zufuhr über die A. infraorbitalis und die A. alveolaris superior posterior, beide aus der A. maxillaris. Die Keilbeinhöhle wird über Äste der ebenfalls aus der A. maxillaris stammenden A. sphenopalatina, vor allem über die Aa. nasales posteriores versorgt.

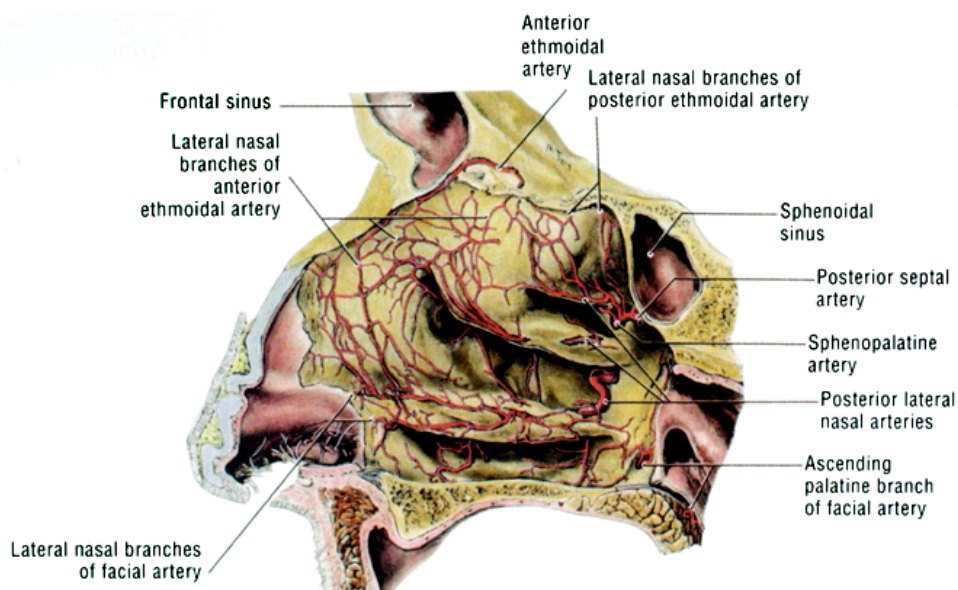


Abb. 6 Die Gefäßversorgung der Nasennebenhöhlen

Die Siebbeinzellen erhalten ihre arterielle Zufuhr sowohl aus der A. carotis externa als auch über die Aa. nasales posteriores aus der A. ophthalmica. Die Stirnhöhle wird hauptsächlich von der A. supraorbitalis und der A. supratrochlearis, also aus Ästen der aus der A. carotis interna stammenden A. ophthalmica versorgt (Abb. 6).

Der venöse Abfluss aus den Nasennebenhöhlen erfolgt vor allem durch die V. sphenopalatina über den Plexus pterygoideus. Daneben bestehen Abflüsse über die Vv. ethmoidales zur V. ophthalmica sowie über die Vv. maxillares zur V. retromandibularis und über die V. palatina zur V. facialis.

Die Lymphbahnen aus dem Nasennebenhöhlengebiet schließen sich im Wesentlichen dem Verlauf der Venen an. Die wichtigsten Lymphknotenstationen sind die retropharyngealen Lymphknoten und die tiefen Halslymphknoten entlang der Gefäßscheide. Die nervale Versorgung der

Nasennebenhöhlen erfolgt über den N. maxillaris und den N. ophthalmicus, beide aus dem N. trigeminus.

Der N. ophthalmicus (V_1) verläuft vom Ganglion trigeminale aus und tritt durch die Fissura orbitalis superior in die Orbita ein. Zuvor teilt er sich in seine drei Äste, den N. nasociliaris, den N. frontalis und N. lacrimalis (an der nervalen Versorgung der Nebenhöhlen nicht beteiligt). Der N. nasociliaris gibt die Nn. ethmoidales posterior und anterior ab, die durch die gleichnamigen Foramina zu den Nebenhöhlen ziehen. Während der relativ dünne N. ethmoidalis posterior die hintere Siebbeinzellen und die Keilbeinhöhle versorgt, verläuft der N. ethmoidalis anterior mit seinen Ästen zu den mittleren und vorderen Siebbeinzellen sowie zur Stirnhöhle. Zusätzlich versorgt er Teile der Nasenhöhle und der äußeren Nase.

Der N. maxillaris (V_2) verläuft vom Ganglion trigeminale (Gasseri) und tritt durch das Foramen rotundum in die Flügelgaumengrube ein. Hier teilt er sich in seine drei Hauptäste, den N. pterygopalatinus, den N. zygomaticus (an der nervalen Versorgung der Nebenhöhlen nicht beteiligt) und den N. infraorbitalis. Der N. infraorbitalis gelangt von der Flügelgaumengrube aus durch die Fissura orbitalis inferior an den Boden der Orbita, den er im Sulcus sowie später im Canalis infraorbitalis durchzieht. Er gibt drei Äste ab, die Rr. alveolares superiores posterior, medius und anterior, die den Oberkiefer und damit auch die Kieferhöhle versorgen.

Sympathische und parasympathische Fasern benutzen die Bahnen der sensiblen Trigeminae, um zu ihren Erfolgsorganen, also auch zu den Nebenhöhlen, zu gelangen. Aus ursprünglich rein sensiblen werden auf diese Weise gemischte Nerven, die neben den sensiblen auch parasympathisch-sekretorische und sympathische Fasern führen (Schiebler u. Schmidt 1991; Lee 1995; Boenninghaus 1993).

2.2 Histologie der Nasenhaupthöhle und der Nasennebenhöhlen

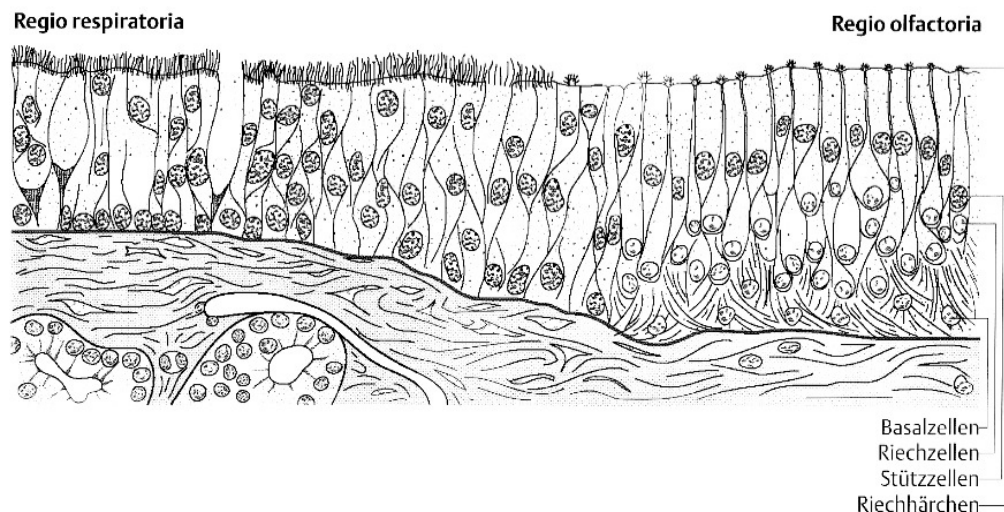
In der Nasenhaupthöhle (Cavum nasi) liegt die Mukosa auf dem Knochengewebe der Nasenmuschel und des Knochen- und Knorpelgewebes des Nasenseptums. Es werden eine Regio respiratoria und eine Regio olfactoria (Dach der Nasenhaupthöhle) unterschieden.

Die Regio olfactoria enthält Riechsinneszellen und ist nur ein kleiner Bezirk (ca. 5 cm^2) auf der oberen Muschel. Die Chemorezeptoren der Nasenschleimhaut liegen im mehrreihigen prismatischen, hellbräunlich pigmentierten Riechepithel (olfaktorisches Epithel). Dieses Epithel ist bis zu $60 \mu\text{m}$ dick und somit erkennbar dicker als im übrigen Bereich der Schleimhaut der Nasenhaupthöhle.

Das olfaktorische Epithel enthält weder Becherzellen noch Flimmerepithelzellen. Die typischen Zellen sind (Abb. 7):

- Riechsinneszellen
- Mikrovilluszellen
- Stützzellen und
- Basalzellen

Abb. 7 Histologische Darstellung der Nasenschleimhaut (Klimek et al. 2002)



Die obere Schicht des Epithels enthält fast keine Kerne und fällt daher als helles Band auf. Unter dem Riechepithel finden sich tubulös verzweigte, seröse Bowmann-Spüldrüsen (Gll. olfactoriae), die ein auffallend weites Lumen besitzen. Das Sekret ist sowohl Spülmittel als auch Lösungsmedium für Geruchstoffe (Klimek et al. 2002).

Das weitaus größte Teil der Nasenhaupthöhle gehört zur Regio respiratoria. Diese besitzt:

- Ein mehrreihiges hochprismatisches Flimmerepithel mit einer Schlagfrequenz der Zilien von 10-20/s und einzelne endoepitheliale muköse Drüsen,
- gemischte seromuköse Drüsen in der Lamina propria und
- als Besonderheit einen speziellen Venenplexus, der die Funktion eines Schwellkörpers besitzt.

Die Nasennebenhöhlen (Sinus paranasales) werden wie die Nasenhaupthöhle von respiratorischem Epithel ausgekleidet, das aber relativ niedrig ist und weniger Becherzellen enthält. Seromuköse Drüsen sind selten, die Mukosa ist relativ dünn. Der von den Flimmerhaaren bewegter Schleimstrom ist auf die natürlichen Öffnungen der Nebenhöhlen (Ostien) gerichtet und wandert mit einer Geschwindigkeit von ca. 1 cm/min auf diese zu (Grevers u. Grantzow 1998).

2.3 Mukoziliärer Transport und Nasenschleim

Eine besondere Eigenschaft des Flimmerepithels stellt der mukoziliäre Transport dar. Das Epithel besteht aus zilienträgenden (70-80%) und zilienlosen Flimmerzellen sowie Becher- und Basalzellen. Die Becherzellen enthalten große Muzingranula, die nach Ruptur der Zellmembran in das freie Lumen ausgestoßen werden. Bei den zilienträgenden Flimmerzellen sorgt das Zytoskelett für die spezifische Leistung des nasalen Flimmerepithels. Ihre Struktur ist charakterisiert durch die Anwesenheit von 50-300 Zilien am apikalen Pol einer Zelle. Diese Zilien sind 6-7 μm lang und haben einen Durchmesser von 0,2 μm . Die Zilien haben dabei eine Schlagfrequenz von ungefähr 1000 Schlägen pro Minute und arbeiten optimal bei einer Temperatur von 37°C und einer relativen Feuchtigkeit von über 80%. Jeder Zyklus besteht aus zwei Phasen, einer raschen Arbeits- und einer langsamen Erholungsphase. In der Arbeitsphase wird das Zilium leicht nach vorn gebogen, wobei es den Schleimfilm mitzieht. Dann richtet es sich wieder auf, um schließlich in seine Ruhestellung zurückzukehren. Diese Beugung der Zilien im Verlaufe eines Zyklus erklärt das Auftreten von Wellenbewegungen des Schleimfilms. Die eigentliche Bewegungsenergie wird durch Gleitfilamente gewährleistet, deren Dynein-Arme ähnlich wie beim Actin-Myosin-Mechanismus in Muskeln ATP spalten. Die Aktivität der Zilien wird durch β_2 -sympathomimetische Substanzen beschleunigt, während α_1 - und α_2 -Sympathomimetika die Frequenz verringern (Hybbinette u. Mercke 1982; Deitmer 1983).

Durch das Zusammenspiel der gerichteten Flimmerschlagaktivität und des zweischichtigen Schleimfilms kommt es zu einer kontinuierlichen physikalisch-mechanischen Reinigung innerhalb der Nase. Der Nasenschleim besitzt durch seine besondere Zusammensetzung bakteriostatische und bakterizide Eigenschaften (s.u.). Dem Atemstrom zugewandte Seite besteht aus einem viskös-mukösen (Gel-Komponente), die darunterliegende Schicht aus einem dünnflüssigen serösen (Sol-Komponente) Schleimfilm. Die Schleimschicht weist eine durchschnittliche Dicke von 10 μm auf (Terrahe 1970). In der Nase kommt es zum aktiven Transport in Richtung Nasenrachenraum, wo dann der Schleim geschluckt oder ausgespuckt wird. Nur in den vordersten Abschnitten des Nasenseptums findet ein Transport nach vorn statt. Der nasale Schleim besteht zu 95-99% aus Wasser. Die wichtigsten anorganischen Elemente sind Natrium, Kalium, Calcium und Chlor. In der organischen Phase findet man Serumalbumine (46% der Gesamtproteine), Globuline (besonders γ -Globulin) und Glykoproteine (Muzin), ferner Aminosäuren, Ascorbinsäure, Histamine, Bradykinin und außerdem zahlreiche Enzyme (z.B. Lysozym) (Breuninger 1964; Deitmer 1983).

Bei Patienten mit endonasaler Polyposis ist die mukoziliäre Clearance stark verlangsamt. Mögliche Erklärung wäre eine histologische Modifikation des nasalen Epithels. Die Nasenpolypen weisen überwiegend Epithelhyperplasien, einschichtiges kubisches Epithel oder Plattenepithel auf mit nur wenigen zilienträgenden Zellen (Coromina u. Sauret 1990).

2.4 Allgemeine Abwehrmechanismen und immunologische Vorgänge in der Nasenschleimhaut

Die nasale Schleimhaut stellt die erste Abwehrlinie gegen inhalierte Antigene und Fremdstoffen dar. Neben einer Reihe von unspezifischen Abwehrmechanismen wie dem Mukoziliarapparat, dem antimikrobiellen Schutz durch Laktoferrin, Peroxidasen, Proteasen, Interferone und Lysozyme im Nasensekret und der Phagozytose durch Granulozyten und Makrophagen, sind auch immunologische Abwehrmechanismen wie die T-Zell vermittelte Zytotoxizität und die B-Zell vermittelte Antikörperproduktion beteiligt (Abb. 8) (Bernstein 1992; Kaliner 1992).

Insgesamt muss das Schleimhautimmunsystem als separate Einheit angesehen werden, das auf andere Weise als das systemische Immunsystem reguliert wird. Es kann unterteilt werden in eine induktive Komponente, das lymphoide Gewebe des Waldeyerschen Rachenringes, die der Aufnahme, Prozessierung und Präsentation von Antigenen dient, und in eine effektive Komponente, die Nasenschleimhaut, für die Phagozytose durch immunkompetente Zellen (McGhee u. Kiyono 1994).

Da die Nasenschleimhaut selbst kein lymphatisches Gewebe besitzt, sondern reines Effektorgebiet ist, stellt der Waldeyersche Rachenring mit Organstrukturen wie den Tonsillae palatinae, Tonsillae pharyngeae et linguales, das **Mukosa Assoziierte Lymphatische Gewebe (Tissue) – MALT** des oberen Respirationstraktes dar (Bernstein 1992).

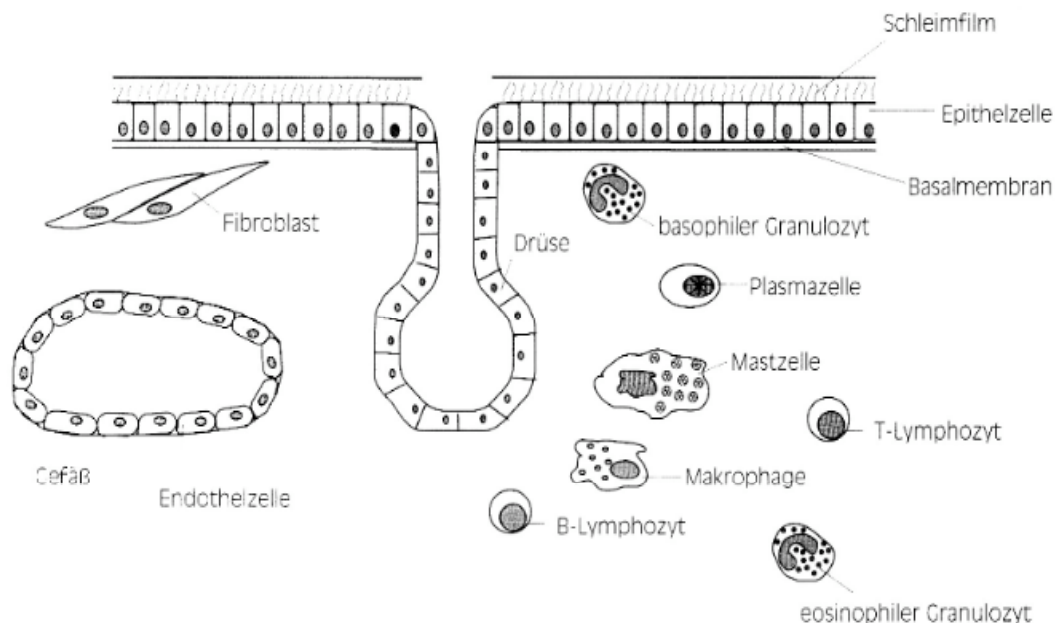
Die im MALT beherbergten, unreifen B-Lymphozyten werden unter anderem durch Zytokine, die von lokal aktivierten T-Zellen und Makrophagen sezerniert werden, stimuliert und aktiviert, werden dadurch zu reifen B-Zellen und migrieren dann via Gefäßsystem in die sekretorischen Effektorgebiete (Bachert u. Moller 1990). Ihr Austritt aus den Kapillaren und postkapillären Venolen in das betreffende Gebiet wird durch Adhäsionsmoleküle, die teilweise auf den Zellen, teilweise auf dem Endothel exprimiert und durch chemotaktische Stoffe gesteuert sind (Bachert u. Ganzer 1993).

Reife, rekrutierte B-Zellen differenzieren auf erneuten Zytokinstimulus zu immunglobulinproduzierenden Plasmazellen, die vermehrt um die seromukösen Drüsen gefunden werden. Deren lokal produzierte Immunglobuline bestehen hauptsächlich aus IgA-Dimeren und werden selektiv durch die glandulären Zellen mittels eines epithelialen Rezeptors transportiert. Sekretorische Antikörper (sIgA) bilden den Oberflächenschutz gegen lösliche Antigene und infektiöse Agentien, die sogenannte Immunexklusion (Brandtzaeg 1988a u. 1988b; Brandtzaeg 1995).

Wenn die Exklusion von penetrierendem Antigen nicht erfolgreich ist, können nicht-lymphoide HLA-DR (**human leukocyte antigens**) positive Zellen wie Makrophagen oder Epithelzellen als antigenpräsentierende Zellen für T-Lymphozyten fungieren und so die Immunreaktion regulieren (Immunregulation) (Ganz 1985). Ihre vorrangige Wirkung haben diese antigenpräsentierenden

Zellen auf CD8-positive T-Lymphozyten; es kommt zur Immunelimination. Ist diese nicht erfolgreich, setzen aktivierte T-Helferzellen einen persistierenden Entzündungsprozess mit durch erhöhte Expression von Adhäsionsmolekülen bedingter Extravasation und „Priming“ von Granulozyten in Gang (Brandtzaeg 1995).

Abb. 8 Darstellung der an der nasalen Abwehr beteiligten Zellen und Organe (Grevers u. Grantzow 1998)



2.5 Die Granulozyten

Aufgrund des Färberegebnisses im Pappenheim gefärbten Ausstrich unterscheidet man Granulozyten in:

- neutrophile Granulozyten
- eosinophile Granulozyten und
- basophile Granulozyten.

Der Name Granulozyten beruht auf die Existenz zahlreicher Granula im Zytoplasma. Diese färben sich entweder mit sauren Farbstoffen wie Eosin oder mit basischen Farbstoffen wie Methylenblau und Azur an. Die Granula der neutrophilen Granulozyten sind klein und färben sich sowohl mit dem sauren als auch dem basischen Farbstoff rosa oder violett an. Die relativ großen Granula der eosinophilen Granulozyten färben sich kräftig eosinrot an. Die ebenfalls relativ großen Granula der basophilen Granulozyten nehmen mit den basischen Farbstoffen eine tiefblauschwarze Farbe an.

Die Kerne der reifen Granulozyten sind dunkel und in unregelmäßiger Art und Weise in Segmente gegliedert, die durch schmale Kernanteile („Kernbrücken“)

miteinander verbunden sind. Die Kerne der Neutrophilen besitzen meist 3-4 schlanke Segmente, die der Eosinophilen und Basophilen meist 2 plumpe Segmente. Die Kerne der Basophilen können auch abgerundet oder eingekerbt sein (Welsch 2003).

2.5.1 Der eosinophile Granulozyt

Paul Ehrlich (1854-1915) entdeckte 1879 eine Blutzelle, deren zytoplasmatische Granula sich mit dem saueren Farbstoff Eosin anfärben ließen, und gab daher dieser Zellen den Namen „eosinophiler“ Granulozyt. Die 11-14 µm großen Eosinophilen besitzen zumeist einen zweig gelappten Kern und charakteristische eosinophile (rote), relativ große zytoplasmatische Granula, die generell Lysosomencharakter haben und im elektronenmikroskopischen Präparat ein kristallines Zentrum erkennen lassen. Dieses charakteristische Zentrum (Core) besteht aus einem hochtoxischen, stark basischen, argininreichen Protein mit Histaminaseaktivität, dem:

- **Major Basic Protein (MBP)**

und einer Matrix mit:

- **Eosinophil Derived Neurotoxin (EDN)** bzw. **Eosinophil Protein X (EPX)**
- **Eosinophil Cationic Protein (ECP)**
- **Eosinophil Peroxidase (EPO)**
- Metallen wie Zink und Kupfer

MBP, ECP und EPO sind potente Toxine gegen Bakterien und Parasiten und führen bei Mastzellen und Basophilen zur Degranulation mit Histaminfreisetzung (Barnes et al. 1998). Außerdem sind sie als Mediatoren bei der Polyposis nasi und anderen eosinophilen Krankheitsbildern beteiligt.

Im Zytoplasma kommt auch das Charcot-Leyden-Kristallprotein vor, das im Sputum von Asthmapatienten zu finden ist und Lysophospholipaseaktivität besitzt und wahrscheinlich eine Rolle bei der Entgiftung von Lysophospholipiden spielt.

Eosinophile können phagozytieren und sind viel langlebiger als die Neutrophilen. Eosinophile besitzen Fc-Rezeptoren, mit deren Hilfe sie sich an antikörperbedeckte (IgG und/oder IgE) Parasiten oder Parasitenlarven binden können, woraufhin sie diese abtöten können (Welsch 2003).

Unter physiologischen Bedingungen finden sich keine Eosinophilen im Nasensekret oder im Nasenschleimhautepithel, jedoch lassen sich zum Teil bis zu 70% in Nasenpolypen finden und bis zu 10% in der Nasenschleimhaut von Allergikern. Die Eosinophilen im Polypengewebe sind besonders zytotoxisch; ihre toxischen Granula und Sauerstoffradikale ermöglichen ihnen, direkt das Epithel, zu schädigen; MBP und EPO sind in vitro toxisch für das Nasenepithel.

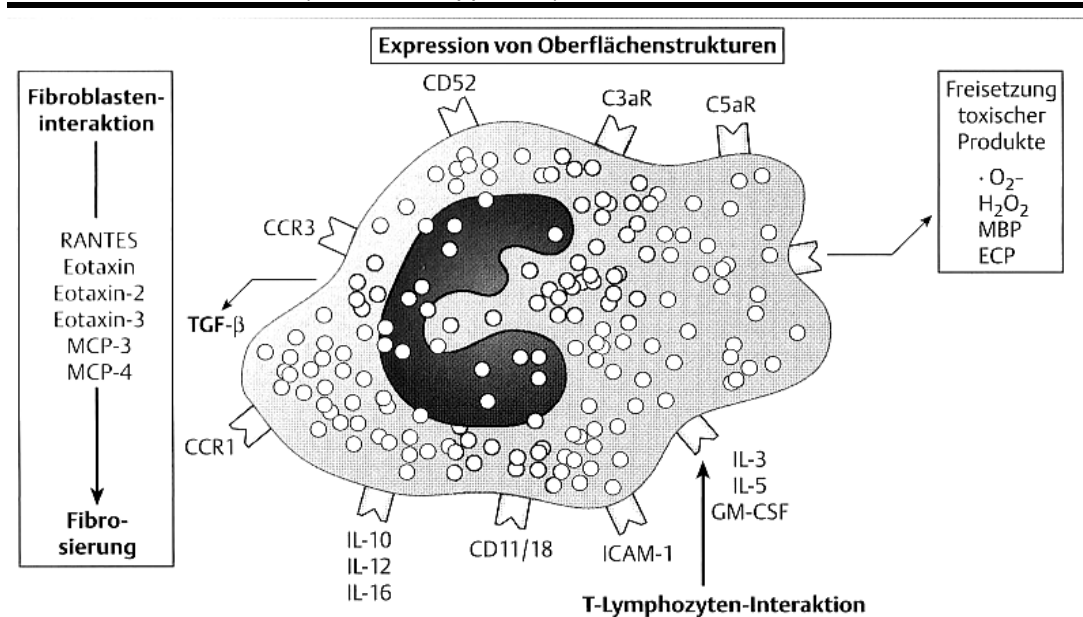
Diese Substanzen können eine Autolyse des Epithels oder eine Lockerung des bedeckenden Zellverbandes verursachen und von Ziliostasis oder Zilienverlust und Schleimhautschwellung begleitet werden, was zum Zusammenbruch der Selbstreinigungsprozesse, der sog. mukoziliären Clearance führt (Brandtzaeg 1995).

In Abhängigkeit von der Art der Stimulation sezernieren die eosinophilen Granulozyten in unterschiedlicher Menge die verschiedenen toxisch wirkenden basischen Proteine:

- Durch Ig-G vermittelte Stimulation: ECP-Sezernierung ↑; EPO ↓
- Durch Ig-E vermittelte Stimulation: EPO-Sezernierung ↑; ECP ↓
- Durch Ig-A vermittelte Stimulation: ECP-Sezernierung = EPO-Sezernierung

Neben den oben genannten Substanzen können Eosinophile auch Lipidmediatoren sezernieren. Zu diesen Stoffen gehören vor allem der Plättchen-aktivierende Faktor (PAF), die Leukotriene C₄ und D₄ und Prostaglandine E₂ (PGE₂).

Abb. 9 Unterschiedliche Funktionen eosinophiler Granulozyten und die Interaktion mit anderen Zellen (Elsner u. Kapp 2002)



Die wichtigste Erkenntnis ist aber, dass der Eosinophile selbst in der Lage ist eine Vielzahl an Faktoren wie Chemokine (Eotaxin) und Zytokine (IL-1 α , IL-3, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , GM-CSF, TNF- α , MIP-1 α (monocyte inflammatory protein), TGF- α , TGF- β) zu synthetisieren und zu speichern. Dadurch sind diese Zellen potentiell in der Lage, ihre eigene Funktion und damit das Entzündungsgeschehen selbst zu beeinflussen (Harlin et al. 1988; Broide et al.

1992; Costa et al. 1993; Martin et al. 1996; Lamkhioued 1996; Nakajima et al. 1996). Eosinophile produzieren sowohl aktivierende Faktoren (IL-3, IL-5, GM-CSF etc.) als auch Zytokine wie IL-10 und TGF- β , für die in vitro eine hemmende Wirkung gezeigt werden konnte (Luttmann et al. 1998a u. 1998b).

Des Weiteren interagieren Eosinophile mit APCs (antigenpräsentierenden Cells/Zellen), Mastzellen und T-Lymphozyten, die über Zytokine wie IL-3, IL-5 und GM-CSF wiederum einen lebensverlängernden Einfluss auf die Erstgenannten haben und auch deren Reifung und Aktivität beeinflussen. Damit zeigt sich, dass eosinophile Granulozyten in mannigfaltiger Weise an vielen molekularbiologischen Reaktionen aktiv teilnehmen (Abb. 9) (Kramer u. Rasp 1999).

2.5.2 Eosinophiles Cationisches Protein (ECP)

ECP ist ein basisches Protein mit einem Molekulargewicht von 21.000 Dalton. Es ist nahezu ausschließlich in eosinophilen Granulozyten und wird nur von aktivierten Eosinophilen freigesetzt (Venge 1994). ECP ist der wichtigste und potenteste Mediator der eosinophilen Granulozyten mit der größten Toxizität. Es hat eine stark neurotoxische und helminthotoxische Wirkung, sowie eine zytotoxische Wirkung auf das respiratorische Epithel. Da Mediatoren im Zuge der Zellaktivierung ausgeschüttet werden, kann die Aktivität der eosinophilen Granulozyten und somit die Aktivität einer Entzündung im Respirationstrakt anhand der Höhe des ECP-Spiegels im Blut gemessen werden. Erhöhte ECP Werte wurden auch unter anderem mit aktivierten Eosinophilen in Zusammenhang stehenden Bedingungen wie z.B. Asthma bronchiale (Arm u. Lee 1992), atopischer Dermatitis (Kapp et al. 1991), Morbus Crohn, Colitis ulcerosa, Zöliakie (Hallgren et al. 1989) und bei parasitären Erkrankungen gefunden (Venge 1993). In einer Studie mit 95 gesunden Erwachsenen, davon 44 männlich und 51 weiblich, im Alter zwischen 18 und 76 Jahren wurden folgende ECP-Werte gefunden: Geometrischer Mittelwert 5,5 $\mu\text{g/l}$ und die 90er und 95er Perzentile lag bei 11,1 bzw. 13,3 $\mu\text{g/l}$ (Arm u. Lee 1992).

2.5.3 ECP im Nasensekret

Bei entzündlichen Schleimhauterkrankungen von Nase und Nasennebenhöhlen werden erhöhte Konzentrationen des ECP im Nasensekret gefunden. Untersucht wurden Proben von Patienten mit allergischer Rhinitis mit saisonalen und perennialen Inhalationsallergien, chronischer Sinusitis und Polyposis nasi. Die entsprechenden Serumuntersuchungen zeigten nur teilweise leicht erhöhte Werte, da das betroffene Schleimhautareal relativ klein und die Anzahl aktivierter Eosinophiler niedriger ist als bei allergischem Asthma bronchiale oder atopischer Dermatitis. Da ECP-Spiegel in Nasensekret und Blutserum bei Allergenbelastung ansteigt und unter Allergenkenz oder antiallergischer Therapie abfällt, wird die ECP-Bestimmung daher hauptsächlich zum Therapiemonitoring eingesetzt (Klimek u. Rasp 1996; Rasp 1998).

2.6 Entzündliche Nasennebenhöhlenerkrankungen

Die Rhinosinusitis gehört zu den häufigsten Atemwegserkrankungen. In Deutschland leiden etwa 6 Millionen Menschen an einer akuten und 3 Millionen an einer chronischen Entzündung der Nasennebenhöhlen. Per definitionem handelt es sich bei der Rhinitis um eine Entzündung der Nasenschleimhäute und bei der Sinusitis um eine Entzündung der Nasennebenhöhlen. Vielfach wird im letzteren Fall jedoch auch von „Rhinosinusitis“ gesprochen, da die Schleimhaut der Nasenhaupthöhle fast immer mitbetroffen ist (Gwaltney et al. 1994). Nach dem zeitlichen Verlauf unterscheidet man akute und akut-rezidivierende Sinusitiden von der chronischen Sinusitis (Tab. 1). Bei längerem Verlauf ist zur eindeutigen Klärung der Diagnose eine Computertomographie erforderlich (Lund u. Kennedy 1995).

Tab.1 Unterschiedliche Verlaufsformen der Rhinosinusitis (Lund u. Kennedy 1995)

Akute Sinusitis	<ul style="list-style-type: none">• Symptombdauer unter 8 Wochen• weniger als 4 Episoden pro Jahr• keine bleibenden Schleimhautveränderungen
Akut-rezidivierende Sinusitis	<ul style="list-style-type: none">• mindestens vier Episoden einer akuten Sinusitis pro Jahr• Symptombdauer jeweils unter 8 Wochen keine bleibenden Schleimhautschäden
Chronische Sinusitis	<ul style="list-style-type: none">• Symptombdauer \geq 8 Wochen (bei Kindern \geq 12 Wochen) oder• \geq 4 Sinusitis-Episoden pro Jahr mit bleibenden Schleimhautveränderung (CT)

Sowohl die akute als auch die chronische Entzündung betrifft bei Erwachsenen am häufigsten den Sinus maxillaris und die Cellulae ethmoidales, danach den Sinus frontalis und am seltensten den Sinus sphenoidalis.

Wesentlich für das Verständnis der entzündlichen Nasennebenhöhlenerkrankungen ist, dass das Sekret aus verschiedenen Nasennebenhöhlen durch mehrere Engstellen per aktiven Transport entweder in den mittleren Nasengang oder das Infundibulum ethmoidale befördert wird. Dabei kommt dem Zilienschlag der Mukosa eine entscheidende Bedeutung zu. Die physiologischen Engstellen sind insbesondere die Ostien der einzelnen Höhlen, wie der Recessus frontalis, das Infundibulum ethmoidale und der Hiatus semilunaris. Durch sie findet sowohl die Ventilation, als auch die Drainage der Nasennebenhöhlen statt (Stammerger et al. 1987).

2.6.1 Akute Sinusitis

In den meisten Fällen ist die akute Nasennebenhöhlenentzündung rhinogen bedingt. Sie kann bei jedem banalen Schnupfen auftreten. Häufig findet sich jedoch lediglich eine asymptomatische Begleitsinusitis, da die Nebenhöhenschleimhaut mit Mukosa der Nasenhaupthöhle kommuniziert und deshalb immer an entzündlichen Prozessen mitbeteiligt ist. Als Auslöser der akuten Rhinitis kommen in erster Linie Viren (Rhino-, Corona-, Influenza-, Adenoviren) in Frage. Bei den Bakterien sind vor allem *Haemophilus influenzae* und *Streptococcus pneumoniae* von Bedeutung, während Anaerobier vergleichsweise selten vorkommen (Albegger 1992b). Durch die Viren kommt es zur entzündlichen Schleimhautschwellung und -schädigung. Dadurch wird die natürliche Selbstreinigungsfunktion der Schleimhäute (mukoziliäre Clearance) beeinträchtigt und die Einwanderung von Bakterien in die sonst sterilen Nasennebenhöhlen erleichtert (Hosemann 2001).

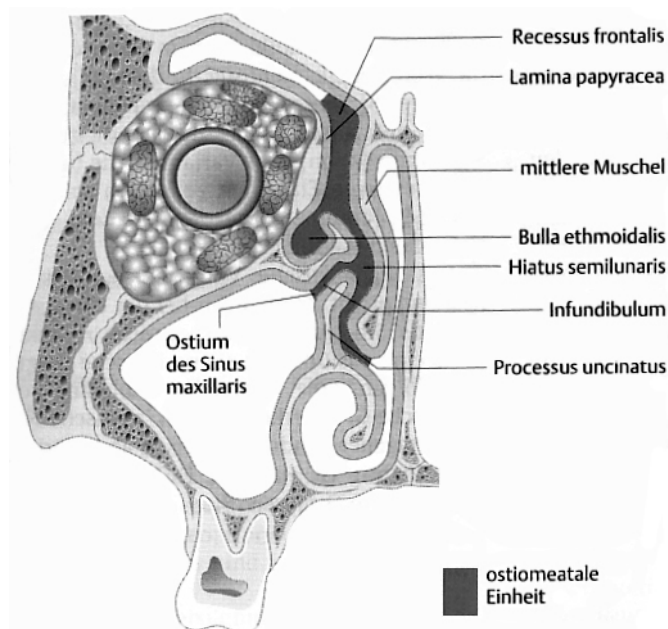


Abb. 10 Die ostiomeatale Einheit (Probst et al. 2000)

Ob es im Rahmen einer akuten Rhinitis zur symptomatischen Fortleitung in die Nasennebenhöhlen mit Ausbildung einer akuten Sinusitis kommt, hängt grundsätzlich von verschiedenen Faktoren ab. Es sind hier die funktionell-anatomischen Besonderheiten (ostiomeatale Einheit) zu beachten (Probst et al. 2000).

Die eigentliche Drainage von Stirn- und Kieferhöhle findet im mittleren Nasengang statt. Dort befindet sich eine Knochenlamelle (Processus uncinatus), die das primäre Kieferhöhlenfenster abdeckt (Abb. 10).

Dahinter liegt die voluminöse Siebbeinzelle, die Bulla ethmoidalis. Zwischen dem Processus uncinatus und der Bulla ethmoidalis befindet sich der Hiatus semilunaris, der eine spaltförmige Öffnung darstellt (Simmen 1995). Eine entzündliche Schwellung der Nasenschleimhaut kann zum Verschluss dieser Engstellen führen, so dass die Nasennebenhöhlen nicht mehr belüftet und drainiert werden. Eine mangelhafte Ventilation und Drainage im Nasennebenhöhlenbereich, führt im Endeffekt zur Ansammlung von Sekret und zu einer Begünstigung der Besiedlung durch pathogene Keime (Weerda 1988; Hosemann 2001).

Der mittlere Nasengang stellt somit als „eigentliche Drainagezone“ einen wichtigen Anhaltspunkt für die Diagnostik von Nasennebenhöhlenerkrankungen dar (Simmen 1995). Das Ostium im Bereich des Hiatus semilunaris mündet zusammen mit dem vorderen Siebbein und der Stirnhöhle in das trichterähnliche Infundibulum ein. Das Infundibulum ist eine vergleichsweise enge Stelle, deren Blockierung eine rhinogene Sinusitis maxillaris nach sich zieht (Weerda 1988).

Die Genese der rhinogenen Sinusitis ist somit von der Durchgängigkeit der Ausführungsgänge (Ostien) der Stirn- und Kieferhöhle abhängig, die mit den Strukturen im Siebbeinzellsystem in Verbindung stehen (Simmen 1995). So kann allein eine Funktionsstörung im Bereich des Ostium maxillare schon eine rhinogene Sinusitis verursachen. Andere Ursachen sind Veränderungen von Drainage und Ventilation oder vorgeschaltete Hindernisse wie z.B. Nasenpolypen.

Spezielle Formen der akuten Nasennebenhöhlenentzündung sind die dentogene Sinusitis (apikale Parodontitis, infizierte odontogene Zyste, Mund-Antrum-Verbindung im Rahmen von Wurzelspitzenresektionen, MAV die primär verschlossen wird, verursachen in der Regel keine Sinusitis maxillaris, Wurzelrest, der beim Versuch der Entfernung in die Kieferhöhle gelangt oder ein verlagertes Zahn), die nosokominale Sinusitis im Rahmen einer nasalen Intubation sowie die Barosinusitis, die bei Druckschwankungen beim Fliegen oder Tauchen entstehen kann. Die Symptomatik besteht aus Gesichts- und Kopfschmerzen, die sich vor allem beim Bücken verstärken, Abgeschlagenheit, Fieber und einer eitrigen Rhinorrhoe aus den Nebenhöhlenostien (Krause 1992; Grevers u. Grantzow 1998).

Die Therapie besteht zunächst aus symptomatischer Behandlung mit abschwellenden Nasentropfen sowie eine lokale Wärmeapplikation mit Kopfbad und Dampfinhalationen mit Kamille oder Salbei. Bei Gefahr sinugener Komplikationen sollte eine antibiotische Therapie, möglichst erregerspezifisch, eingeleitet werden. Operative Maßnahmen können notwendig werden, wenn die Beschwerdesymptomatik auf die genannten Therapiemodalitäten nicht rückläufig ist sowie bei persistierendem Empyem der Nasennebenhöhlen (Boenninghaus 1993; Berghaus et al. 1996; Probst et al. 2000).

2.6.2 Die Polyposis nasi eine Sonderform der chronischen Rhinosinusitis (CRS)

Die Polyposis nasi (poly-pous, griech.: „vielfüßig“) ist schon seit über 3000 Jahren bekannt und stellt die größte Gruppe von tumorartigen Veränderungen in der Nase dar. Berühmte Ärzte der Geschichte beschäftigten sich mit diesem Krankheitsbild. So verglich Aurelius Celsus zu Zeiten der Regentschaft von Tiberius Caesar das Erscheinungsbild der Polypen mit den Brustwarzen einer Frau, wohingegen diese Avicenna (980-1037) an Hämorrhoiden erinnerten. Auch Paget (1814-1899) und Virchow (1821-1902) haben sich wissenschaftlich mit den möglichen Ursachen der Polypenentstehung beschäftigt.

Bei der Polyposis nasi handelt es sich um eine Erkrankung, deren Inzidenz in der Literatur mit 0,2-28% angegeben wird und vermutlich um die 4% liegt (Hosemann u. Wigand 1985; Kirsch u. White 1990; van der Baan 1997; Hedman et al. 1999). Die Inzidenz der Polyposis nasi steigt mit dem Lebensalter an und beträgt bis zum 20. Lebensjahr etwa 1%, zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr etwa 4% und über dem 40. Lebensjahr etwa 12%. Männer sind doppelt so häufig betroffen wie Frauen (Kirsch u. White 1990; Aachener Gespräche zur Allergologie 1995). Bei Kindern und Jugendlichen sind Polypen mit einer Prävalenz unter 0,1% selten (Settipane 1996).

Nasenpolypen sind entzündliche Wucherungen ödematöser Schleimhaut. Es handelt sich um eine Sonderform der chronischen Sinusitis (Hosemann 2001). Pathogenetisch spielt auch hier die ostiomeatale Einheit eine bedeutende Rolle. Prädilektionsstelle ist der mittlere Nasengang mit den Ostien von Kieferhöhle, vorderen Siebbeinzellen und Stirnhöhle. Prinzipiell können sie aber überall in Nasenhaupt- und Nebenhöhlen bei jeder Art der chronischen Rhinitis entstehen (Probst u. Grevers 2000).

Die Beschwerdesymptomatik reicht von Behinderung der Nasenatmung sowie des Riechvermögens (Hyposmie bis Anosmie) und näselnder Sprache (Rhinophonia clausa) bis zu wässriger und teilweise sogar eitrigem Rhinorrhoe mit Gesichtskopfschmerzen bei Kombination mit einer chronischen Sinusitis (Ganz 1985).

Die Befunderhebung erfolgt bei der Polyposis nasi mit Hilfe der Rhinoscopia anterior. Bei den Polypen, deren Vorkommen auf das Nasennebenhöhlenlumen beschränkt ist, kann man den Befund mit Hilfe der A-Mode Sonographie erheben, wobei sich im Echogramm neben dem Vorderwandecho ein weiteres Echo zeigt, das sich an der Grenzschicht zwischen dem polypösen Gewebe und der Luft bildet. Bei der NNH- Röntgenaufnahme werden die Polypen als Verschattungen in den Nasengängen oder den Nasennebenhöhlen erkennbar (Boeninghaus 1993). Allerdings werden mit der Computer-Tomographie (CT-NNH) die anatomischen Verhältnisse der Nasen- und Nasennebenhöhlenregion und deren pathologische Veränderungen am genauesten wiedergegeben, so dass die Nasenpolypen sich in der Gestalt runder gestielter oder breitbasig auf

der Schleimhaut sitzender Formierungen, von der Umgebung abgegrenzt, darstellen lassen (Ilberg et al. 1990; Stammberger u. Kennedy 1995).

Hinsichtlich der Ätiologie und Pathogenese wird eine Vielzahl von Faktoren diskutiert (Hosemann u. Wigand 1985; Linder et al. 1993; Liu et al. 1994). Wie es letztlich zur Polyposis nasi, diesem „Prolaps ödematös gequollener Nasennebenhöhlen-Schleimhaut“ (Albegger 1992a), kommt ist nicht im Einzelnen geklärt. Mit Sicherheit handelt es sich um ein komplexes Krankheitsbild, an dem mehrere Faktoren beteiligt sind (Rudack u. Bachert 1999). Neben genetischen Ursachen (z.B. Mukoviszidose) wird vor allem ein chronischer Reizzustand der Schleimhaut, z.B. bei chronischer Rhinitis oder Sinusitis, der zur Schleimhauthyperplasie führt, aber auch im Rahmen der allergischen Rhinitis, sowie bei Azetylsalicylsäureintoleranz (ASS-Pseudoallergie, 6-15% mit Nasenpolypen) angeschuldigt (May et al. 2000). Eine chronische Infektion, bedingt durch Retroviren, Bakterien oder Allergie kann über einen ausgelösten Immundefekt die Entzündung prolongieren. Auch aerodynamische Faktoren (Septumdeviation und Muschelhyperplasie), hormonelle, enzymatische (Störungen im Kohlenhydratmetabolismus), lymphatische und nervale Störungen wurden diskutiert (Small et al. 1981; Hosemann et al. 1990), bisher aber nicht bewiesen. Vor allem bei Kindern treten Nasenpolypen im Zusammenhang mit der Mukoviszidose, dem „immotile cilia syndrome“ und dem Kartagener-Syndrom auf (Imbrie 1981). Die Polyposis nasi ist aber nicht nur ätiologisch uneinheitlich und aller Wahrscheinlichkeit nach multifaktoriell bedingt, sondern zeigt auch morphologisch ein sehr variables Erscheinungsbild. Die Nasenpolypen imponieren makroskopisch als meist beidseitig auftretende glasig-transparente, hellgraue, oft traubenförmige, geschwulstähnliche Wucherungen der Nasenschleimhaut.

Man kann Polypen histologisch grob in vier Kategorien unterteilen (Hellquist 1996):

- Den ödematös-eosinophilen Typ (85-90%) mit ödematös aufgelockertem Interstitium, Becherzellhyperplasie im respiratorischen Epithel und vielen eosinophilen Granulozyten.
- Den chronisch-entzündlichen Typ (< 10%) bei dem Kollagenfibrillen und Fibroblastenproliferationen imponieren mit Lymphozyteninfiltraten, teilweise mit eosinophilen Granulozyten durchsetzt.
- Den seromukös-drüsig hyperplastischen Typ (< 5%) mit dominierenden seromukösen Drüsen.
- Den „atypischen“ Typ (< 1%), der differentialdiagnostisch von einer Neoplasie zu unterscheiden ist.

Genauer betrachtet können die Nasenpolypen histologisch sehr unterschiedlich aufgebaut sein, wobei innerhalb eines Polypen vier Komponenten eine Rolle spielen (Tab. 2).

Tab. 2 Unterschiedliche histologische Polypentypen (Hellquist 1996)

Epithel	Stroma	Zellen	Strukturen im Stroma
- Flimmerepithel	- Ödematös	- Eosinophil	- Adenomatös
- Becherzellen	- Fibrös	- Neutrophil	- Zystisch
- Übergangsepithel	- „Atypisch“	- Basophil	- Angiomatös
- Plattenepithel		- Mastzellreich	

Der Polyp kann mit mehrstufigem respiratorischen Flimmerepithel überzogen sein, jedoch finden sich auch häufig Areale mit Plattenepithelmetaplasien und Basalzellhyperplasien (Ganz 1985). Das Stroma ist im Allgemeinen ödematös, bei älteren Polypen mehr fibrös. Gelegentlich kann es auch durch Unregelmäßigkeiten der Fibrozyten und Fibroblasten gekennzeichnet sein („atypische“ Form). Die zelluläre Infiltration kann ganz unterschiedlich sein, vielfach dominieren Eosinophile. In manchen Polypen finden sich zahlreiche Drüsen, die auch zystisch erweitert sein können, in sog. angiomatösen Polypen dominieren die Blutgefäße (Hellquist 1996).

Beim Analgetika-Intoleranz-Syndrom mit Nasenpolypen hat sich die so genannte adaptive Deaktivierung bewährt. Dabei wird den Patienten in schrittweiser Dosissteigerung Acetylsalicylsäure zugeführt. Die entstehende Toleranz wird durch regelmäßige Einnahme beibehalten. Mit diesem Verfahren, das unter stationären Bedingungen einzuleiten ist, gelingt es bei einem Teil der Patienten, die Nasenpolypen zur Rückbildung zu bringen (Randerath 1999). Bei der Polyposis nasi sind gute Ergebnisse mit einer medikamentös gestützten operativen Therapie zu erzielen. Medikamentös werden lokal wirksame Kortikoide eingesetzt, an die sich funktionell erhaltende endonasale Nasennebenhöhlenchirurgie anschließt. Postoperativ kommen ebenfalls topische Steroide zum Einsatz (s. 2.13 und 2.14.1).

2.7 Pathogenitätsmechanismen der Polyposis nasi und die Sonderrolle der eosinophilen Granulozyten

Früher galten eosinophile Granulozyten nur als proinflammatorische Zellen, die einen Schutz gegen parasitäre Infektionen darstellen. Seit nunmehr über 100 Jahren wurde Eosinophilie aber auch bei allergisch bedingten Krankheitsbildern wie der allergischen Rhinitis, dem Asthma bronchiale und der atopischen Dermatitis und bei chronischen Krankheitsbildern wie der Polyposis nasi beobachtet (Harlin et al. 1988; Stoop et al. 1989; Hallgren et al. 1989; Kapp et al. 1991; Arm u. Lee 1992; Venge 1993; van der Baan 1997).

Da es sich bei den Polypen um eine Nasenschleimhautreaktion auf einen entzündlichen Prozess handelt, sind die hochsignifikanten Beziehungen zwischen Polypen und

- bronchialer Hyperreagibilität (20-40%)
- der Analgetika-Intoleranz (20-30%)
- IgE-vermitteltem Asthma (5%)

- nicht IgE-vermitteltem Asthma (13%)
 - pilzallergischer Sinusitis (66-100%)
- hinweisend (van der Baan 1997).

Während akute bakterielle Infekte der oberen Atemwege mit Gewebsinfiltrationen von neutrophilen Granulozyten einhergehen, finden sich bei etwa 90% der Patienten mit chronisch polypöser Sinusitis Eosinophileninfiltrate in den Nasenpolypen. Diese Zellen haben normalerweise nur einen Anteil von 0-7% der Blutzellen, so dass man zunächst keine wesentliche Bedeutung bei Entzündungsvorgängen vermuten würde. Umso erstaunlicher waren aber Beobachtungen einer massiven Eosinophileninfiltration bei bestimmten Erkrankungen wie Parasiteninfektionen, Asthma bronchiale und chronisch polypöser Sinusitis (Harlin et al. 1988; van der Baan 1997).

Eosinophile Granulozyten werden funktionell in aktivierte (EG 2) und nicht aktivierte Eosinophile (EG 1) unterteilt. Durch histochemische Untersuchungen wurde eine Häufung aktivierter Eosinophiler in Nasenpolypen im Vergleich zu nicht polypös veränderter Nasenschleimhaut aus Nasenmuscheln nachgewiesen. Weiterhin fiel eine Korrelation der Schwere einer polypösen Sinusitis, gemessen an klinischen Parametern wie Ausdehnung der polypösen Veränderungen, pulmonaler Beteiligung und Nasenatmungsbehinderung mit der Ausprägung einer Eosinophilie auf. Außerdem besteht ein direkter Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Gewebs eosinophilie in der Nasenschleimhaut und dem Auftreten einer Rezidivpolyposis (Stoop et al. 1989; Finotto et al. 1994).

Die Eosinophilie im entzündeten Polypengewebe und das an eine allergische Symptomatik erinnernde klinische Bild suggerieren eine kausale Rolle von IgE vermittelten allergischen Mechanismen. Andererseits zeigten schon vor mehr als 30 Jahren Untersuchungen, dass bei Atopikern nasale Polyposis nur bei 0,5% der Patienten nachweisbar war (Caplin et al. 1971). Ferner konnte in einer anderen Arbeit gezeigt werden, dass die höchsten Polypenraten in der Gruppe der nichtallergischen Patienten mit Asthma vorlagen, als in der Gruppe der allergischen Patienten mit Asthma (Settipane u. Chafee 1977).

Nichtallergische Mechanismen scheinen die Akkumulation von Entzündungszellen hervorzurufen, weshalb das Konzept der chronisch nicht-allergisch vermittelten Entzündung mit Eosinophilie entstand (Jankowski 1996).

Inzwischen weiß man um die gewebstoxischen Wirkungen bei diesen Erkrankungen. Eosinophile haben ein großes zytotoxisches und damit auch ein großes pathologisches Potential. Sie modulieren die Immunantwort über Wachstumsfaktoren, Lipidmediatoren (Leukotriene C₄ und D₄). Zytokine (IL-3, IL-4, IL-5, GM-CSF, TNF- α) und Chemokine (IL-8), die die Entzündungsreaktion verstärken, indem sie weitere Eosinophile und andere Leukozyten anlocken und aktivieren (Nonaka et al. 1995; Kramer u. Rasp 1999).

Es werden vermehrt Eosinophile in 77% der Polypen gefunden, allerdings in 100% der Polypen bei Patienten mit allergischer Genese (Stoop et al. 1991). Auch treten CD22-positive, reife B-Zellen und vermehrt HLA-DR präsentierende Zellen auf, die die Entzündung in Gang halten. Die HLA-DR Expression ist erhöht bei Epithelzellen, B-Lymphozyten und aktivierten T-Lymphozyten und nicht-lymphoiden Zellen wie aktivierten Makrophagen, die alle über HLA-DR als antigenpräsentierende Zellen fungieren können (Linder et al. 1993). Außerdem finden sich erhöhte Zellzahlen an dendritischen Zellen, Makrophagen und T-Zellen, die vermehrt subepithelial und in Konglomeraten in der Lamina propria, vereinzelt auch im Epithel gefunden werden. Die Akkumulation von Leukozyten ist eine wichtige und frühe Komponente bei diesem Entzündungsprozess (Stoop et al. 1993).

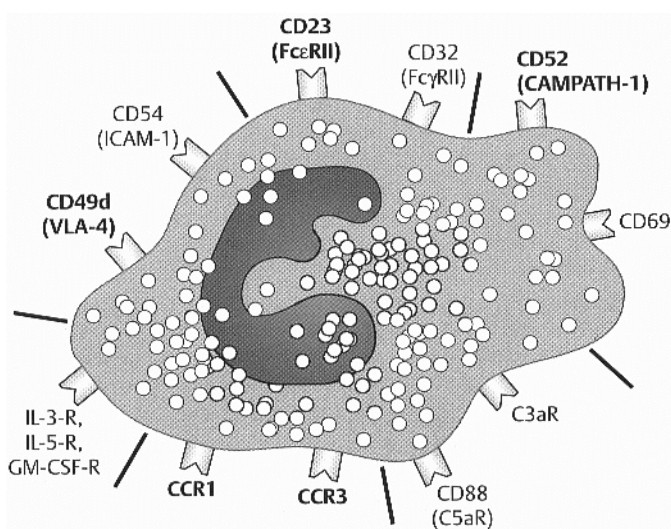
2.8 Differenzierung, Migration und Apoptose des Eosinophilen

Die eosinophilen Granulozyten werden im Knochenmark unter dem spezifischen Einfluss von IL-5 aus CD-34+-Vorläuferzellen gebildet, um dann im peripheren Blut zu zirkulieren. Im Falle der eosinophilen Entzündung ist als erstes Signal ein bis dato unbekanntes Signal durch eine Stimulation z.B. beim Allergiker mit Allergen notwendig. Daraufhin exprimieren die CD-34+-Zellen an ihrer Oberfläche die Alpha-Kette des Interleukin-5-Rezeptors, nicht jedoch die des Interleukin-3-Rezeptor. Im Weiteren stimuliert Interleukin 5 wesentlich die CD-34-positiven Zellen bei ihrer Reifung zu eosinophilen Granulozyten. Die Halbwertszeit dieser Zellen im Gefäßsystem wird mit 8-18 Stunden angegeben. Chemotaktische Faktoren locken Eosinophile aus dem Blut in das Gewebe. Dabei muss der Eosinophile an das Endothel locker adhären (vermittelt durch Selektine), um dann durch eine Integrin-Adhäsionsmolekül-Wechselwirkung fest an das Endothel zu binden. Bei der Diapedese durch das Endothel sind Metalloproteinasen involviert. Im Verlauf dieser Transmigration exprimieren die Eosinophilen vor allem β 2-Integrine. Durch Kontakt mit der extrazellulären Matrix im Gewebe, aber auch durch Zytokine, die entweder von anderen Zellen oder von dem Eosinophilen selbst hergestellt werden, kommt es zu einer weiteren Aktivierung. Im Gewebe beträgt die normale Lebensdauer eines Eosinophilen 2-5 Tage, nach dieser Zeit geht er im Rahmen des programmierten Zelltodes (Apoptose) zugrunde. Bei allergischen Krankheiten beträgt die Überlebenszeit ein Vielfaches, bei Kulturen aus Nasenpolypen z.B. über zwölf Tage. Interessanterweise finden sich diese bisher als allein im Knochenmark vermuteten CD-34-positiven Zellen auch im Gewebe von Nasenpolypen, so dass hier eine lokale Unterhaltung der nachgewiesenen eosinophilen Entzündung denkbar ist (Bachert u. Ganzer 1993; Kramer 1999).

Diese Beobachtung führte zu der Erkenntnis, dass eine Gewebseosinophilie nicht nur durch den vermehrten Einstrom von Zellen, sondern auch durch eine Blockade der Apoptose und einer daraus resultierenden verlängerten Verweildauer im Gewebe reguliert werden kann. Die Zytokine IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF, IFN- γ und TNF- α wirken durch Hemmung der Apoptose einer spontanen Entfernung eosinophiler Granulozyten durch Makrophagen aus dem

Gewebe entgegen. Die molekularen Mechanismen, die dieser hemmenden Wirkung zugrunde liegen, sind bislang nur teilweise definiert (Simon et al. 1997; Dibbert et al. 1998).

2.8.1 Oberflächenstrukturen eosinophiler Granulozyten



Die meisten Interaktionen zwischen Entzündungszellen und ihrer Umgebung werden über Oberflächenantigene vermittelt. Die Zelle kann damit zu morphologischen Veränderungen des Zytoskeletts sowie zur Genexpression, Zelldifferenzierung und Sekretion angeregt werden. Eosinophile Granulozyten exprimieren zahlreiche Antigene, die auch von anderen Granulozyten exprimiert werden.

Abb. 11 Oberflächenstrukturen auf eosinophilen Granulozyten (CD ⇒ Cluster of Differentiation; R ⇒ Rezeptor; VLA-4 ⇒ Very late Antigen 4; CAM-1 ⇒ Intercellular Adhesion Molecule 1; CCR ⇒ CC-Chemokinrezeptor 1 oder 3; FcR ⇒ Rezeptor, der das konstante Fragment eines Antikörpers vom Typ Immunglobulin E oder G bindet (Elsner u. Kapp 2002)

Hierzu zählen neben Komplementrezeptoren und Adhäsionsmolekülen Fc-Rezeptoren, Zytokin- und Chemokinrezeptoren. Darüber hinaus tragen eosinophile Granulozyten bestimmte Oberflächenstrukturen, die ausschließlich von diesen exprimiert werden. Zu diesen gehören CD52, sowie die Chemokinrezeptoren CCR1 und CCR3 (Abb. 11) (Elsner 1996, Elsner u. Kapp 2002).

2.8.2 Aktivierung der Eosinophilen

Ausdifferenzierte Eosinophile werden durch IL-3, IL-5 und GM-CSF aktiviert, indem die Expression von Adhäsionsmolekülen (z.B. CD11, CD18, CD54) induziert wird (Clutterbuck et al 1989). Bei der Gewebseosinophilie, die bei Polyposis Patienten mit erhöhten Werten von IL-3 (Interleukin) und GM-CSF (Granulozyten und Makrophagen Kolonie stimulierender Faktor) assoziiert ist, muss zwischen Allergikern (zusätzlich erhöhte Zahlen an CD45-Zellen, neutrophilen und CD3-T-Lymphozyten) und nicht-allergisch Erkrankten unterschieden werden (Hamilos et al. 1995).

Bei den „allergischen Polypen“ werden neben den schon erwähnten Zytokinen GM-CSF und IL-3, IL-4 und IL-5 gefunden. Eine mRNA-Analyse ergab, dass

diese Zytokine vermutlich von T_{H2}-Lymphozyten stammen. Im Rahmen von Asthma bronchiale kommt es nach Allergenkontakt zu einem deutlichen Anstieg von IL-4 und IL-5 in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit (Ying et al. 1997). Auch bei allergischen Spätreaktionen der Haut wurden ähnliche Veränderungen beschrieben (Kay et al. 1991).

IL-5 und GM-CSF führen zur Aktivierung und erhöhtem Vorkommen Eosinophiler im Gewebe. Außerdem hemmt IL-5, welches im Vergleich zu gesunder Schleimhaut in Nasenpolypen in erhöhter Konzentration vorliegt (durch RT-PCR: **R**everse **t**ranscriptase-**p**olymerase **c**hain **r**eaction nachgewiesen), die Apoptoserate der Eosinophilen im entzündeten Gewebe bei Polyposis nasi. Im Gegensatz zu IL-3 und GM-CSF stimuliert IL-5 nicht die neutrophilen Granulozyten und wird daher als ein zentraler Faktor für die Entstehung einer Eosinophilie angesehen (Hamilos et al. 1995; Kramer u. Rasp 1999). An dieser Stelle ist zu erwähnen, dass TGF- β sowohl die Aktivierung als auch die lebensverlängernde Wirkung von IL-3, IL-5 und GM-CSF antagonisiert (Luttmann et al. 1998a u. 1998b).

IL-4 induziert die Synthese von IgE durch B-Lymphozyten. Durch IL-3 werden die Differenzierung, das Wachstum und die Aktivierung von Basophilen und Mastzellen bewirkt (Hamilos et al. 1995; Bachert 1997; Kramer u. Rasp 1999).

Weiterhin können Parenchymzellen wie Epithelzellen und Fibroblasten GM-CSF freisetzen. Eosinophile Granulozyten können selbst an der Bildung von GM-CSF und IL-5 beteiligt sein, was für eine autokrine Unterhaltung des Akkumulationsprozesses sprechen kann (Clutterbuck et al. 1989; Bachert et al. 1998).

TNF- α ist ein weiteres Zytokin, welches Chemotaxis und Toxizität verstärkt und die Lebensdauer des Eosinophilen verlängert (Lukacs et al. 1995). Obwohl TNF- α alleine nicht die Wirkung hat, die für IL-3 oder GM-CSF gezeigt werden konnte, so kann TNF- α zusammen mit IL-4, IL-5 oder IL-13 synergisch den Eosinophilen aktivieren (Luttmann et al. 1999).

Das erst 1993 entdeckte Zytokin IL-13 hat ähnliche Eigenschaften wie das IL-4 (Zurawski u. de Vries 1994). Beide Zytokine können spezifisch die Expression von Adhäsionsmolekülen (VCAM-1) auf Endothelzellen steigern (Bochner et al. 1995), Eosinophile aktivieren und ihr Überleben verlängern (Luttmann 1999).

Der nicht-allergische Mechanismus liegt bis jetzt im Dunkeln, aber als typisches Zytokinprofil zeigt sich hier GM-CSF, IL-3 und IFN- γ (Interferon), das auch von T_{H1}-Lymphozyten exprimiert wird. Außerdem erweist er sich als unabhängig von IL-4 und IL-5, welche der Gewebseosinophilie bei allergischer Genese zuzuweisen sind. Die ASS-Unverträglichkeit ist von ihrem Zytokinmuster der nicht-allergischen Genese zuzuordnen (Hamilos et al. 1995).

2.8.3 Chemotaxis der Eosinophilen

Unter Chemotaxis versteht man die Bewegung von Zellen in Richtung eines Konzentrationsgefälles einer chemischen Verbindung (Chemotaxine), die von der Zelle wahrgenommen wird. Die Migration von Eosinophilen beruht dabei auf einem Zusammenspiel zwischen Aktin und aktinbindenden Proteinen. Eosinophile zählen neben den Neutrophilen und Monozyten zu den chemotaktisch aktivsten Zellen des menschlichen Körpers, für die zahlreiche Chemotaxine bekannt sind (s.u.). Der indirekte Einfluss dieser Chemotaxine auf die Pathogenese der chronisch polypösen Sinusitis erfolgt über die zahlreichen Mediatoren der Zielzellen, von denen hierbei die Eosinophilen auf die Epitheldestruktion, Entzündungsregulation und wahrscheinlich auf die Prognose der Erkrankung Einfluss haben.

Proteine, die den Einstrom Eosinophiler aus dem Gefäßsystem in das perivaskuläre Gewebe des Nasenpolypen unterstützen, wie die Chemokine CCL5 (RANTES = **R**eleased upon **A**ctivation **N**ormal **T**-cell **E**xpressed and **S**ecreted) und CCL11 (Eotaxin) werden offensichtlich von Epithelzellen, T-Lymphozyten und Fibroblasten synthetisiert (Ponath et al. 1996; Rudack 2002). Darüber hinaus setzen diese Mediatoren auch toxische Sauerstoffradikale und ECP (Eosinophiles Cationisches Protein) aus Eosinophilen in vitro frei (Dibbert et al. 1998).

Die Chemokine stellen eine Familie leukozytenselektiver Chemotaxine dar (Baggiolini u. Dahinden 1994). Die Unterteilung dieser Stoffe erfolgt nach ihren Strukturmerkmalen in α - und β -Chemokine. Während die erste Gruppe vorwiegend Neutrophilen chemotaktische Aktivität vermittelt, tun dies die β -Chemokine mit den Eosinophilen, Monozyten und T-Lymphozyten selektiv (Baggiolini u. Dahinden 1994; Kuna et al. 1995). In diese Gruppe gehören die o.g. CCL5 (RANTES) und CCL11 (Eotaxin) sowie CCL3 (MIP-1 α = **M**acrophage **I**nflammatory **P**rotein 1 α), CCL7 (MCP-3 = **M**onocyte **C**hemotactic **P**rotein 3), CCL13 (MCP-4) (Schroder et al. 1996). Eotaxin zeigt außerdem eosinophilen-selektive Aktivität (Ponath et al. 1996). Weiterhin korreliert die Konzentration von Eotaxin beim Asthma bronchiale nicht nur mit der Anzahl der aktivierten Eosinophilen, sondern auch mit dem Grad der Atemwegsobstruktion (Elsner et al. 1996). Schließlich wirkt auch das pleiotroph wirkende TGF- β , ein Zytokin mit primär inhibitorischen Eigenschaften auf den Eosinophilen (s.u.) in niedriger Konzentration chemotaktisch (Luttmann et al. 1998a; u.1998b).

Bringt man Eosinophile aus dem peripheren Blut von CRS-Patienten in eine Boyden-Kammer ein und trennt sie durch eine semipermeable Wand von Nasenschleim der Patienten, so setzt eine aktive Migration der Eosinophilen durch die semipermeable Trennwand zum Nasenschleim hin ein. Die Migrationsrate und -geschwindigkeit sind dabei signifikant größer als von Eosinophilen der NNH-Gesunden (Weil et al. 2003).

2.8.4 Migration der Eosinophilen

Voraussetzung für eine gerichtete Migration aus dem Blut in das Gewebe ist ein chemotaktischer Gradient und ein aktiviertes Endothel. Wenn Leukozyten differenzieren, migrieren und im Gewebe bleiben, verändert sich Größe, Motilität und adhäsive Eigenschaften der Leukozyten. Demgemäß exprimieren sie in verschiedenen Situationen unterschiedliche Adhäsionsmoleküle. Ein komplexes Netz von intra- und interzellulären Signalen und Proteininteraktionen beeinflusst die Expression und die funktionelle Aktivität (Avidität = Gesamtbindungsstärke zwischen zwei Molekülen oder Zellen und Affinität = Stärke einer einzelnen Bindung zwischen einem Molekül und seinem Liganden) dieser Oberflächenrezeptoren. Bestimmte Adhäsionsmolekülmuster bzw. CAM-Muster (**cell adhesion molecules**) scheinen für spezifische Formen der Entzündung verantwortlich zu sein (Larson u. Springer 1990).

Die leukozytär-endotheliale Adhäsion und Migration ist komplex und nicht auf eine Gruppe von Adhäsionsmolekülen beschränkt. Die Initialphase der Entzündung (Verlangsamung „slowing“, randständiger zellulärer Fluss „marginaton“ und Entlangrollen am Endothel „rolling“) wird maßgeblich von den Selektinen vermittelt. Die Eosinophilen werden zunächst durch lockere Bindungen der E-, L- und P-Selektine am Endothel abgebremst. Aufgrund der kurzen Zeitdauer zwischen Bindungen und Lösung von ihrem Liganden, können Selektine frei fließende eosinophile Granulozyten arretieren. E- und P-Selektin werden vom Endothel präsentiert, während L-Selektin auf allen Arten von unaktivierten Leukozyten gefunden werden kann (Rosen u. Bertozzi 1994; Patel u. McEver 1997).

Die auf das Rolling folgende starke Adhäsion von Leukozyten an der Gefäßwand erfolgt durch Interaktion eines Integrins mit seinem endothelialen Liganden (ICAM), einem Mitglied der Immunglobulin-Superfamilie (IgSF). Der Terminus „Intergrin“ wurde ursprünglich geprägt, da diese Rezeptoren Signale der Außenwelt mit dem intrazellulären Zytoskelett verbinden. LFA-1 (**lymphocyte function-associated antigen**), ein β_2 -Integrin, wird u.a. auch von Eosinophilen (CD11a/18) exprimiert und mit den Gegenrezeptoren ICAM der Endothelzellen interagiert. Eine Bindung an endothelial exprimiertes ICAM-1 und -2 befähigt die Eosinophilen durch die Blutgefäße zu wandern. VLA-4 (**very late antigen**), ein β_1 -Integrin, wird von verschiedenen Zellen exprimiert wie etwa von Lymphozyten, Monozyten, eosinophilen (CD49d) und basophilen Granulozyten, aber nicht von Neutrophilen, und bindet an seinen endothelialen Liganden VCAM-1 (**vascular cell adhesion molecule**) (Bochner et al. 1994; Baroody et al. 1995).

Zusammenfassend kann man sagen, dass Eosinophile und Endothelzellen durch Adhäsionsmoleküle der Endothelzellen (ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1) zusammen mit den entsprechenden Liganden auf Eosinophilen (CD11a = LFA-1, CD11b, CD18 = LFA-1 und CD49d = VLA-4) eng verbunden sind, wodurch die Diapedese der Eosinophilen durch das Endothel eingeleitet wird. Dabei

stellt das P-Selektin das Schlüsseladhäsionsmolekül bei der eosinophilen polypösen Rhinosinusitis dar.

Für die selektive Rekrutierung Eosinophiler wird insbesondere die Interaktion von CD49d (VLA-4) auf Eosinophilen mit VCAM-1 auf Endothelzellen verantwortlich gemacht. Die Expression von VCAM-1 wird wiederum selektiv durch IL-4 und IL-13 reguliert. Die weitere Wanderung des Eosinophilen durch die extrazelluläre Matrix des Bindegewebes wird durch die Freisetzung von Metalloproteinen ermöglicht, die spezifisch die Bestandteile von Basalmembranen lysieren, und so die Passage durch ansonsten schwer zu durchdringende Gewebe ermöglichen (Schleimer et al. 1992; Bochner et al. 1995).

Bei der Rekrutierung Eosinophiler spielen neben den oben bereits erwähnten Adhäsionsmolekülen aber vor allem auch Zytokine und Chemokine eine entscheidende Rolle. Zytokine, die Eosinophile aktivieren und ihre Überlebenszeit im Gewebe verlängern, sind z.B. IL-3, IL-5 und GM-CSF sowie Chemokine Eotaxin, Eotaxin-2, RANTES, MIP-1 α , MCP-3 und -4. Auf der anderen Seite wird auch das Endothel durch Zytokine wie IL-1 β , TNF- α , IL-4 und IL-13 angeregt (Shahabuddin et al. 2000).

2.9 Pilzsinitiden

Bei den Pilzkrankungen der Nasennebenhöhlen werden in Abhängigkeit vom Grad der Gewebsinvasion nicht-invasive und invasive Formen unterschieden (Zapater et al. 1996). Welche Form sich im Einzelnen entwickelt, ist in erster Linie vom Immunstatus des Patienten abhängig. Nicht-invasive Pilzsinitiden kommen bei immunkompetenten Patienten vor. Hierzu zählt die in den letzten Jahren erneut diskutierte allergische Pilzsinitis (allergic fungal sinusitis, AFS) sowie der Pilzball (fungus ball) (Katzenstein et al. 1983a; de Shazo et al. 1997; Ponikau et al. 1999).

Folgende Merkmale können auf eine pilzbedingte Sinusitis hinweisen (Waxman et al. 1987):

- Adoleszente Sinusitis
- Rezidivierende Polyposis
- Wiederholte chirurgische Eingriffe
- Geringe Antwort auf eine medikamentöse Behandlung
- Zäher Schleim in Nase und Nasennebenhöhlen
- Atopische Patienten mit Nasenpolypen
- Asthma-Anamnese
- Pansinusitis

Die Einteilung der pilzbedingter Sinusitis kann in fünf Gruppen vorgenommen werden, deren Grundlage, neben dem histologischen Bild, das klinische Verhalten darstellt (Ferguson et al. 2000).

2.9.1 (Akute) fulminant invasive Pilzsinusitis

Diese Verlaufsform ist gekennzeichnet durch eine Infiltration der Mukosa, sowie eine Infiltration und Destruktion der knöchernen Strukturen des Gesichtsschädels und schließlich durch orbitale bzw. intrakranielle Komplikationen (rhinozerebrale Zygomycosen oder Mukormycosen), die innerhalb von Stunden bis Tagen zum Tode führen können. Hierbei liegen in der Regel schwere Grunderkrankungen wie AIDS (Zapater et al. 1996), Granulozytopenien, Leukämie, Lymphome, Diabetes mellitus Typ I, Immunsuppression nach Transplantationen, Chemotherapie und ähnliche vor (Morpeth et al. 1996; Iwen et al. 1997).

Mc Gill et al. 1980 beschrieben als erste eine fulminant verlaufende Sinusitis durch die *Aspergillus*-Spezies. Sie gehören zur Klasse der ubiquitär vorkommenden Askomyzeten. Aber nur drei pathogene Subtypen, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* und *Aspergillus niger* sind humanpathogen. Die 4-6 µm großen, regelmäßig septierten *Aspergillus*-Hyphen mit den regelmäßigen, typischen dichtotomen 45°-Verzweigungen sind im nekrotischen histologischen Material häufig degeneriert, was eine differenzialdiagnostische Abgrenzung zur Zygo- und Mukormykose erschweren kann.

Die fulminante Pilzsinusitis wird auch von Zygomyceten, vor allem durch den *Rhizopus oryzae*, verursacht. Es sind sog. Jochpilze, die nach der jochförmigen Sporangienbildung bezeichnet werden. Innerhalb der Zygomycetes sind vier fakultativ humanpathogene Gattungen von Schimmelpilzen zu finden, nämlich: *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor* und *Absida* (Ribes et al. 1998; Michaels u. Hellquist 2001). Die Behandlung besteht naturgemäß in einer vollständigen chirurgischen Ausräumung der invasiv veränderten Schleimhaut einschließlich des in der Regel ebenfalls betroffenen nekrotisierten Knochengerüsts. Allerdings zeigte *Kennedy et al. 1997* in seiner Studie, dass extensive chirurgische Maßnahmen nicht effektiver waren als subextensive, drainierende Maßnahmen. Natürlich ist in jedem Fall eine intensive gleichzeitige medikamentöse Behandlung mit einem entsprechenden Antimykotikum unbedingt erforderlich.

Sie wird von den meisten Autoren mit Amphotericin B intravenös durchgeführt. Die simultane Gabe anderer wirksamer Antimykotika, wie das Pyrimidinanalogs 5-Fluzytosin oder Azolderivaten (Ketokonazol, Flukonazol und Itrakonazol), ist möglich (Walther et al. 2001). Neuere Untersuchungen mit dem Antimykotikum Itrakonazol zeigten geringere Nebenwirkungen (Oto- und Nephrotoxizität) als beim Amphotericin B (Morpeth et al. 1996; Bent u. Kuhn 1996; Ponikau et al. 1996).

2.9.2 Chronisch invasive Pilzsinusitis

Bei dieser Verlaufsform kommt es durch einen protrahierten Verlauf über mehrere Wochen und Monate zu den angeführten Komplikationen (z.B. Apex-orbitae Syndrom, Befall des Sinus cavernosus). Solche Verlaufsformen wurden auch bei immunkompetenten Patienten beschrieben (Klossek et al 1996). Alle humanpathogenen invasiven Pilzspezies spielen hier eine Rolle. Vordergründig handelt es sich aber um Aspergillosen.

Der Verlauf der invasiven Pilzsinusitis durch *Aspergillus* unterscheidet sich nicht wesentlich von Infektionen mit anderen pathogenen Pilzspezies, die die Fähigkeit zum invasiven Wachstum haben, wie z.B. *Mucor* und *Cryptococcus* (Walther et al. 2001). Diese chronische Erkrankung zeichnet sich durch eine granulomatöse Entzündung aus und wird auch als Rhinosporidienmykose bezeichnet. Klinisch sind leicht blutende einzelne oder multiple Nasenpolypen auffallend. Allerdings können auch andere Schleimhäute betroffen sein. So treten auch Schleimhautpolypen in Ohr, Augenbindehaut, Vagina und Rektum auf. Bei dem verantwortlichen Pilz handelt es sich um den *Rhinosporidium seeberi*, ein tierpathogener, fakultativ humanpathogener Pilz, vermutlich aus der Klasse der Zygomyceten. Morphologisch sind es bis zu 300 µm große Sporangien mit zahlreichen Endosporen, aus denen bisher keine Reinkultur angezüchtet werden konnte. Diese Infektionserkrankung ist in vielen Ländern verbreitet, neuerdings auch in Italien und England. Die meisten Fälle wurden aber in Indien und Sri Lanka beobachtet (Michaels u. Hellquist 2001). Die Therapie beinhaltet eine chirurgische Entfernung mit extensiver Ausräumung der beteiligten Gewebs- und Knochenstrukturen. Anschließend sollte ein Antimykotikum verabreicht werden (Morpeth et al. 1996; Bent u. Kuhn 1996).

2.9.3 Pilzball (engl. fungus ball)

Die häufigste nicht-invasive Nasennebenhöhlen-Mykose ist der Pilzball. Der geläufig benutzte Begriff „Mycetom“ sollte hierfür nicht mehr verwendet werden, da dieser Terminus für eine invasive Fußmykose steht. Typisch für den Pilzball ist eine meist einseitige nasale Obstruktion mit grün-bräunlichem retronasalem Sekretfluss, die mit einer chronischen Sinusitis, Gesichtsschmerzen und fötidem Geruch (Cacosmia) einhergehen. Intraoperativ finden sich meist braun-graue käsige Massen, vorwiegend in der Kieferhöhle (Bent u. Kuhn 1996; Ferreira et al. 1997). Die Pilzkultur ist häufig auf *Aspergillus* und *Dematiaceae* positiv (de Shazo et al. 1997; Michaels u. Hellquist 2001).

Das histologische Bild zeigt die charakteristischen Pilzhyphen, oft mit Fruchtkörperbildungen zusammen mit einer meist geringen chronischen Entzündung der Schleimhaut ohne assoziierten allergischen oder nicht-allergischen Muzin (Katzenstein et al. 1983a). Eine Infiltration in die Mukosa oder umliegende Knochenstrukturen besteht nicht (de Shazo u. Swain 1995). Der CT-Befund zeigt eine Totalverschattung, häufig mit kalkdichten Konkrementen oder im MRI scharf begrenzte, halbkugelige Verschattung, die

eine gewisse Ähnlichkeit mit Allergic Fungal Sinusitis aufweist (Manning et al. 1997).

Bei dieser Form der Mykose ist eine operative Therapie als funktionell endoskopische Nasennebenhöhlenanierung mit einem Débridement der mykotischen Massen angezeigt. Bei Anlage ausreichend weiter Belüftungswege und Einsatz einer intensiven lokalen Nachbehandlung mit salinischen Lösungen ist eine antifungale Therapie verzichtbar, da die Prognose insgesamt sehr günstig ist (Bent u. Kuhn 1996).

2.9.4 Chronische nicht-invasive Pilzsinusitis (Saprophytäre Kolonisation)

Eine andere chronische nicht-invasive Mykose ist die saprophytische Kolonisation, die eine Ansammlung fungaler Sporen auf trockenen mukösen Krusten mit Schleimhautveränderungen entzündlich polypöser Art darstellt, wobei diese chronisch polypösen Schleimhautveränderungen in der Regel vor der Konkrementbildung auftreten. Sie tritt bei ausgeprägten Störungen der mukoziliären Clearanceverhältnisse auf (z.B. nach radikalen NNH-Operationen, nach Radiatio). Klinisch verläuft diese Erkrankungsform unter dem relativ blanden Bild der chronischen Sinusitis (Messerklinger u. Eggemann 1973; Jaquiéry u. Podvinec 1996).

Die Therapie besteht darin, die endoskopisch kontrollierte schleimhautschonende Nasennebenhöhlenchirurgie einzusetzen und nach Entfernung des Pilzmaterials und der größten polypösen Veränderungen die Schleimhaut weitgehend zu belassen. In diesen Fällen ist eine medikamentöse antimykotische Therapie nicht erforderlich. Allerdings muss in der postoperativen Phase das Nasennebenhöhlensystem regelmäßig endoskopisch kontrolliert und gespült werden (Münzel 1999).

2.10 Allergic Fungal Rhinosinusitis (AFRS)

2.10.1 Ätiologie und Pathogenese der AFRS

Die Pathogenese der Allergic Fungal Sinusitis (AFS) ist nicht vollständig geklärt. Die allergisch-fungale Sinusitis ist als eigenständiges Krankheitsbild erst seit dem Beginn der 80er Jahre des letzten Jahrhunderts bekannt. *Millar et al.* fanden 1981 bei Patienten mit einer allergischen bronchopulmonalen Aspergillose (ABPA) und bei Patienten mit chronischer Sinusitis die histologische Parallelität von Aspergillus-Pilzhyphen im Sputum und Nasennebenhöhlensekret (Millar et al 1981). Auch *Katzenstein et al.* hat 1983 ein gleichartiges Krankheitsbild als „allergische Aspergillus Sinusitis“ (AAS) beschrieben. Die Schleimmassen bzw. der sog. „allergic mucin“ in den paranasalen Sinus waren praktisch identisch mit den in den Bronchien

gefundenen. (Katzenstein et al. 1983a und 1983b). Die histologische Analyse zeigte ein typisches Muzin mit eingelagertem Zelldebris, eosinophilen Granulozyten, Charcot-Leyden-Kristallen und non-invasiven Pilzhyphen der *Aspergillus*-Spezies. Wenige Jahre später identifizierten *MacMillan et al. 1987* andere Pilze als *Aspergillus*, die für diese pilzassoziierte Nasennebenhöhlen-erkrankung verantwortlich gemacht wurden. Aus diesem Grunde wurde der Terminus „Allergic Fungal Sinusitis“ bzw. Allergic Fungal Rhinosinusitis (AFRS) eingeführt.

Einer größeren Studie der Mayo-Klinik zufolge werden lediglich 15% der AFS von *Aspergillus*-Arten verursacht (Cody et al. 1991). In einer umfangreichen Übersicht zitierte *De Shazo 1995* insgesamt 99 publizierte Fälle aus der Literatur und dem eigenen Material, wobei 80% der Fälle durch Dematiaceae-Pilzarten, wie *Bipolaris* sp., *Curvularia*, *Alternaria* oder *Aspergillus fumigatus*, verursacht wurden. *Torres et al. 1996* beschrieb einige „non-Dematiaceous“-Pilzarten, die seiner Ansicht nach zu AFS-Symptomatik führten. Es wurde vermutet, dass die Anwesenheit der eingeatmeten ubiquitär vorkommenden Pilzsporen in den Nasennebenhöhlen zu einer Typ I und Typ III Immunreaktion führen (Cody et al. 1991; Bent u. Kuhn 1996; Manning et al. 1997). Diese Überempfindlichkeitsreaktionen führen zu einem Schleimhautödem und einer Entzündungsreaktion, in derer Folge eine Obstruktion der Sinusostien entsteht (Manning et al. 1997).

Der verlängerte Kontakt der Pilze mit der Sinusschleimhaut resultiert in einer allergischen Mukosareaktion, Produktion von Allergic Mucin sowie Polypenbildung. Verschiedene Studien untersuchten die IgE-Spiegel im Blut von AFS-Patienten. Es wurden sowohl die Gesamt-IgE- als auch die pilzspezifischen-IgE-Spiegel bestimmt. Die Ergebnisse wiesen eine beträchtliche Variationsbreite auf, dabei bewegten sich die prozentualen Angaben erhöhter Gesamt-IgE-Spiegel zwischen 33% (Ponikau et al. 1999) und 94% (Manning et al. 1993). Eine immunologische Untersuchung einer 14-köpfigen Kontrollgruppe zeigte eine Total-IgE-Spiegel-Erhöhung in 29% der Fälle (Ponikau et al. 1999).

Ausgehend von der Vermutung einer allergischen Genese wurde von *Mabry* eine systemische antifungale Immuntherapie mit gutem Erfolg durchgeführt (Mabry et al. 1997a; Mabry u. Mabry 1997b). Eine weitere Änderung des Terminus wurde von *Ponikau* vorgeschlagen. Bei 96% der an CRS leidenden Patienten konnten Pilze mittels einer neu entwickelten Kultivierungstechnik im Nasensekret nachgewiesen werden. Die histologische Untersuchung zeigte im Schleim der operierten Patienten bei 96% eine Anhäufung eosinophiler Granulozyten, in Form von Zellhaufen, sog. Cluster, und bei 81% wurden Pilzelemente nachgewiesen. Eine allergische Reaktion auf die nachgewiesenen Pilze ist nach den Untersuchungen nicht nachzuvollziehen, da sich diese Ergebnisse bei fast allen Patienten mit CRS fanden, so wurde vorgeschlagen, diese Erkrankung auch als eosinophile Pilzsinusitis bzw. Eosinophilic Fungal Rhinosinusitis (EFRS) zu bezeichnen (Ponikau et al. 1999).

Kaschke et al. untersuchte 124 Patienten mit klinischen und computer-tomographischen Zeichen einer chronisch-hyperplastischen Sinusitis. Bei 21 Patienten lag ein positiver histologischer Pilzbefund vor. In 10 Fällen wurde der Nachweis von vereinzelt Pilzhyphen in eosinophilenreichem Schleim erbracht. Nur in 7 dieser 10 Fälle zeigten sich positive allergische Reaktionen auf Pilze. Die übrigen 11 Fälle der 21 positiven Pilz-Histologien waren histologisch als Pilzball einzustufende Befunde gewesen (*Kaschke et al. 2002*).

In weiteren histologischen Untersuchungen bei 37 operierten Patienten mit der radiologisch/klinischen Diagnose einer CRS zeigten in 94,6% eine Ansammlung eosinophiler Granulozyten (sog. Cluster) im Schleim dieser Patienten, in 75,5% konnten Pilzelemente im Schleim histologisch nachgewiesen werden. Insgesamt zeigten somit 89,2% der Patienten die von *DeShazo* und *Swain 1995* postulierten Kriterien der AFS (*Braun et al. 2003*).

Eosinophile Granulozyten aus der Mukosa reagieren mit den Pilzen im Schleim, infolge der Reaktion entsteht ein Major Basic Protein (MBP). Eine quantitativ große Ansammlung dieses Proteins soll eine Entzündung, Epithelschädigung und schließlich die Auslösung einer Entzündung und Initialisierung der Polyposis bewirken (*Khan et al. 2000*). Von *Ferguson* wurden die mittlerweile 418 in der Literatur beschriebenen Fälle, davon 13 eigene, analysiert. Dabei verweist er in seiner Publikation auf das klinische Krankheitsbild der chronischen eosinophilen muzinösen Rhinosinusitis (EMRS), welche klinisch dem Bild der allergisch-fungalen Sinusitis ähnelt. Die Abgrenzung der allergisch fungalen Sinusitis (AFS) von einer eosinophil-assoziierten Erkrankung der Nase (EFRS, EMRS) anderer Genese und dem Pilzball, ist letztlich sicher nur durch gleichzeitigen Nachweis folgender drei Kriterien möglich (*Manning et al. 1997; Ferguson 2000*):

1. Histologisch nachweisbarer allergischer Schleim mit eingelagerten Eosinophilen, Charcot-Leyden-Kristallen, Granulozyten und Pilzhyphen (nicht invasiv wachsend), dazu Schleimhautödem mit Eosinophilie, Lymphozyten und Basophilen.
2. Positive allergische Disposition und somit Reaktion gegen Pilze, die in einer positiven Pilzkultur nachgewiesen werden.
3. Pilznachweis in einer positiven Pilzkultur.

2.10.2 Klinik und Diagnostik der AFRS

Es handelt sich in einem Großteil der Fälle um junge immunkompetente Patienten (*Corey et al. 1995*). Ein typisches klinisches Merkmal stellen die rezidivierenden Nasenpolypen dar, wobei Männer wie Frauen gleichermaßen betroffen sind (*Katzenstein et al. 1983a u. 1983b; Waxman et al. 1987; Cody et al. 1991; Boenninghaus 1993; de Shazo u. Swain 1995; Stammberger u. Kennedy 1995; Hellquist 1996; Bachert et al. 1998*).

Sie sind medikamentös kaum zu beeinflussen und ziehen oftmals mehrere chirurgische Eingriffe beim selben Patienten nach sich. Einer Studie mit 94 Patienten zufolge leiden 54% der AFS-Patienten an Asthma (Cody et al. 1991). Andere Autoren berichten von einem seit Jahren bekannten Zusammenhang zwischen Asthma und chronischer Rhinosinusitis, sowie einer teilweise Verbesserung des Asthmas nach einer Sinusitistherapie (Katzenstein 1983a; Bachert 1997). Eine gesteigerte Aspirinintoleranz scheint dabei keine Rolle zu spielen (Clutterbuck et al. 1989; Cody et al. 1991; Boenninghaus 1993).

Bei endoskopischen Untersuchungen findet man oft eine ausgeprägte diffuse Polyposis sämtlicher NNH mit einem dicken, zähen, gummiartigen Schleim, dessen Farbe als gelb, braun, grün oder schwarz beschrieben wird. Seit der Publikation von *Ponikau* „The Diagnosis and Incidence of Allergic Fungal Sinusitis“ wird das Krankheitsbild der chronischen Rhinosinusitis (CRS) mit oder ohne Polyposis nasi unter einem neuen Gesichtspunkt betrachtet (Ponikau et al. 1999).

Jens Ponikau untersuchte mehr als 200 Patienten und fand heraus, dass in vielen Fällen eine pilzassoziierte Sinusitis vorlag. Die Schlussfolgerungen von Ponikau waren, dass die Pilzbesiedlung die eigentliche Ursache für eine chronische Rhinosinusitis war. Man kann seine Studien in folgende Thesen unterteilen:

1. Die Polyposis nasi ist eine pilzinduzierte Erkrankung.
2. Die Nasenschleimhaut ist immer mit Pilzen kontaminiert.
3. Die Pilzstrukturen können (ähnlich den Parasiten) nicht phagozytiert werden.
4. Manche Individuen reagieren auf Pilzstrukturen immunologisch abnorm und entwickeln Abwehrreaktionen die der parasitären Abwehr ähneln.
5. Es kommt zur Aktivierung von eosinophilen Granulozyten.
6. Die Granulozyten wandern durch Schleimhaut in das Nasen/NNH Lumen an die Pilzstrukturen und setzen dort toxische Substanzen frei.
7. Daraus ergibt sich eine Gewebedestruktion, sekundäre bakterielle Kontamination und Polypenbildung.
8. Immunologisch liegt eine aberrante T-Zell Reaktion auf ein *Alternaria*-Antigen vor.

Anhand der o.g. Erkenntnisse wurden von *Ponikau* folgende Diagnosekriterien vorgeschlagen (Ponikau et al. 1999):

- CRS (chronische Rhinosinusitis)
- Allergic Mucin (Eosinophilen Cluster und deren Produkte: Charcot-Leyden Kristalle, Major Basic Protein)
- Pilzorganismen im Allergic Mucin, bestätigt durch Histologie und/oder Kultur

Bent und Kuhn 1994 hatten bereits eigene Diagnosekriterien erstellt. So war zunächst ein positiver Pilznachweis in der Histologie oder Kultur der operativ entfernten Nasenpolypen zu fordern, der in Kombination mit Eosinophilie des

Sinusschleims ohne Pilzinvasion vorlag. Außerdem musste eine nachgewiesene (Prick-Test und Serologie) Typ-I-Reaktion vorhanden sein. Ein charakteristisches CT-Bild im Sinne einer beidseitigen Pansinusitis rundete die Verdachtsdiagnose ab. Dabei können Knochenerosionen im CT vorhanden sein, zählen aber nicht zu den Diagnosekriterien (Nussenbaum et al. 2001).

Ähnliche Kriterien wurden von *DeShazo und Swain 1995* vorgeschlagen:

- Sinusitis in einem oder mehreren Sinus, röntgenologisch dargestellt
- Identifikation des Allergic Mucin (durch Rhinoskopie, während der Operation oder nachfolgend durch histopathologische Untersuchungen des Op-Materials)
- Pilzelement in der Nasenabsonderung oder im Operationsmaterial
- Ausschluss von Diabetes mellitus, durchgemachter oder vorhandener Immunschwäche, Behandlung mit Immunsuppressiva
- Abwesenheit von invasiver Pilzsinusitis zum Zeitpunkt der Diagnosestellung oder zu einem späteren Zeitpunkt

Im Gegensatz zu den zuerst aufgezählten Kriterien schließen *Bent und Kuhn 1994* die Atopie als charakteristisches Merkmal aus. Rückblickend auf die Literatur wiesen nur 2/3 der AFS-Patienten einen positiven Hauttest bezüglich der kultivierten Pilze auf.

Bei der AFRS handelt es sich meistens um eine nicht-invasive Erkrankung. Allerdings können große Mengen dieses Schleims zusammen mit den polypösen Veränderungen zu Knochenarrosionen führen (de Shazo u. Swain 1995; Nussenbaum et al. 2001). Drei Fälle von *Curvularia//Drechslera Sinusitis* gingen mit Exophthalmus bzw. Visusverlust einher (Killingsworth u. Wetmore 1990). In einem Fall kam es zur Erosion der Lamina papyracea, sowie des Bodens des Sinus sphenoidalis. Bei einem anderen Patienten wurde eine Erosion der Orbitawand bis zum Musculus rectus medialis und dem Canalis opticus gefunden. *Marple et al. 1999* berichteten ebenfalls von expandierenden Gewebsmassen im Zuge der AFS. Sie beobachteten Demineralisierungen der Lamina papyracea, des Canalis opticus und der lateralen Keilbeinhöhlenwand mit konsekutivem Einbrechen der Gewebsmassen in die hintere Orbita, den Sinus cavernosus sowie den Opticuskanal. Der Mechanismus des Visusverlustes bei AFS wird entweder durch Kompression oder durch die direkte Entzündung (Neuritis) des Nervus opticus erklärt (Cody et al. 1991).

2.10.3 Histomorphologie der AFRS

Das typische histologische Hauptmerkmal bildet der sogenannte „Allergic Mucin“, der zum ersten Mal von *Katzenstein et al. 1983a* beschrieben wurde. Makroskopisch erscheint das typische Muzin als zäh, dick und viskös in seiner Konsistenz. Die Farbe kann von braun, grün, gelb bis hin zu schwarz variieren (Bent u. Kuhn 1996; Marple u. Mabry 1998; Ponikau et al. 1999). Die

Besonderheit dabei ist, dass sich Pilzhyphen nur sehr vereinzelt finden. Die Schleimhaut weist aber ein erhebliches entzündliches Ödem auf.

Die histologische Analyse zeigt ein typisches Muzin mit:

1) Charcot-Leyden-Kristalle:

Bei den Charcot-Leyden-Kristalle handelt es sich um spindelförmige, leicht gelbliche, oktaedrische Kristalle als Sekretions- oder Auskristallisationsprodukte eosinophiler Leukozyten im Blut, Sputum oder Stuhl, z.B. bei Allergosen, Asthma, Colica mucosa (Katzenstein et al. 1983a). Nachweis erfolgt im luftgetrockneten fixierten Ausstrichpräparat durch Färbung mit Eosin-Methylenblau. Somit ist die Anwesenheit dieser Kristalle allein nicht spezifisch für Allergic Fungal Sinusitis, und impliziert lediglich einen Zelluntergang von eosinophilen Granulozyten (Ponikau et al. 1999). Man findet sie häufig bei Krankheiten mit eosinophiler Beteiligung, wie zum Beispiel im Auswurf bei Asthma bronchiale («Asthmakristalle«).

2) Nicht-invasive Pilzhyphen:

Die histologische Darstellung der Pilzhyphen im Allergic Mucin gelingt nicht in allen Fällen von AFS. Schon *Katzenstein et al. 1983a* berichteten von einem Allergic Mucin, in dem keine Pilzhyphen identifiziert werden konnten. Sie vermuteten, dass ein Probefehler der Grund dieses Resultats sein könnte. Andere Autoren bezeichnen dieses Krankheitsbild deswegen als „Allergic Mucin Sinusitis without Fungus“ (Stammberger u. Kennedy 1995; Jankowski 1996) sowie „Allergic Fungal Sinusitis-like Syndrom“ (Aachener Gespräche zur Allergologie 1995). Das klinische Erscheinungsbild präsentiert sich ebenfalls mit Nasenpolypen und typischen Sinusitis-symptomen. Die radiologischen Befunde ähneln einander stark und der Allergic Mucin mit Eosinophilen ist ebenfalls vorhanden. Der ausschlaggebende Unterschied ist das Unvermögen, Pilzorganismen histologisch oder in einer Kultur darzustellen. Daraus ergibt sich nun die Frage, ob diese Fälle von Pilzen verursacht werden, die in der Diagnose übersehen werden oder ob es sich bei diesem AFS-ähnlichen Syndrom um eine andere klinische Entität handelt (Settipane 1996).

3) Nekrotische Eosinophile:

Die Eosinophilen stellen sich einzeln oder in Form von Clustern (Haufen) dar. Die einzelnen eosinophilen Granulozyten sind meistens degranuliert.

2.11 Pilzspektrum

Man schätzt, dass es ungefähr 250.000 verschiedene Pilzarten gibt, von denen etwa 100.000 wissenschaftlich erfasst worden sind. Die Mehrzahl der Pilze ist weltweit verbreitet und lebt als Saprophyten von totem organischem Material oder als Parasiten auf und in Pflanzen, Tieren und Menschen. Pilzsporen sind obligater Bestandteil des Hausstaubs (Tab. 3 u. Tab. 4). Die meisten Pilze wachsen optimal bei Temperaturen von 20 bis 25°C und bei einer relativen

Luftfeuchtigkeit von 80% bis 90% (Klimek et al. 1998). In der klinischen Systematik unterscheidet man dimorphe Pilze von Sprosspilzen (Hefen) und von Fadenpilzen (Hyphomyzeten). Zu den Fadenpilzen gehören die Dermatophyten und die Schimmelpilze. Schimmelpilze kommen in der Vermehrungsphase als Sporen (Konidien) vor oder, während der vegetativen Phase, als fadenförmige Hyphen, die ein Myzel (Pilzgeflecht) ausbilden können. Mittlerweile sind ca. 100 im Nasenschleim nachgewiesene und durch Pilzkultur und/oder PCR-Technik eindeutig identifizierte Pilzarten bekannt (Ponikau et al. 1999; Braun et al. 2003; Riechelmann 2003).

Tab. 3 Relevante Pilzgruppen (Klimek et al. 1998)

Pilzgruppe	Bemerkungen
Jochpilze (Zygomycotina)	ca. 600 Arten, gehören zu den niederen Pilzen (Phycomycetes)
Schlauchpilze (Ascomycetes)	ca. 45.000 Arten, gehören zu den höheren Pilzarten (Eumycetes)
Ständerpilze (Basidiomycetes)	ca. 30.000 Arten, gehören zu den höheren Pilzarten (Eumycetes)
Deuteromycetes (Fungi imperfecti)	ca. 30.000 Arten, gehören zu den höheren Pilzarten. Ein Großteil der allergologisch bedeutsamen Pilze entstammen dieser Pilzgruppe
Blastomycetes	einzellige Form der Deuteromycetes

Tab. 4 Häufig als inhalativ aufgenommene Schimmelpilze aus der Deuteromycetes Gruppe (Klimek et al. 1998)

Pilzgruppe	Bemerkungen
Alternaria alternata (Schwärzepilz)	Sind weltweit häufig anzutreffen, es gibt 50 Arten, lebt extra- und intramural, saprophytär als Wand- und Lebensmittelschimmel, häufiger Luftkeim
Aspergillus	Sind weltweit häufig anzutreffen, es gibt ca. 300 Arten, leben extra- und intramural, saprophytär, ubiquitäre Verbreitung (z.B. Luft, Klimaanlage etc.)
Cladosporium	Sind weltweit ausgesprochen häufig, mit etwa 500 Spezies anzutreffen, leben extra- und intramural, saprophytär, ubiquitäre Verbreitung (z.B. Luft, Klimaanlage, feuchte Wohnungen etc.), sie sind in Außen- und Innenluft die dominierende Mykoflora
Fusarium	Sind weltweit mit regional stark unterschiedlicher Ausprägung, leben extra- und intramural, saprophytär, in der Innenluft eher geringere Sporenkonzentration als in Außenluft
Penicillium	Sind weltweit die am weitesten verbreiteten Pilze, sie finden sich sowohl extra- als auch intramural im Boden, auf Pflanzen und im Aeroplankton (z.B. Hausstaub)

Die Kontamination des Nasensekretes mit Pilzsporen ist nach den Erkenntnissen der letzten Jahre als Normalbefund zu werten und stellt kein Krankheitsbild dar. Pilzsporen werden kontinuierlich eingeatmet, von 15 000 bis zu 1700 000 Sporen pro 24 Stunden, je nach Saison. Diese haften zum Teil auf dem Nasensekret und werden mit diesem nach dorsal in den Nasenrachen transportiert und schließlich verschluckt, ohne irgendwelche Symptome zu verursachen (Settipane 1996; Koch et al. 2000; Burch u. Levetine 2002). So konnte gezeigt werden, dass in Europa und Nordamerika im Schnitt 2,3 und 3,1 verschiedene Pilzspezies aus dem Nasensekret eines jeden Erwachsenen gezüchtet werden können, ohne dass irgendwelche Krankheitssymptome bestehen (Tab. 5 und Tab. 6; Ponikau et al. 1999; Braun et al. 2003). Durch neu entwickelte Kultivierungstechnik im Nasensekret, zeigten Nasennebenhöhlengesunde in über 90% die gleichen Pilzspezies im Nasenschleim wie CRS-Patienten, allerdings mit dem Unterschied, dass sich bei Nebenhöhlengesunden keine Anhäufungen von eosinophilen Zellen um die Pilzfragmente im Schleim fanden (Ponikau et al. 1999, Braun et al. 2003).

In einer offenen prospektiven Studie wurde der Nasenschleim von 238 an chronischer Rhinosinusitis erkrankten Patienten und 23 gesunden Probanden evaluiert. Insgesamt konnten 654 positive Pilzkulturen identifiziert und 88 Spezies nachgewiesen werden (Braun et al. 2003).

Tab. 5 Die 5 häufigsten Pilzspezies bezogen auf 23 gesunde Probanden (Braun et al. 2003).

Pilzspezies	Häufigkeit bei gesunden Probanden (%)
Penicillium	69,6
Cladosporium	65,2
Aspergillus	60,9
Aureobasidium pullulans	26,1
Alternaria	17,4

Tab. 6 Die 5 häufigsten Pilzspezies bezogen auf 14 gesunde Probanden (Ponikau et al. 1999).

Pilzspezies	Häufigkeit bei gesunden Probanden (%)
Cladosporium	57,1
Alternaria	50,0
Aspergillus	42,9
Geotrichum	28,6
Penicillium	21,4

Unter der Vielzahl fakultativ pathogener Pilze sind für das Nasennebenhöhlensystem insbesondere die Candidose, die Aspergillose und die Rhizopusmykose von Bedeutung (Tab. 7). Candida, Aspergillus und Rhizopus sind ubiquitär vorkommende Sproß-(Candida)- und Schimmelpilze (Aspergillus, Rhizopus), die nur auf dem Boden eines vorgeschädigten Organismus, z.B. Hemmung der mukoziliären Clearance, pathogen werden können (Münzel 1999; Lund 2000). Gelegentlich bildet sich ein dreidimensionales Pilzmyzel auf der Schleimhaut („Pilzball“) aus. Die Pilzstrukturen infiltrieren definitionsgemäß die Schleimhaut nicht (de Shazo u. Swain 1995).

Tab. 7 Häufige Pilzarten bei einer pilzassoziierte NNH-Erkrankung (Lund 2000)

Aspergillus fumigatus	Conidiobolus coronatus	Dermatiaceous Curvularia
Aspergillus flavus	Cryptococcus neoformans	Dermatiaceous Bipolaris
Aspergillus niger	Candida	Dermatiaceous Alternaria
Histoplasma capsulatum	Rhizopus oryzae (Mucor)	Sporothrix schenckii
	Rhinosporidium seeberi	

Ponikau postulierte, dass es bei manchen Menschen aus noch unbekanntem Gründen zu einer eosinophilmedierten Entzündungsreaktion im Nasenschleim auf die eingeatmeten Pilze kommt. Das Immunsystem reagiert auf die Pilzantigene mit einer Eosinophilie. Diese Immunantwort ist typisch für Fremdorganismen, die zu groß sind um phagozytiert zu werden (wie z.B. Parasiten, Helminthen). Die Nasenschleimhautschädigung geschieht über die Freisetzung von MBP, welche seinerseits das Schleimhautepithel samt Zilien schädigt, großflächig destruiert und so eine chronische Rhinosinusitis induziert (Ponikau et al. 1999).

Ausgehend von dem Krankheitsbild CRS wurden Pilzspezies aus dem Nasenschleim kultiviert und unter mikromorphologischen Aspekten identifiziert (Tab. 8 und Tab. 9). Bei Kulturen, die nicht ohne weiteres einer Spezies zugeordnet werden konnten, wurde die DNA aus den Zellkernen der Pilzzellen extrahiert und mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion amplifiziert und sequenziert. Die auf diese Weise sequenzierten Daten wurden mit bestehenden Sequenzdaten aus Gendatenbanken im Internet (<http://www.2.ebi.ac.uk/fasta33/>) verglichen und bei einer Übereinstimmung einer Pilzspezies zugeordnet (Braun et al. 2003).

Tab. 8 Die 9 häufigsten Pilzspezies bezogen auf 238 CRS-Patienten (Braun et al. 2003).

Pilzspezies	Häufigkeit bei CRS-Patienten (%)
Aspergillus	50,0
Penicillium	49,6
Cladosporium	31,5
Candida	16,4
Alternaria alternata	12,6
Aureobasidium pullulans	10,9
Basidiomyzet	9,2
Sclerotinia sclerotiorum	6,3
Epicoccum nigrum	4,6

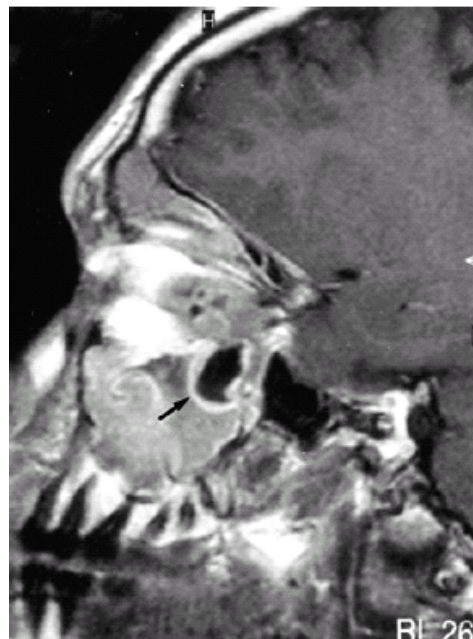
Tab. 9 Die 9 häufigsten Pilzspezies bezogen auf 210 CRS-Patienten (Ponikau et al. 1999).

Pilzspezies	Häufigkeit bei CRS-Patienten (%)
Alternaria	44,3
Penicillium	43,3
Cladosporium	39,0
Aspergillus	29,5
Candida	21,4
Fusarium	16,2
Pithomyces	6,7
Ustilago	6,2
Epicoccum	5,7

2.12 Radiologische Veränderungen bei Pilzinfektionen im Nasennebenhöhlensystem

Beim Vorliegen von Pilzmassen findet man in der T₁-gewichteten Schichtung hypodense Signale, die sich in der Protonen- bzw. T₂-gewichteten Untersuchungsserie verstärken. Bei der Kernspintomographie erscheint die von AFRS oder Myzetom erkrankte Nasennebenhöhle in der T₂-gewichteten Aufnahme leer (Abb. 12). Ursächlich für dieses Phänomen dürfte das paramagnetische Verhalten von Kalk- und Metallsalzeinlagerungen sein (Michaels et al. 2000).

Abb.12 Sagittales MRT (T₁-gewichtet mit Gadolinium) beim Vorliegen einer allergisch fungalen Rhinosinusitis (AFRS). Pfeil zeigt hypodenses Signal (Michaels et al. 2000).



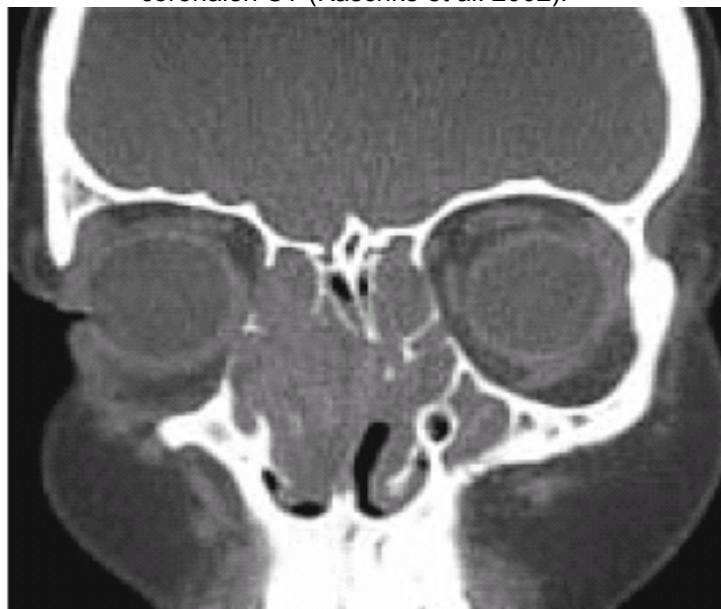
Die Kombination einer verstärkten Strahlenabsorption im CT mit einem Signalverlust in der Kernspintomographie ist so ein Hinweis auf das Vorliegen einer Pilzkrankung, zumal wenn nach Gadoliniumgaben in der betreffenden Nasennebenhöhle eine verstärkte Anreicherung infolge Kontrastmitteleinlagerung in die umgebende Schleimhaut auftritt. Sowohl die chronisch nicht-invasive Aspergillussinusitis als auch die chronisch-allergische Pilzsinusitis weisen nahezu die gleiche MR-Morphologie auf (Zinreich et al. 1988; Michaels u. Hellquist 2001).

Im CT lassen sich die knöchernen Details hervorragend wiedergeben. Somit sind Knochenerosionen mit entsprechender Invasion in die Umgebung (Orbita, Krania) gut darstellbar. Vor allem werden Zytokine, wie IL-1 und TNF, für die Knochenresorptionen verantwortlich gemacht. Mykosen stellen sich gelegentlich als äußerst hyperdense umschriebene Areale da, die von einer hypodensen Zone umschlossen werden (Abb. 13 u. 14). Dieses Bild erinnert, insbesondere im Nativ-CT, an metalledichten Schatten, der dichter als Knochen erscheinen kann. Es handelt sich um Calcium- und Magnesiumsalzablagerung in den nekrotischen Arealen der Pilzmassen. Beweisend für eine Pilzinfektion sind sie allerdings nicht, da auch Eiter, Mukosasekretionen sowie dystrophe Kalzifikationen mit erhöhter Dichte im CT imponieren. Das Gleiche gilt auch für eine akute Blutung (Zinreich et al. 1988; Lund 2000; Michaels u. Hellquist 2001).

Abb. 13 Vollständige Verschattung beider Nasenhaupt-
höhlen mit Beteiligung des rechten Sinus
maxillaris et ethmoidales re. mit nicht deutlich
erkennbaren Knochenstrukturen (Venarske 2002).



Abb. 14 Typisches Bild einer allergisch fungalen Sinusitis
(AFS) mit dem Bild einer Pansinusitis bds. im
coronalen CT (Kaschke et al. 2002).



2.13 Bevorzugte Operationsmethode: FESS

Bei chronischen und rezidivierenden Entzündungen der Kieferhöhlen handelt es sich in der Regel um hyperplastisch-polypöse Schleimhautentzündungen mit Verlust der Flimmerfunktion des Epithels. Die endoskopisch kontrollierte Chirurgie ist heute das therapeutische Standardverfahren bei der Mehrzahl dieser chronisch entzündlicher Nasennebenhöhlenerkrankungen, die nicht oder nur unzureichend auf eine medikamentöse Behandlung ansprechen. Mit Wegfall des Hautschnittes werden das Operationstrauma und konsekutiv auch die postoperativen Schmerzen reduziert. Der Patient kann damit schneller mobilisiert und frühzeitig aus der stationären Behandlung entlassen werden. Damit können postoperative Komplikationen, wie z.B. eine tiefe Beinvenenthrombose oder eine Pneumonie deutlich verringert werden. Vor einem chirurgischen Eingriff stehen im Vordergrund die klinische Diagnostik, die endoskopische Untersuchung (Antroskopie), sowie bildgebende Verfahren, wie die Röntgenaufnahme oder ein hochauflösendes Computertomogramm der Nasennebenhöhlen (Stammberger 1985b).

Die Methode der modernen rein endoskopischen Technik wurde von *Messerklinger* entwickelt (Messerklinger 1977; 1978; 1979). Die entscheidenden Weiterentwicklungen der Nasennebenhöhlenchirurgie kamen jedoch von *Wiegand* (Wiegand et al. 1978; Wiegand 1989). Er entwickelte ein Spül-Saug-Endoskop und zusätzlich ein umfangreiches Instrumentarium für endoskopische Siebbeinoperationen. Im Weiteren wurden Modifikationen u.a. von *Draf* (Draf 1982; Draf u. Weber 1993), *Stammberger* (Stammberger 1985b; Stammberger et al. 1987) und *Kennedy* (Kennedy 1985a u. 1985b) entwickelt. Neben dem üblichen Instrumentarium werden verschiedene Winkeloptiken nach Hopkins benutzt (Wiegand 1989). So haben sich z.B. die monookularen Optiken mit einer Blickrichtung von 30° bei endoskopischen Operationen im Nasennebenhöhlenbereich als günstig erwiesen.

Bei chronischen, besonders polypösen und rezidivierenden Siebbeinentzündungen, bei denen die übrigen Nasennebenhöhlen nur mäßig am Entzündungsprozess beteiligt sind, kann man häufig mit der endonasalen Ausräumung des Siebbeins auskommen. Falls notwendig, erfolgt zunächst die Entfernung größerer Polypen aus der Nasenhöhle bzw. aus dem mittleren Nasengang. Bei der Messerklingertechnik wird zunächst eine Infundibulotomie mit einem Sichelmesser und Infundibulotom durchgeführt. Anschließend wird mit freien Stanzen und Nasenzangen das Mukoperiost auch im Bereich der lateralen Wand des Infundibulums mit dem Processus uncinatus entfernt. Falls erforderlich, wird die Bulla ethmoidalis eröffnet und reseziert mit einer Blakesley-Siebbeinzange, wodurch der Zugang zum Ostium maxillare, dem vorderen Siebbein und dem Ductus frontalis verbessert wird. Hier können nun die erkrankten Siebbeinzellen von anterior nach posterior ausgeräumt werden. Ist auch das hintere Siebbein erkrankt, wird die Grundlamelle der mittleren Muschel vorsichtig eingedrückt und die erkrankten Zellen weiter nach posterior bis zur Keilbeinhöhle saniert. Wenn gleichzeitig mit der Siebbeinausräumung eine Kieferhöhlenoperation angezeigt ist, so kann diese mit endonasaler

Erweiterung des Kieferhöhlenostiums im mittleren Nasengang durchgeführt werden. Die postoperative Nachsorge beschränkt sich auf tägliche Entfernung von Krusten und Granulationen und in einigen Fällen auf die Applikation von cortisonhaltigen Salben. Nach etwa einer Woche kann die Nasenpflege in größeren Abständen erfolgen (Messerklinger 1979; Stammberger 1985b; Stammberger et al. 1987; Wiegand 1989).

Eine weitere Möglichkeit des transnasalen chirurgischen Eingriffs ist die mit ausschließlicher Verwendung eines Operationsmikroskops (z.B. Zeiss OPMI 1). Das binokulare Mikroskop ermöglicht dem Operateur ein exzellentes, stereoskopisches und vergrößertes Sehen. Außerdem ermöglicht das Operationsmikroskop ein bimanuelles operieren, besonders wenn zusätzlich ein selbsthaltendes Spekulum benutzt wird. Die Vorteile des Endoskops sind gekennzeichnet durch Weitwinkelblick und abgewinkelte Blickrichtung. Allerdings handelt es sich um ein monookulares Gerät, welches zusätzlich durch eine Hand des Chirurgen geführt werden muss. Ferner führen Blutungen leicht zu beeinträchtigten Sichtverhältnissen (Ilberg et al. 1990, Weber 1991; Draf u. Weber 1993).

Als Nachteile der funktionellen endoskopischen Sinuschirurgie (FESS) gegenüber offenen Eingriffen nach breiter Hautinzision ist zu erwähnen, dass die heute gebräuchlichen starren Instrumente nur Bewegungen mit höchstens 3 Freiheitsgraden erlauben. Das räumliche Sehen wird eingeschränkt, da das Operationsfeld nur zweidimensional erscheint. Weiterhin geht das intraoperative Tasten, welches jeder Operateur schätzt, um anatomische Strukturen von pathologischem Gewebe differenzieren zu können, verloren. Mittlerweile wurde die 3D-Endoskopie entwickelt, um eine echte stereoskopische Sicht zu erzeugen (Plinkert et al. 1996).

Mit Hilfe der endonasal-mikrochirurgischen Operationstechnik lässt sich die chronisch polypös hyperplastische Schleimhaut und das nicht-invasive Pilzmaterial (allergic mucin) der Nasennebenhöhlen selektiv entfernen. Nach operativer Sanierung der pathologisch veränderten Nasennebenhöhlenschleimhaut und des Nasenschleims, besonders der Siebbein- und Kieferhöhlenschleimhäute, und Wiederherstellung der Belüftung ist bei Kontroll-Endoskopien meist eine Normalisierung auch massiv geschädigter Schleimhäute zu erwarten. Bleiben Reste in den Nebenhöhlen zurück, so sind Frührezidive vorprogrammiert. Somit ist auch zu erklären warum in der Literatur Rezidivraten zwischen 32% und 100% angegeben werden. Insgesamt gesehen wird durch die FESS die Regenerationsfähigkeit der Nebenhöhlenschleimhäute gefördert (Stammberger 1985a; Hosemann et al. 1995; Lund 2000).

An dem Zentrum der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main wurden alle endonasalen Operationen in Vollnarkose durchgeführt. Zur präoperativen Diagnostik gehörte ein NNH-CT. Die horizontale und koronare Schichtung sind obligat für eine sichere und räumliche Orientierung in dieser schwierigen anatomischen Region (Ilberg et al. 1990).

2.14 Medikamentöse Therapiemöglichkeiten

2.14.1 Glucocorticoide

Zur Therapie der Nasenpolypen ist die topische aber auch systemische Anwendung von Glucocorticoiden auf Grund ihrer antiinflammatorischen Funktion nicht neu. Glucocorticoide wirken typischerweise besonders eindrucksvoll bei eosinophilenassoziierten Entzündungen. Mit dieser Therapie können die Größe der Polypen sowie der Atemwiderstand signifikant verbessert werden (Bachert et al. 2003).

Seit 1973 stehen potente Glucocorticoide zur inhalativen Anwendung zur Verfügung. Diese (Beclomethasondipropionat, Budesonid, Flunisolid, Flucortinbutylester, Fluticasonpropionat, Triamcinolonacetonid, Mometason) unterscheiden sich von den klassischen Steroiden zur systemischen Anwendung (z.B. Betamethason, Dexamethason, Hydrocortison, Prednisolon, Methylprednisolon) durch eine C₁₇-Veresterung, die ihnen eine stärkere Lipophilie (verbesserte Penetration in die Schleimhäute) und höhere Affinität zum intrazellulären Steroidrezeptor verschafft. Zudem erreichen sie durch C₆- und C₉-Halogensubstitution eine größere metabolische Stabilität (Klimek et al. 1998, Klimek u. Bachert 2002).

Die Wirkung der Glucocorticoide (GS) wird von zytoplasmatischen Rezeptoren (Glucocorticoidrezeptor) vermittelt, die in zahlreichen Zellen gefunden werden. Steroide sind lipophil und können daher rasch durch die Zellmembran penetrieren. Die Bindung an den Rezeptor löst ein Protein, welches diesen im Ruhezustand inaktiviert. Der GS-Rezeptorkomplex dringt in den Zellkern ein und wirkt dort als Transkriptionsfaktor der Proteinbiosynthese, indem er an spezielle Erkennungssequenzen der DNA in Promotorregionen, sog. GRE (glucocorticoid responsive elements) bindet. GS können Zielgene entweder aktivieren oder unterdrücken und hierdurch die spezifische mRNA-Produktion erhöhen oder hemmen. Hierdurch kann die Transkription zahlreicher inflammatorischer Mediatoren (z.B. Zytokine) unterdrückt bzw. die Produktion antiinflammatorischer Mediatoren und anderer Signalproteine (z.B. Lipocortin 1 und β -Adrenozeptoren) erhöht werden (Klimek u. Bachert 2002).

Topisch applizierte GS setzen die Kapillarpermeabilität herab, vermindern die glanduläre Antwort auf cholinerge Stimuli, greifen in den Arachidonsäuremetabolismus ein mit nachfolgender Reduktion der Mediatorproduktion, vermindern die Zytokinproduktion von TH2-Lymphozyten und inhibieren den Einstrom von Eosinophilen und Basophilen in die Schleimhäute (Meltzer 1995). Bei chronisch entzündlichen Nebenhöhlenerkrankungen mit Eosinophilie haben die T-Lymphozyten eine wichtige regulative Funktion. Diese setzen Zytokine frei, die die Zellaktivierung steuern und über ihren Einfluss auf Produktion und Expression von Chemokinen und Adhäsionsmolekülen auch die Zellmigration regulieren. GS haben eine sehr gute Wirkung auf intramukosale T-Lymphozyten im Sinne einer Reduktion von CD3-positiven (Gesamt T-Zellen), CD4-positiven

(T-Helferzellen), CD8-positiven (T-Supressorzellen) und CD25-positiven (aktivierten) T-Zellen. Diese Effekte sind bei topischer Applikation offensichtlich besonders auf epitheliale Wirkmechanismen zurückzuführen (Rak et al. 1994; Baroody et al. 1998).

GS reduzieren die Gesamtzahl Eosinophiler in der Schleimhaut und in noch erheblich stärkerem Ausmaß die Zahl aktivierter Eosinophiler (Bentley et al. 1992). Dies ist offensichtlich auf eine verminderte Produktion von Chemokinen wie Eotaxin, IL-8 und RANTES (Wang et al. 1996) und überlebensverlängernder Zytokine (IL-5, IL-3, GM-CSF) zurückzuführen (Meltzer 1995; Rak et al. 1994, Roca-Ferrer 1997). Die Inhibierung von Produktion und Freisetzung proinflammatorischer und regulatorischer Zytokine beeinflusst auch die Expression von Adhäsionsmolekülen wie E-Selektin, VCAM-1 und ICAM-1. Damit ließe sich die Hemmung der Migration von Entzündungszellen zumindest teilweise erklären (Van den Stolpe et al. 1993). In anderen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Vitalität eosinophiler Granulozyten eher durch eine corticosteroidbedingte Hemmung der eosinophilen-assoziierten Zytokine IL-5 und IL-3, als durch direkte Corticosteroid-Wirkung auf Eosinophilen bewirkt wird (Rudack 2002).

Da die eosinophilen Granulozyten eine wesentliche Rolle bei der chronischen Sinusitis und der Polyposis nasi spielen, sind derzeit Corticosteroide die wesentliche therapeutische Säule zur Behandlung dieser mit lokaler Hypereosinophilie einhergehenden Erkrankungen. Es hat sich hier durch die Entwicklung von potenten lokalwirksamen Steroiden mit einem guten First-Pass-Effekt eine nebenwirkungsärmere Alternative zur hoch dosierten systemischen Behandlung entwickelt. Nichtsdestotrotz ist die Steroidtherapie nach wie vor nicht frei von Nebenwirkungen und auch nicht streng selektiv für die zu behandelnde Erkrankung (Rasp 2002).

2.14.2 Hyposensibilisierungstherapie

Die Einführung der spezifischen Immuntherapie (SIT) oder Hyposensibilisierungsbehandlung durch Exposition gegenüber ansteigenden Dosen des relevanten Allergens mittels subkutaner Injektion geht auf Noon im Jahre 1911 zurück (Noon 1911). Im Gegensatz zur These eines humoralen Prinzips in Form blockierender Antikörper steht die heute favorisierte Vorstellung, dass T-Lymphozyten für den Wirkmechanismus der SIT eine zentrale Bedeutung besitzen (Durham 1995). Insbesondere T-Helferlymphozyten des T_{H2}-Typs, welche u.a. IL-4 und IL-5 in hohem Maße produzieren, spielen für die Entwicklung, Aufrechterhaltung und Auslösung einer Soforttypallergie eine essenzielle Rolle. Die Anlockung, Differenzierung und Aktivierung von Eosinophilen ist ebenfalls abhängig von T_{H2}-Mediatoren wie IL-3 und IL-5. T_{H2}-Zellen sind somit für die Sensibilisierungs- und die Auslösephase der Spätphasenreaktion (Late phase reaction, nicht zu verwechseln mit der Allergie vom verzögerten Typ), die in der Regel einige Stunden nach Allergenexposition auftritt, von grundlegender Bedeutung (Klimek et al. 1998).

Das Prinzip, das der klassischen SIT mit subkutanen Allergeninjektionen zugrunde liegt, ist eine Umgehung des Epithels und eine Applikation großer Allergenmengen. Dadurch kommt es zu einer vielfältigen Beeinflussung der Immunantwort auf unterschiedlichen Ebenen. Die nun ausgelöste Immunantwort steht nicht mehr unter dem Einfluss des epithelialen Mikromilieus mit Mediatoren, die auch von Seiten der Epithelzellen gebildet werden und eventuell die Aktivierung von T_{H2}-Zellen relativ begünstigen (Bellinghausen et al. 1996; Klimek et al. 1998).

Die Gegenspieler der T_{H2}-Lymphozyten sind die T_{H1}-Zellen. Das von T_{H1}-Zellen produzierte IFN- γ inhibiert die Differenzierung von T_{H2}-Zellen, während die von den T_{H2}-Zellen gebildeten Lymphokine IL-4 und IL-10 die Entwicklung von T_{H1}-Zellen hemmen (Maggi et al. 1992). Eine ausgewogene Immunantwort beruht auf einem austarierten Gleichgewicht zwischen T_{H1}- und T_{H2}-Zellen. Bei Allergikern ist diese Balance zugunsten der T_{H2}-Zellen verschoben. Nach heutigem Verständnis veranlasst die SIT eine Umorientierung der allergeninduzierten Lymphokinproduktion zu einem dominierenden T_{H1}-Zytokinprofil. Da das Mengenverhältnis von IL-4 und seinem Regulator IFN- γ das Ausmaß der IgE-Synthese durch B-Zellen steuert, hat die Umorientierung eine verminderte IgE-Produktion zur Folge. IFN- γ inhibiert zusätzlich die Differenzierung von T_{H2}-Zellen aus Vorläuferzellen, dadurch stehen weniger T_{H2}-Zellen zur Verfügung, um B-Zellen Hilfe zur Produktion von IgE-Antikörpern zu leisten. Weiterhin werden die Effektorzellen (Mastzellen, Basophile, Eosinophile) durch die SIT in ihrer Funktion beeinflusst. So resultiert eine veränderte Zytokinproduktion in kutanen Spätphasenreaktionen und ein verminderter Einstrom von Eosinophilen in der Haut oder Schleimhaut nach einer Allergenprovokation (Durham et al. 1991). Weiterhin wird die Expression von Aktivitätsparametern von Eosinophilen wie ECP vermindert (Rak et al. 1988). Die positiven Effekte der SIT sind somit auf der Basis der Umorientierung des Lymphokinprofils der induzierten T-Zellen zu erklären.

Ausgehend von der Vermutung einer allergischen Genese wurde von *Mabry* eine systemische antifungale Immuntherapie mit gutem Erfolg durchgeführt. Die Patienten wurden sowohl mit Pilzantigenen als auch mit anderen Antigenen (Gräser, Sträucher, Tierhaare etc.) desensibilisiert. In den Studien konnte gezeigt werden, dass nach der Hyposensibilisierungstherapie weniger Rezidive auftraten und die topischen bzw. systemischen Corticosteroidgaben deutlich verringert werden konnten und somit die Nebenwirkungen dieser Medikamente sich weiter minimierten (Mabry et al. 1997a; Mabry u. Mabry 1997b, Mabry et al. 1998). Andere Arbeitsgruppen konnten ähnliche Ergebnisse erzielen, wobei die SIT 6-8 Wochen nach dem chirurgischen Eingriff eingeleitet wurde (Folker et al. 1998). Ebenso konnte nach postoperativ durchgeführter Hypersensibilisierung ein signifikanter Rückgang der Rezidivoperationen verzeichnet werden (Bassichis et al. 2001).

2.14.3 Antimykotika

Die Annahme von *Ponikau et al. 2000*, *Stammberger et al. 2000* sowie *Braun*, dass Eosinophile als Reaktion auf Pilzfragmente ursächlich an der Entstehung der chronischen Sinusitis beteiligt sind, führte zur Schlussfolgerung die Pilzinfektion mit antimykotischen Nasenspülungen zu therapieren. Klinische Untersuchungen zur Wirkung einer nasalen fungostatischen Therapie erbrachten widersprüchliche Ergebnisse.

Schon 1996 setzten *Bent* und *Kuhn* 22 Pilzkulturen von AFRS-Patienten verschiedene Antimykotika (Fluconazol, Nystatin, Amphotericin-B, Ketoconazol und Itraconazol) in vitro zu, dabei erwiesen sich Amphotericin-B und Ketoconazol als die wirksamsten. Die Mayo-Gruppe berichtete über gute Erfolge einer Spülbehandlung mit Amphotericin-B (*Ponikau et al. 2003*). Auch andere Untersuchungsgruppen konnten gute Erfolge mit dieser Behandlung bei CRS- und Nasenpolypen verzeichnen (*Ricchetti et al. 2002*), allerdings nicht bei der diffusen Form mit Verschattung sämtlicher Nasennebenhöhlen. Dabei sei die Notwendigkeit einer NNH-Operation, durch die Lokalapplikation des Antimykotikums, um rund 50% zurückgegangen. Diese Wirkung führte *Ricchetti* nicht nur auf einen antimykotischen Effekt, sondern auch auf einen möglichen zytotoxischen zurück. Er stellte die Hypothese auf, dass durch dauerhafte Amphotericin-B-Nasenspülungen sich das elektrische Potential der Epithelzellen verändert und damit der Ionentransport beeinflusst wird, so dass eine direkte Zellschädigung den Schrumpfungseffekt bzw. das vollständige Verschwinden der Polypen verursacht (*Ricchetti et al. 2002*).

In einer prospektiven, randomisierten Doppelblindstudie bei 60 Patienten mit Polyposis nasi et sinuum beeinflusste nasal appliziertes Amphotericin B den Krankheitsverlauf, gemessen z.B. anhand des NNH-CTs vor und nach Therapie, genauso wenig wie die Tatsache, ob am Ende des Therapiezyklus noch Pilze nachweisbar waren oder nicht (*Riechelmann 2003*).

In derzeitigen Therapieempfehlungen für nicht-invasive Formen der Nasennebenhöhlenmykose, die endemisch auftreten können, wird die Kombination aus funktioneller Chirurgie und lokaler sowie eventuell systemischer Steroidtherapie empfohlen (*Osguthorpe 2001*). Ergebnisse kontrollierter Studien zum Einsatz einer antimykotischen Therapie bei der chronischen Sinusitis liegen nicht vor. Es werden lediglich Einzelbeobachtungen bei nicht-invasiven Formen (*Bent und Kuhn 1996*; *Andes et al. 2000*; *Ricchetti et al. 2002*; *Ponikau et al. 2003*) und invasiven Mykosen bei immunkomprimierten Patienten (*Rizk et al. 2000*) berichtet.

3 Material und Methode

Die vorliegende Untersuchung erfolgte am Zentrum der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde (Direktor: Prof. Dr. W. Gstöttner) in Zusammenarbeit mit dem senckenbergischen Institut für Pathologie (Direktor: Prof. Dr. M.-L. Hansmann) und dem Zentrum der Hygiene, Institut für Medizinische Mikrobiologie (Direktor: Prof. Dr. V. Brade) an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main. Die Studie fand in einem Zeitraum von Februar 2002 bis Juni 2002 statt.

3.1 Gewinnung und Verarbeitung des Nasensekretes

Die Voraussetzung für die Untersuchung von Nasensekret ist eine Methode zur Gewinnung von Nasensekret bei der zu beachten ist, den Patienten sowenig wie möglich zu belasten, genügend Nasensekret zu gewinnen aber keinen allzu starken Reiz auf die Nasenschleimhaut auszuüben. Für unsere Serienmessungen haben wir das Absorptionsverfahren gewählt. Dieses beruht auf dem Kapillarsaugprinzip, dabei wird nahezu ausschließlich die dünnflüssige Solphase des biphasischen Nasensekrets gewonnen.

Zur Nasensekretgewinnung wurden sterile 60x20 mm Neuro-Tupfer aus 100% Baumwolle (Fa. Kendall GmbH 93333 Neustadt) eingesetzt. Unter rhinoskopischer Kontrolle wurde jeweils ein steriler Neuro-Tupfer mit einer sterilen Bayonett-Pinzette in die linke und rechte Nasenhaupthöhle für 10 min zur Equilibrierung mit dem Sekret eingebracht. Anschließend wurde je ein Tupfer einzeln in ein steriles Kunststoffröhrchen mit Abstandshalter (Fa. Greiner bio-one PP-Tube; 18,0/95 mm, No. 187 261) gebracht und 20 min lang bei 4000 U/min abzentrifugiert. Hierdurch wird das Sekret aus dem Neuro-Tupfer ausgeschleudert und sammelt sich am Boden des Röhrchens. Der Überstand wurde in Eppendorf-Röhrchen überführt und für die Laboranalyse bei -20°C eingefroren.

3.2 Gewinnung und Verarbeitung des Serums

Wir verwendeten 7,5 ml Serummonovetten der Firma Sarstedt (Nürnbrecht, Deutschland), die Kunststoffkugeln enthielten und füllten diese vollständig mit dem Patientenvollblut. Es wurden von jedem Patienten 10 ml Blut aus einer Unterarmvene in eine Serummonovette unter üblichen sterilen Kautelen entnommen.

Nach der Blutabnahme wurden die Serummonovetten bei 4000 U/min für eine Dauer von 20 min abzentrifugiert und anschließend das Serum abgehoben und in Eppendorf-Röhrchen überführt. Für die Bestimmung des ECP wurde das Serum 1:5 verdünnt benutzt.

3.3 In-vitro-Diagnostik mit PHARMACIA CAP-System/UniCAP®

Auf der Basis des Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST®) wurde das CAP-System (Capacity system, UniCAP®) der Firma Pharmacia entwickelt, mit charakteristischen und stabilen, an ImmunoCAP gekoppelten Allergenen. ImmunoCAP sind flexible hydrophilische Polymerträger, die in eine Kapsel eingeschlossen sind. Der Träger besteht aus einem aktivierten Zellulosederivat. Die Laboruntersuchungen mit diesem System sind ein akzeptierter und zuverlässiger Bestandteil der Allergiediagnostik.

Die Merkmale des Vollautomaten UniCAP® sind:

- Die Allergene sind an ImmunoCAP gekoppelt – eine Art Zelluloseschwamm mit wesentlich größerer Oberfläche und Bindungskapazität für Allergene als die Zellulosescheiben beim frühen IgE-Antikörper-Phadebas/Phadezym RAST®-Verfahren.
- Das Referenzsystem ist, wie für das Gesamt-IgE, am WHO-Standard kalibriert.
- Die Ergebnisse werden quantitativ in kU/l angegeben – der Messbereich ist 0,35 – 100 kU/l, in 6 Klassen unterteilt.

Die höhere Empfindlichkeit (durch höhere Bindungskapazität der ImmunoCAP) bewirkt, dass etwa 15% mehr positive Resultate mit dem CAP System gefunden werden, bei gleicher Spezifität wie im RAST System. Der weitere Messbereich des CAP Systems erlaubt die Differenzierung positiver Resultate besser als die 4 Klassen beim RAST. Mit der Kalibrierung des Referenzsystems am WHO-Standard für IgE ist der Vergleich positiver Ergebnisse für verschiedene Allergene direkt möglich.

3.3.1 UniCAP® ECP-Bestimmung

UniCAP ECP ist ein in vitro Testsystem für die quantitative Messung von Eosinophil Cationic Protein (ECP) im Humanserum. Der UniCAP ECP-Test wird mit dem UniCAP 100 Gerät (Fa. Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Schweden) durchgeführt. Der Serumspiegel des ECP repräsentiert die Konzentration des zirkulierenden Markerproteins im peripheren Blut (Nachweis bei einem relativ großen aktivierten Gewebsareal), dagegen repräsentiert das nasale ECP den regionalen Entzündungsprozess (Nachweis gelingt schon bei geringen entzündlichen Veränderungen).

Testprinzip:

Anti-ECP, kovalent gebunden an das Immuno-CAP, reagiert mit dem ECP in den Nasensekret- bzw. Serumproben der Patienten. Nach dem Waschen werden Enzymmarkierte Anti-ECP-Antikörper hinzugefügt, um die Bildung eines Komplexes zu erreichen. Nach der Inkubation wird ungebundenes Enzym-Anti-ECP abgewaschen und der gebundene Komplex mit einer Entwicklerlösung inkubiert. Nachdem die Reaktion unterbrochen wurde, misst man die

Fluoreszenz des Eluats. Die Fluoreszenz verhält sich dabei direkt proportional zur ECP-Konzentration in der Probe. Es wurde zur Bestimmung der ECP-Konzentrationen ein Fluoroimmunoassay mit den Materialien der Firma Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala Schweden durchgeführt.

Reagenzien:

1. UniCAP ECP (Art.Nr. 10-9261-01):

- 2,8 ml ECP Conjugate
 - Ca. 1,5 µg/ml Anti-ECP-β-Galactosidase (Maus monoklonale Antikörper)
 - Natriumazid 0,05%
- 0,2 ml ECP Curve Control 1 (CC-1) (humanes ECP in Puffer)
 - Natriumazid 0,05%
- Anti-ECP ImmunoCAP (α-ECP) (Maus monoclonale Antikörper)
 - Allergen ImmunoCAP Carriers (Kathon CG 0,15%)

2. UniCAP ECP Curve Control (Art.Nr. 10-9278-01):

- 0,2 ml ECP Curve Control 1 (CC-1) (humanes ECP in Puffer)
 - Natriumazid 0,05%

3. UniCAP ECP Calibrators (Art.Nr. 10-9260-01):

- 0,2 ml ECP Calibrators (Cal-xx) (human ECP in Puffer)
 - Konz. 2; 5; 15; 100 und 200 µg/l
 - Natriumazid 0,05%

4. UniCAP Development Kit (Art.Nr. 10-9263-01):

- Development Solution
 - 6,0 ml 4-Methylumbelliferyl-beta-D-galactosidase
 - Kathon CG 0,05%
- Stop Solution
 - 65 ml 4% Natriumcarbonat

5. UniCAP FluoroC (Art.Nr. 10-9264-01):

- UniCAP FluoroC (Fluorometer Kontrolle)
 - 2,2 ml 4-Methylumbelliferon

Parameter des Verfahrens (Volumen pro Bestimmung):

- Probe 40 µl
- Konjugat 50 µl
- Entwicklerlösung 50 µl
- Stopplösung 600 µl

Die Inkubationen werden vom UniCAP Gerät bei 37 °C durchgeführt.

Kalibrierung:

Die Kalibratoren (ECP Calibrators) werden zur Erstellung einer vollständigen Kalibrationskurve (2, 5, 15, 100, 200 µg ECP/l) in Doppelbestimmung angesetzt. Es wird nur eine Kurvenkontrolle in Doppelbestimmung verwendet, welche in jedem UniCAP ECP Fluoroenzymeimmunoassay-Kit enthalten ist. Die ECP Kalibratoren sind gegen reines ECP kalibriert.

Messbereich:

Der Messbereich liegt für die unverdünnte Probe zwischen 2 - 200 µg/l Die Berechnung der Ergebnisse erfolgte automatisch im UniCap 100.

Sensitivität/Spezifität:

Die Nachweisgrenze ist <0,5 µg/l

Eine sehr niedrige Kreuzreaktivität besteht zu EPX und liegt <0,1%

Testdurchführung:

1.) Nasensekret:

Nach dem Auftauen der Aliquots wurde das oben beschriebene Testverfahren durchgeführt. Die Ergebnisse für die Patientenproben werden durch Evaluierung gegen eine Kalibrationskurve ermittelt.

2.) Serum:

Die ECP-Freisetzung erfolgte durch 60-120 minütige Gerinnung bei Raumtemperatur (20-24°C). Anschließend wurde die Probe bei 4000 U/min 20 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugiert, dann in ein neues Serumröhrchen dekantiert und der oben beschriebene Fluoroimmunoassay durchgeführt. Die Ergebnisse wurden durch Evaluierung gegen eine Kalibrationskurve ermittelt.

3.3.2 UniCAP® Total IgE Bestimmung

UniCAP Total IgE ist ein in vitro Test zur quantitativen Bestimmung von zirkulierendem Gesamt-IgE in menschlichem Serum. Der UniCAP Total IgE Assay wird mit dem UniCAP 100 Gerät (Fa. Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Schweden) durchgeführt.

Testprinzip:

Anti-IgE, kovalent gebunden an das ImmunoCAP, reagiert mit dem Gesamt-IgE in den Serumproben der Patienten. Nach dem Waschgang werden enzymmakierte Antikörper gegen IgE hinzugefügt, um einen Komplex zu bilden. Nach der Inkubation wird ungebundenes Enzym-Anti-IgE ausgewaschen und der gebundene Komplex mit einer Entwicklerlösung inkubiert. Nach Abstoppen der Reaktion misst man die Fluoreszenz des Eluats. Zur Auswertung der Testergebnisse wird das Signal für die Patientenproben mit Hilfe der Eichkurve in Konzentrationen umgerechnet.

Es wurde zur Bestimmung der Total-IgE-Konzentrationen ein Fluoroimmunoassay mit den Materialien der Firma Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala Schweden durchgeführt.

Reagenzien:

1. UniCAP Total IgE (Art.Nr. 10-9251-01):

- 5,1 ml Total IgE Conjugate
 - ca. 2 µg/ml β-Galactosidase Anti-IgE (monoklonale Antikörper aus Maus)
 - Natriumazid 0,05%
- Anti-IgE-ImmunoCAP (α-IgE) (monoklonale Antikörper aus Maus)
 - Allergen ImmunoCAP Carriers (Kathon CG 0,15%)

2. UniCAP Total IgE Curve Controls (Art.Nr. 10-9257-01):

- 0,2 ml Total IgE Curve Control 1 (CC-1) (humanes IgE in Puffer)
 - Allergen ImmunoCAP Carriers (Kathon CG 0,15%)
- 0,2 ml Total IgE Curve Control 2 (CC-2) (humanes IgE in Puffer)
 - Allergen ImmunoCAP Carriers (Kathon CG 0,15%)

3. UniCAP Total IgE Calibrators (Art.Nr. 10-9252-01):

- 0,2 ml Total IgE Calibrators (Cal-xx) (human IgE in Puffer)
 - Konz. 2; 10; 50; 200; 1000 und 5000 kU/l
 - Allergen ImmunoCAP Carriers (Kathon CG 0,15%)

4. UniCAP Development Kit (Art.Nr. 10-9263-01):

- Development Solution
 - 6,0 ml 4-Methylumbelliferyl- β -D-galactosidase 0,01%
 - Kathon CG 0,05%
- Stop Solution
 - 65 ml 4% Natriumcarbonat

5. UniCAP FluoroC (Art.Nr. 10-9264-01):

- UniCAP FluoroC (Fluorometer Kontrolle)
 - 2,2 ml 4-Methylumbelliferon

Parameter des Verfahrens (Volumen je Bestimmung):

- Patientenprobe 40 μ l
- Konjugat 50 μ l
- Entwicklerlösung 50 μ l
- Stopplösung 600 μ l

Die Inkubationen werden vom UniCAP Gerät bei 37 °C durchgeführt.

Kalibrierung:

Zur Herstellung einer vollen Kalibrationskurve (2, 5, 50, 200, 1000, 5000 kU IgE/l) werden die Kalibratoren (UniCAP Total IgE-Kalibratoren) in Doppelbestimmung angesetzt. Die IgE-Standards sind gegen die 2. Int. Referenzpräparation 75/502 für Humanserum Immunglobulin E der Weltgesundheitsorganisation (WHO) kalibriert.

Messbereich:

Unverdünntes Serum 2 – 5000 kU/l

Sensitivität/Spezifität:

Die Nachweisgrenze ist <2 kU/l
Kreuzreaktivität mit anderen menschlichen Immunglobulinen bei physiologischen Konzentrationen von Ig A, IgD, IgM und IgG ist nicht zu erwarten.

3.3.3 UniCAP® Specific IgE Bestimmung

UniCAP Specific IgE ist ein in vitro Test zur Messung des Spiegels des zirkulierenden allergenspezifischen IgE in menschlichem Serum. Der UniCAP Specific IgE Assay wird mit dem UniCAP 100 Gerät (Fa. Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Schweden) durchgeführt.

Testprinzip:

Das interessierende Allergen, kovalent an das ImmunoCAP gebunden, reagiert mit dem spezifischen IgE in den Serum-Proben der Patienten. Nachdem die unspezifischen IgE abgewaschen wurden, werden enzymmakierte Antikörper gegen IgE hinzugefügt, um einen Komplex zu bilden. Nach der Inkubation wird ungebundenes Enzym-Anti-IgE abgewaschen und der gebundene Komplex wird dann mit einem Entwicklerreagenz inkubiert. Nach Beendigung der Reaktion wird das Signal gemessen. Je höher der Fluoreszenzwert, umso mehr spezifisches IgE ist in der Probe vorhanden. Zur Auswertung der Testergebnisse wird das Signal für die Patientenproben mit Hilfe der Eichkurve in Konzentrationen umgerechnet.

Es wurde zur Bestimmung der Specific IgE-Konzentrationen ein Fluoroimmunoassay mit den Materialien der Firma Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala Schweden durchgeführt.

Reagenzien:

1. UniCAP Specific IgE (Art.Nr. 10-9253-01):

- 5,1 ml Specific IgE Conjugate
 - ca. 1 µg/ml β-Galactosidase Anti-IgE (monoklonale Antikörper aus Maus)
 - Natriumazid 0,05%

2. UniCAP Specific IgE Curve Controls (Art.Nr. 10-9408-01):

- 0,2 ml Specific IgE Curve Control 1 (CC-1) (humanes IgE in Puffer)
 - Allergen ImmunoCAP Carriers (Kathon CG 0,15%)
- 0,2 ml Specific IgE Curve Control 2 (CC-2) (humanes IgE in Puffer)
 - Allergen ImmunoCAP Carriers (Kathon CG 0,15%)

3. UniCAP Specific IgE Calibrators (Art.Nr. 10-9254-01):

- 0,2 ml Specific IgE Calibrators (Cal-xx) (human IgE in Puffer)
 - Konz. 0,35; 0,7; 3,5; 17,5; 50 und 100 kU/l
 - Allergen ImmunoCAP Carriers (Kathon CG 0,15%)

4. Specific IgE Anti-IgE ImmunoCAP (Art.Nr. 14-4417-01):

- Anti-IgE ImmunoCAP (a-IgE) (Antikörper von der Maus, monoclonal)
 - Allergen ImmunoCAP Carriers (Kathon CG 0,15%)

5. UniCAP Development Kit (Art.Nr. 10-9263-01):

- Development Solution
 - 6,0 ml 4-Methylumbelliferyl- β -D-galactosidase 0,01%
 - Kathon CG 0,05%
- Stop Solution
 - 65 ml 4% Natriumcarbonat

6. UniCAP FluoroC (Art.Nr. 10-9264-01):

- UniCAP FluoroC (Fluorometer Kontrolle)
 - 2,2 ml 4-Methylumbelliferon

Parameter des Verfahrens (Volumen je Bestimmung):

- Patientenprobe 40 μ l
- Konjugat 50 μ l
- Entwicklerlösung 50 μ l
- Stopplösung 600 μ l

Die Inkubationen werden vom UniCAP Gerät bei 37 °C durchgeführt.

Kalibrierung:

Die Patientenproben werden in Einzelbestimmung getestet. UniCAP Specific IgE Kalibratoren werden in Doppelbestimmung getestet, um eine volle Kalibrationskurve (0.35, 0.7, 3.5, 17.5, 50, 100 kU IgE/l) zu erhalten. Die IgE-Standards sind gegen die 2. Int. Referenzpräparation 75/502 für Humanserum Immunglobulin E der Weltgesundheitsorganisation (WHO) kalibriert.

Messbereich:

0,35 – 100 kU/l

Sensitivität/Spezifität:

Die Nachweisgrenze ist <0,35 kU/l
Kreuzreaktivität mit anderen menschlichen Immunglobulinen bei physiologischen Konzentrationen von Ig A, IgD, IgM und IgG ist nicht zu erwarten.

Die nachfolgend beschriebenen Allergene stellen eine Auswahl von stark allergenen Gräsern, Kräutern, Bäumen, Milben und Schimmelpilzen dar. Die Zugehörigkeit mehrerer Pflanzen zu ein und derselben Untergattung bedingt das Vorhandensein gemeinsamer Antigene und folglich das Auftreten von Kreuzreaktionen. Die Mehrzahl klinisch relevanter Gräser gehört zur gleichen botanischen Familie, die weisen daher untereinander Kreuzreaktionen auf. Der Patient reagiert dementsprechend normalerweise auf mehrere Gräser.

Pflanzenfamilie: Gramineae (Gräser)

ImmunoCAP g 6 (Art.Nr. 14-4100-01) = Lieschgras (*Phleum pratense*)

ImmunoCAP g 12 (Art.Nr. 14-4101-01) = Roggen (*Secale cereale*)

Pflanzenfamilie: Cpositae (Kräuter)

ImmunoCAP w 6 (Art.Nr. 14-4103-01) = Beifuß (*Artemisia vulgaris*)

ImmunoCAP w 9 (Art.Nr. 14-4156-01) = Spitzwegerich (*Plantago lanceolata*)

Pflanzenfamilie: Fagales (Bäume)

ImmunoCAP t 2 (Art.Nr. 14-4146-01) = Erle (Grauerle) (*Alnus incana*)

ImmunoCAP t 3 (Art.Nr. 14-4102-01) = Birke (Weißbirke) (*Betula pendula*)

Dermatophagoides: Hausstaubmilben

ImmunoCAP d 1 (Art.Nr. 14-4107-01) = *Dermatophagoides pteronyssinus*
(europ. Hausstaubmilbe)

ImmunoCAP d 2 (Art.Nr. 14-4108-01) = *Dermatophagoides farinae* (amerik. Staubmilbe)

Pilzallergene

Mischallergene: ImmunoCAP mx 2 (Art.Nr. 14-4320-01) Schimmelpilzmischung
m 1 = *Penicillium notatum*, m 2 = *Cladosporium herbarum*, m 3 = *Aspergillus fumigatus*,
m 5 = *Candida albicans*, m 6 = *Alternaria alternata*,
m 8 = *Helminthosporium halodes*

ImmunoCAP (Art.Nr. 14-4160-01) m 1 = *Penicillium notatum*

ImmunoCAP (Art.Nr. 14-4105-01) m 2 = *Cladosporium herbarum*

ImmunoCAP (Art.Nr. 14-4119-01) m 3 = *Aspergillus fumigatus*

ImmunoCAP (Art.Nr. 14-4120-01) m 5 = *Candida albicans*

ImmunoCAP (Art.Nr. 14-4106-01) m 6 = *Alternaria alternata* (*A. tenuis*)

ImmunoCAP (Art.Nr. 14-4259-01) m 8 = *Helminthosporium halodes*

3.4 Kulturelle Untersuchung

Die Nasensekretgewinnung erfolgte nach dem unter 3.1 beschriebenen Prinzip. Die weitere Aufbereitung des Mukus erfolgte im Zentrum für Hygiene, Institut für Medizinische Mikrobiologie (Direktor: Prof. Dr. V. Brade; Betreuung: OA Dr. V. Schäfer, Dr. R. Enzensberger und MTA Fr. Parschau) an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main.

Verarbeitung:

Die Proben wurden zur Aufspaltung der Disulfidbrücken des Schleims mit Sputasol® versetzt, 30 sec gevortext und 15 min bei Raumtemperatur inkubiert.

Sputasol® wird zur Schleimverflüssigung eingesetzt, um die Anzahl und die Größe der isolierten Kolonien nach der Kultivierung und zweiwöchiger Bebrütung bei dem Untersuchungsmaterial zu verbessern. Der Inhalt eines Röhrchens wurde in 5 ml sterilem Aqua dest. sorgfältig gelöst. Diese Lösung wurde dann zu 95 ml sterilem Aqua dest. gegeben und gut gemischt, wobei der Schleim mit dem gleichen Volumen Sputasol®-Lösung versetzt und durch sorgfältiges Schütteln gleichmäßig vermischt wurde.

Zusammensetzung je Röhrchen

OXOID (Art.-Nr. SR 89)

Dithiothreitol	0,1 g
Natriumchlorid	0,78 g
Kaliumchlorid	0,02 g
Dinatriumhydrogenphosphat	0,112 g
Kaliumdihydrogenphosphat	0,02 g

Danach folgte eine 10 min Zentrifugation bei 3500 U/min. Der so gewonnene Überstand wurde verworfen und das Sediment durch neuerliches 30 sec Vortexen homogenisiert und wie folgt weiterverwendet:

1. Direktpräparat: Gramfärbung, evtl. Calcofluor-Färbung
2. Sabouraud-Bouillon beimpfen zur Anreicherung

Zusammensetzung der Bouillon

(OXOID Art.-Nr. CM 147)

Caseinpepton, pankreatisch verdaut	5,0 g/l
Fleischpepton, peptisch verdaut	5,0 g/l
Glucose	20,0 g/l
pH 5,7 ± 0,2	

3. Beimpfung folgender Kulturmedien (je 100 µl):
 - Blutagar (37°C)
 - Sabouraud-Glucose-Agar mit Chloramphenicol (0,4 g/l) und Gentamycin (0,04 g/l)
 - Sabouraud-Glucose-Agar mit Chloramphenicol (0,4 g/l), Gentamycin (0,04 g/l) und Actidion (0,05 g/l)

Zusammensetzung des Sabouraud-Glucose-Agers
(OXOID Art.-Nr. CM 41):

Mykologisches Pepton	10,0 g/l
Glucose	40,0 g/l
Agar	15,0 g/l
pH 5,6 ± 0,2	

- Czapek-Dox-Aga ist ein synthetischer Nährboden mit Natriumnitrat als einziger Stickstoffquelle, der sich zur allgemeinen Anzucht von Pilzen eignet.

Zusammensetzung des Czapek-Dox-Agars
(OXOID Art.-Nr. CM 97)

Natriumnitrat	2,0 g/l
Kaliumchlorid	0,5 g/l
Magnesiumglycerophosphat	0,5 g/l
Eisen(II)-sulfat	0,01 g/l
Kaliumsulfat	0,35 g/l
Saccharose	30,0 g/l
Agar	12,0 g/l
pH 6,8 ± 0,2	

- Kimmig-Agar mit Penicillin G (40 000 IE) und Streptomycin (40 mg/l) ist zur Züchtung, Isolierung, Identifizierung und Stammhaltung von Pilzen geeignet.

Zusammensetzung des Kimmig-Agers
(OXOID Art.-Nr. CM 911)

Pepton	15,0 g/l
Natriumchlorid	1,0 g/l
Glucose	19,0 g/l
Agar	15,0 g/l
pH 6,5 ± 0,2	

Diese Nährböden sind zur Kultivierung und Differenzierung von Pilzen geeignet. Durch den Zusatz der oben angegebenen Antibiotika werden diese Nährböden zur Isolierung pathogener Pilze aus Untersuchungsmaterial mit starker Begleitflora eingesetzt, da Antibiotika in der Regel auf das Wachstum der meisten Bakterien hemmend wirken.

Nach der Überimpfung wurden die Kulturmedien 14 Tage lang bei 30°C inkubiert und jeden zweiten Tag beurteilt, sobald ein Wachstum erkennbar war, identifiziert. Die angereicherte Sabouraud-Bouillon wurde zweimal die Woche auf den oben genannten Agarböden ausgestrichen.

Die Pilzdifferenzierung fand mikroskopisch (OT-Kultur, Tesafilm-Präparat) und kulturell statt.

3.5 Zytologische Untersuchung

Die zytologische Aufbereitung des gewonnenen Nasenschleimes erfolgte im zytologischen Labor der Pathologie (Direktor: Prof. Dr. M.-L. Hansmann; Betreuung: Fr. Lene) an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main.

Für die zytologische Untersuchung wurde das zellhaltige Nasensekret mittels sterilen Watteträgers gesammelt und ähnlich einem Blutausschlag auf dem Objektträger ausgestrichen. Es folgte nach Fixierung der Zellausstrichpräparate die Färbung nach Pappenheim (Kombination der Färbungen nach May-Grünwald und Giemsa) und Grocott (s.u.). Die lichtmikroskopische Betrachtung der zunächst nach Pappenheim gefärbten Präparate erlaubte eine Aussage über die im Nasensekret vorhandene Eosinophilie. Der Eosinophilengehalt des Nasenschleims ist dadurch objektivierbar, erlaubt jedoch keine Differenzierung, ob es sich bei den angefärbten Zellen um ruhende oder aktiv am Entzündungsprozess beteiligte, aktivierte Eosinophile (EG-2-positive Zellen) handelt. Zur Abschätzung des Aktivierungsgrades eosinophiler Granulozyten in der Nasenschleimhaut wurde eine Analyse der freigesetzten Proteine des ECP (s. 3.3.1) im Nasensekret und Serum durchgeführt.

Bei der May-Grünwald-Lösung handelt es sich um ein in Methanol gelöstes Eosin-Methylenblau-Gemisch, welches zu einer sauren Rosafärbung des Hämoglobins sowie der eosinophilen und neutrophilen Granulationen führt. Die Giemsa-Lösung hingegen besteht aus in Methanol gelöstem Azur-Eosin-Methylenblau, das eine basische violettrote Färbung der Kernstrukturen hervorruft.

Die May-Grünwald-Lösung kann direkt zur Färbung benutzt werden. Zur Herstellung der gebrauchsfertigen Giemsa-Lösung hingegen wird die Giemsa-Stammlösung zunächst durch einen Faltenfilter filtriert. Dieses Filtrat wird dann im Verhältnis 1:5 mit Aqua dest. aufgefüllt und kann daraufhin zur Färbung benutzt werden.

Die Färbung beginnt mit 5-minütiger Einwirkung der May-Grünwald-Lösung. Dabei kommt es gleichzeitig zur Fixierung der Präparate durch das als Lösungsmittel in dieser Färbelösung enthaltene Methanol. Danach werden die Präparate mit Aqua dest. abgespült und anschließend für 15 Minuten in die Giemsa-Lösung gegeben. Im Anschluss daran werden die Objektträger erneut in Aqua bidest. gespült und abschließend an der Luft getrocknet. Die eosinophilen Granulozyten nahmen eine reine, schöne rote Farbe an.

Pilzfäden (Hyphen) oder Sprosszellen sind im zytologischen Präparat der Nasenschleimhaut bei Normalpersonen nur sporadisch anzutreffen, aufgrund ihrer Größe bzw. Form jedoch gut von Bakterien abgrenzbar. Schimmelpilze zeichnen sich durch teilweise verzweigte und segmentierte Hyphen aus, werden im zytologischen Präparat aber nur selten in Form eines regelrecht aufgebauten Myzels (Geflecht aus Hyphen) mit spezifischen Sporenformen,

z.B. Sporangiosporen (*Mucor* spp.) und Konidien (*Aspergillus* spp.), angetroffen. Sprosspilze sind an den typischen rund bis oval geformten Hefezellen (Durchmesser 3-5 µm) erkennbar, welche oft haufen- bzw. kettenförmig gelagert sind und die Ausbildung eines Myzels vortäuschen können (Pseudomyzel). Somit wurde die Grocott-Färbung zur Identifizierung von Pilzsporen und Pilzfragmenten angefertigt.

Die Lichtmikroskopische Auswertung der zytologischen Präparate erfolgte unter 250facher Vergrößerung bei Durchmusterung von mindestens 10 repräsentativen Gesichtsfeldern. Das Ergebnis wurde anhand semiquantitative Schätzung (0 = keine Eosinophile, 1 = wenig, 2 = mäßig, 3 = viele; keine Pilze = 0, Pilze = 1) angegeben.

3.6 Histologische Aufbereitung der Präparate

Die intraoperativ entnommenen Gewebstücke wurden in 4%iger Formalinlösung fixiert. Die histologische Aufbereitung der Präparate erfolgte in der Pathologie (Direktor: Prof. Dr. M.-L. Hansmann; Betreuung: OÄ Dr. E. Lambrecht) der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main.

Die konservierten Gewebstücke wurden nach üblicher Vorgehensweise in einen Paraffinblock überführt und anschließend mittels eines Mikrotoms zu Gewebeschnitten angefertigt. Nun erfolgte die Doppelfärbung der Präparate nach Hämalaun-Eosin (HE), die das Ausmaß und die zelluläre Zusammensetzung des entzündlichen Infiltrats zeigte. In dieser Färbung konnte man, falls vorhanden, Eosinophilie und Charcot-Leyden-Kristalle als Kriterien des allergischen Schleims finden. Spezielles Augenmerk wurde auf die Anordnung der Eosinophilen im Schleim und der Schleimhaut gelegt, insbesondere auf die Ausbildung eosinophiler Anhäufungen (Cluster) im Schleim. Die HE-Färbung zeigte Zellkerne, Kalk, sauren Schleim in blauer Farbe, alles Übrige in verschiedenen Tonabstufungen in roter Farbe.

Einzelne Pilzhyphen lassen sich mit dieser Färbung nur selten erkennen. Deswegen erfolgte zusätzlich eine Grocott-Färbung. Dabei handelte es sich um eine Modifikation der Silberimprägnationsmethode von Gomory, die eine kräftige und spezifische schwarze Darstellung auch einzelner Pilzhyphen und Pilzfragmente im Gewebe und Schleim ermöglicht. Dabei werden Glykoproteinstrukturen der Pilzwand zunächst mit Kaliumpermanganat oxidiert, mit Eisenammoniumsulfat sensibilisiert und mit Methenamin-Silbernitrat imprägniert. Die Reduktion der niedergeschlagenen Silberionen führt dann zur Farbgebung.

3.7 Statistische Auswertung

An der vorliegenden Untersuchung haben 26 Patienten und 6 Probanden (insgesamt 32 Testpersonen) teilgenommen. Nur ein Teil der erhobenen Daten - ECP-Werte im Nasensekret ($\mu\text{g/l}$) und Serum ($\mu\text{g/l}$) und Total-IgE im Serum (kU/l) – wurden einer statistischen Auswertung unterzogen.

Folgende Hypothesen waren zu formulieren:

- a) H_0 : Es gibt keinen mathematisch mit einer ausreichenden Genauigkeit reproduzierbarer Zusammenhang zwischen ECP im Nasensekret und ECP im Serum.
- H_1 : Es gibt einen mathematisch mit einer ausreichenden Genauigkeit reproduzierbarer Zusammenhang zwischen ECP im Nasensekret und ECP im Serum.
- b) H_0 : Es besteht kein mathematisch mit einer ausreichenden Genauigkeit reproduzierbarer Unterschied zwischen ECP im Nasensekret bzw. Serum der Kontrollgruppe und der CRS-Patientengruppe.
- H_1 : Es besteht ein mathematisch mit einer ausreichenden Genauigkeit reproduzierbarer Unterschied zwischen ECP im Nasensekret bzw. Serum der Kontrollgruppe und der CRS-Patientengruppe.
- c) H_0 : Es gibt keinen mathematisch mit einer ausreichenden Genauigkeit reproduzierbarer Zusammenhang zwischen ECP im Nasensekret bzw. Serum und Total-IgE im Serum.
- H_1 : Es gibt einen mathematisch mit einer ausreichenden Genauigkeit reproduzierbarer Zusammenhang zwischen ECP im Nasensekret bzw. Serum und Total-IgE im Serum.
- d) H_0 : Es besteht kein mathematisch mit einer ausreichenden Genauigkeit reproduzierbarer Unterschied zwischen Total-IgE im Serum der Kontrollgruppe und der CRS-Patientengruppe.
- H_1 : Es besteht ein mathematisch mit einer ausreichenden Genauigkeit reproduzierbarer Unterschied zwischen Total-IgE im Serum der Kontrollgruppe und der CRS-Patientengruppe.
- e) H_0 : Es gibt keinen mathematisch mit einer ausreichenden Genauigkeit reproduzierbarer Zusammenhang zwischen ECP im Nasensekret von CRS Patienten mit Nachweis von Pilzen im Ausstrich und ECP im Nasensekret von CRS Patienten ohne Nachweis von Pilzen im Ausstrich.

H₁: Es gibt einen mathematisch mit einer ausreichenden Genauigkeit reproduzierbarer Zusammenhang zwischen ECP im Nasensekret von CRS Patienten mit Nachweis von Pilzen im Ausstrich und ECP im Nasensekret von CRS Patienten ohne Nachweis von Pilzen im Ausstrich.

Die statistischen Hypothesen lauteten bei zweiseitiger Fragestellung:

Nullhypothese: $H_0 : \mu \neq 0$

Allernativhypothese: $H_1 : \mu = 0$

Ziel der Studie war es, die Nullhypothese zu verwerfen. Weitere Variablen wurden deskriptiv ausgewertet.

a) und c) werden anhand des Korrelationskoeffizienten „r“ überprüft (siehe 3.7.2).

b), d), und e) werden anhand des U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney überprüft (siehe 3.7.1).

3.7.1 U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney

Aufgrund der geringen Fallzahl und damit statistische „Ausreißer“ das Testergebnis möglichst wenig verfälschen, wurde der Median als stellvertretender Durchschnittswert gewählt. Unter dem Median bzw. Zentralwert versteht man den mittelsten Wert einer der Größe nach geordneten Folge von Zahlen (Sachs 2004).

Um zu prüfen, ob sich Unterschiede in den Testergebnissen statistisch signifikant verhalten, wurde der U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney, ein nicht-parametrischer Zwei-Stichproben-Test für unverbundene Stichproben mit einer hohen Empfindlichkeit gegenüber Medianunterschieden, verwendet, bei dem eine Normalverteilung der Werte nicht gefordert wird. Das heißt, der Test macht eine Aussage darüber, vergleicht man zum Beispiel den ECP-Werte im Nasensekret einer Kontrollgruppe (1. Stichprobe) mit den ECP-Werte einer Patientengruppe (2. Stichprobe), ob sich diese signifikant verhalten. Unter Signifikanz versteht man, dass sich nach Anwendung eines geeigneten statistischen Testverfahrens die Stichproben mehr als zufällig mit einer hinreichend kleinen vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit (p) voneinander unterscheiden (Sachs 2004).

In dieser Studie sind die Irrtumswahrscheinlichkeiten alle zweiseitig angegeben, da vorher nicht objektiv begründet werden konnte, dass beispielsweise der Median einer Testgruppe größer bzw. kleiner zu erwarten wäre als der Median der Vergleichsgruppe.

Von einem signifikanten Ergebnis spricht man, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit einseitig kleiner als 5% ($p \leq 0,05$) bzw. zweiseitig kleiner als 10% ($p \leq 0,1$) ist. Die Auswertung erfolgte mit dem Statistikprogramm BIAS 8.02.

3.7.2 Der Korrelationskoeffizient „r“

Der Korrelationskoeffizient „r“ ist definiert, um eine lineare Abhängigkeit zweier Größen zu testen. Bei dieser Studie wird anhand dieses Korrelationskoeffizienten überprüft, ob eine lineare Abhängigkeit zwischen ECP im Nasensekret und Serum, ECP im Nasensekret und Total-IgE im Serum bzw. ECP im Serum und Total-IgE im Serum.

Die Korrelationsanalyse untersucht stochastische Zusammenhänge zwischen gleichwertigen Zufallsvariablen anhand einer Stichprobe. Der Korrelationskoeffizient ist eine Maßzahl für die Stärke und Richtung eines linearen Zusammenhanges. Der Korrelationskoeffizient kann Werte zwischen +1 und -1 annehmen. Das positive Vorzeichen bedeutet, dass bei Zunahme der x-Werte auch die y-Werte ansteigen. Bei negativen Vorzeichen verhält es sich genau umgekehrt. Besteht kein linearer Zusammenhang, ist der Korrelationskoeffizient gleich Null. Der Betrag des Korrelationskoeffizienten gibt an, wie eng die Beziehung zwischen x und y ist, wobei die Voraussetzung ist, dass ein linearer Zusammenhang zwischen stetigen Zufallsvariablen besteht, die zweidimensional verteilt sind und als unabhängige Beobachtungspaare vorliegen (Sachs 2004).

4 Ergebnisse

4.1 Patienten- und Kontrollgruppe

An der Untersuchung nehmen 26 Patienten (weiblich: 9, männlich: 17) im Alter von 25 bis 69 Jahren (medianes Alter: 47,1) und 6 Kontrollprobanden (weiblich: 3, männlich: 3) im Alter von 21 bis 30 (medianes Alter: 25) teil. Alle Probanden sind gesund und weisen zum Zeitpunkt der Untersuchung keine klinisch manifeste Nasennebenhöhlen- und Oropharynxinfektion auf (Abb. 15 und 16).

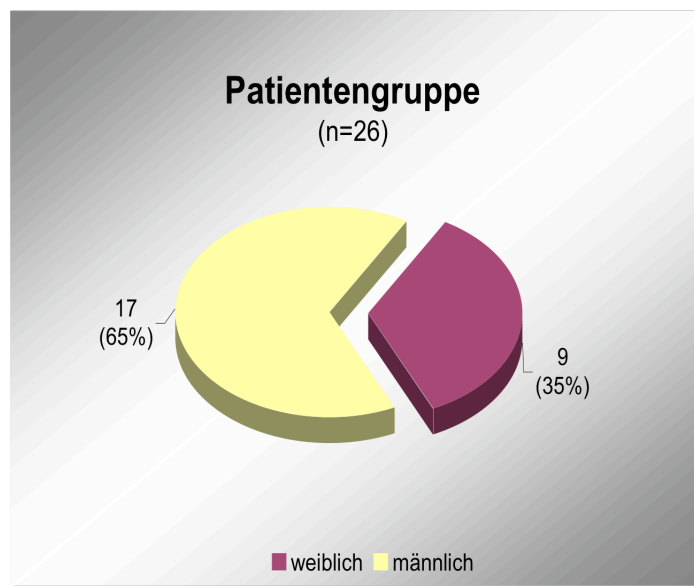


Abb. 15 Geschlechtsverteilung der Patientengruppe

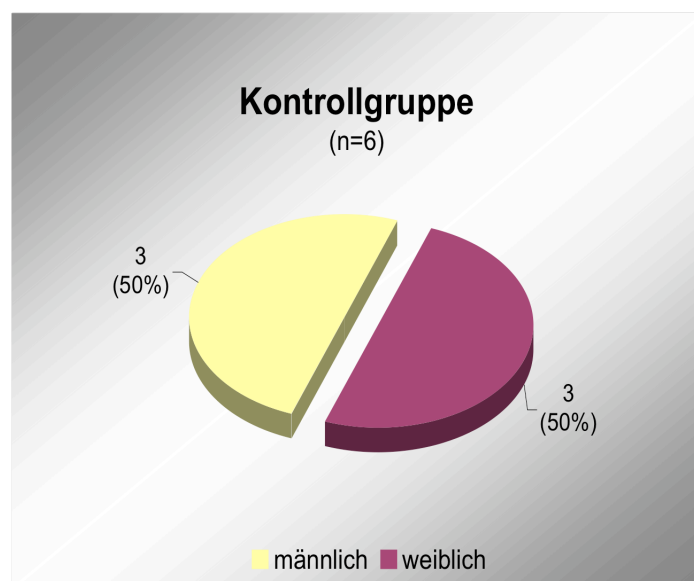


Abb. 16 Geschlechtsverteilung der Kontrollgruppe

4.2 ECP-Werte im Nasensekret und Serum

Die Nasensekret- und Serumgewinnung erfolgt nach der unter 3.1 und 3.2 beschriebenen Methode. Die anschließende ECP-Bestimmung wird mit dem UniCAP ECP-Testsystem (siehe 3.3.1) durchgeführt.

4.2.1 ECP-Werte im Nasensekret und Serum der Kontrollgruppe

Tab. 10 ECP-Werte im Nasensekret und Serum der Kontrollgruppe (n=6)

Kontroll-Nr.	ECP im Nasensekret (µg/l)	ECP im Serum (µg/l)
1	10	3
2	194	14
3	41	7
4	83	13
5	292	9
6	206	23

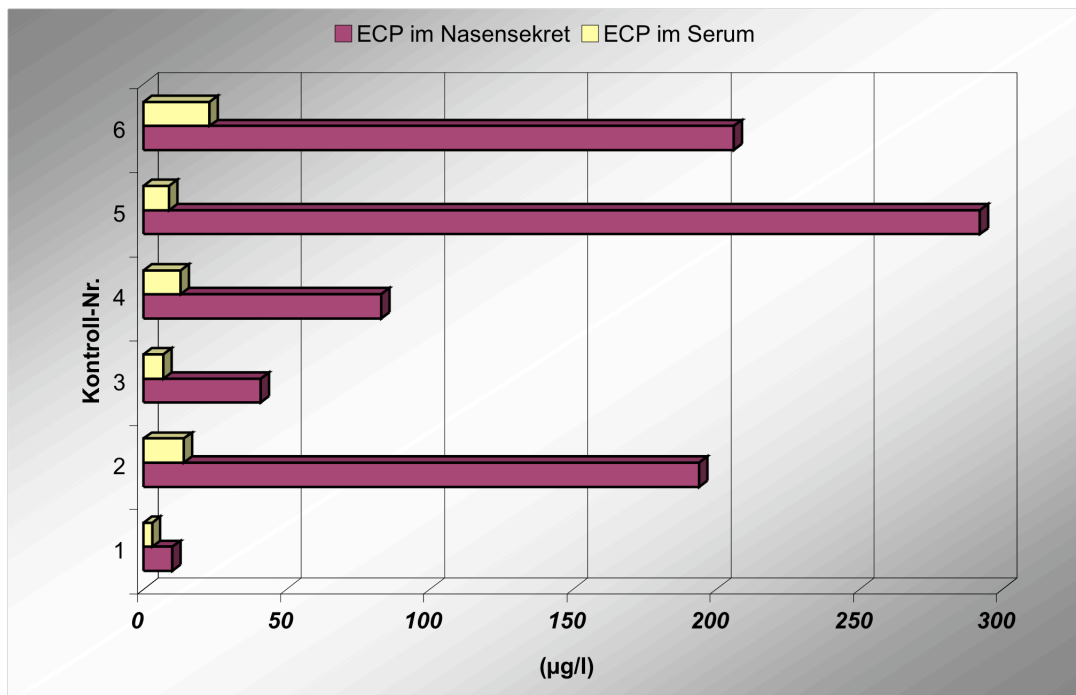


Abb. 17 ECP-Werte im Nasensekret und Serum der Kontrollgruppe (n=6)

4.2.2 Pearson-Korrelation der ECP-Werte der Kontrollgruppe

Die ECP-Werte im Nasensekret liegen bei den Kontrollen zwischen 10 und 292 µg/l (Median: 138,5 µg/l) und im Serum zwischen 3 und 23 µg/l (Median: 11 µg/l). Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten ergibt einen Wert von $r = 0,5208$. Damit bewegt sich dieser Wert im mittleren positiven Wertebereich, wobei 0 auf keinen, -1 auf einen perfekt negativen und +1 perfekt positiven Zusammenhang hinweist. Somit ist hier ein mittlerer positiver Zusammenhang festzustellen: je höher die ECP-Nasensekretwerte, desto höher die ECP-Serumwerte. 27% der Varianz der Serumwerte kann durch die Nasensekretwerte erklärt werden und umgekehrt.

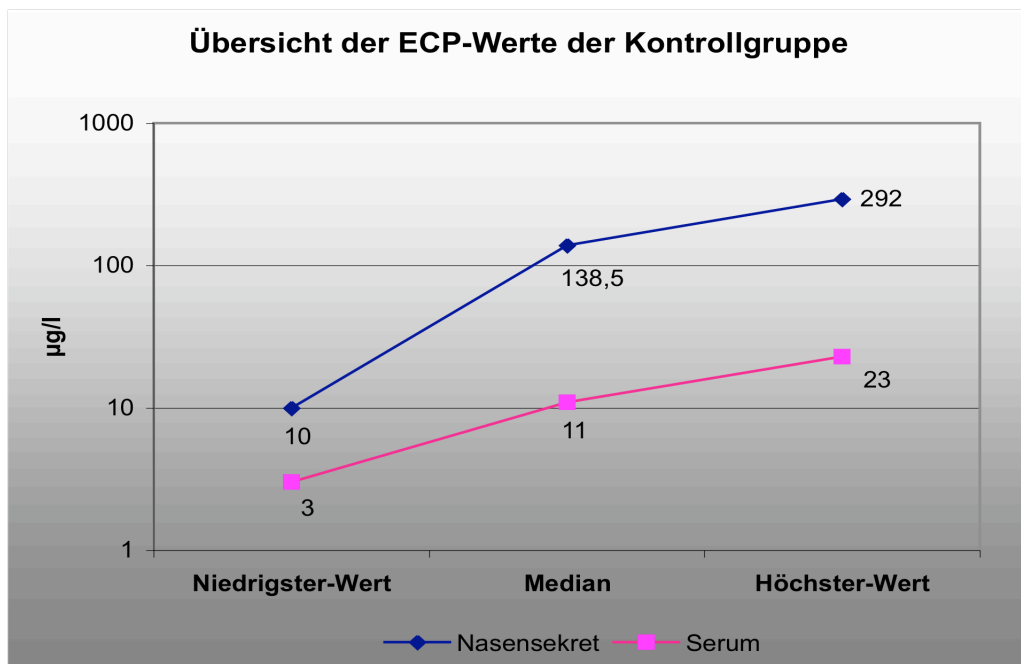


Abb. 18 Übersicht der ECP-Werte der Kontrollgruppe im Nasensekret und Serum

4.2.3 ECP-Werte im Nasensekret und Serum der CRS-Patienten

Tab. 11 ECP-Werte im Nasensekret und Serum der CRS-Patienten (n=26)

Patienten-Nr.	ECP im Nasensekret (µg/l)	ECP im Serum (µg/l)
1	1898	10
2	610	3
3	2230	15
4	338	38
5	147	34
6	416	27
7	11	10
8	3100	45
9	675	9
10	241	17
11	22	19
12	78	22
13	105	21
14	178	5
15	134	42
16	1920	25
17	8175	90
18	359	44
19	2041	5
20	3289	208
21	346	14
22	466	19
23	451	12
24	18	10
25	4125	149
26	485	3

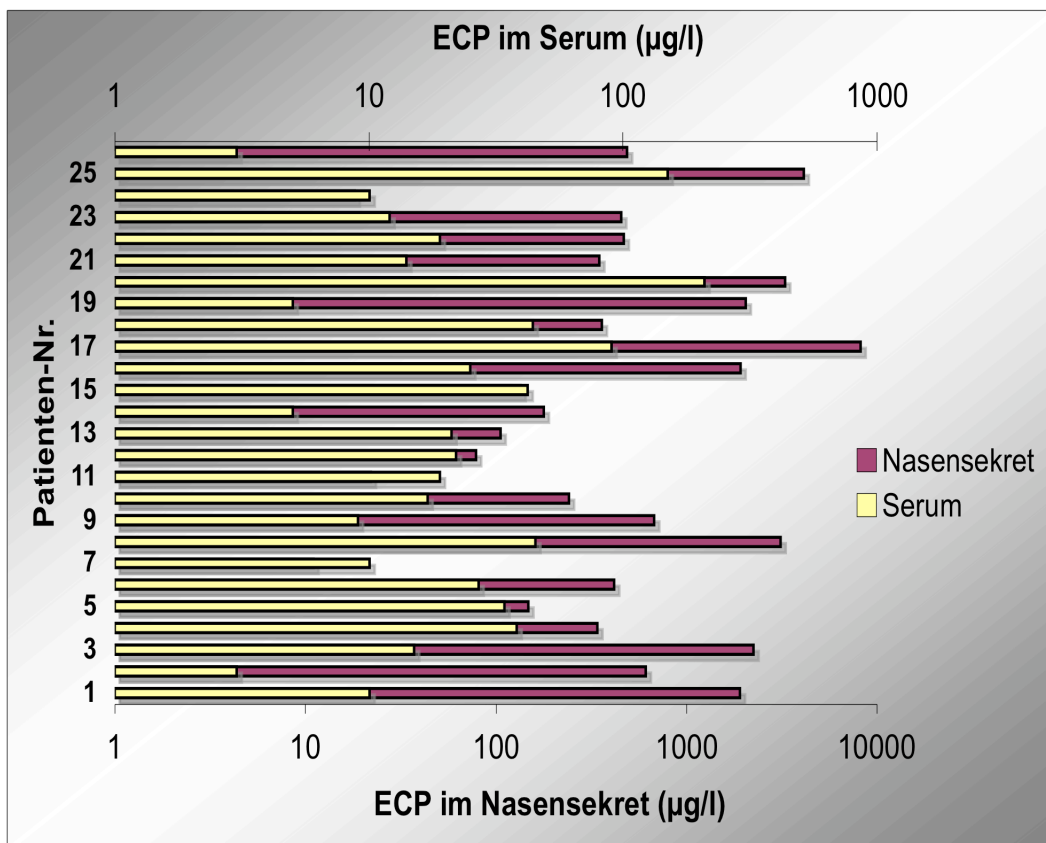


Abb. 19 ECP-Werte im Nasensekret und Serum der CRS-Patienten (n=26)

4.2.4 Pearson-Korrelation der ECP-Werte der Patientengruppe

Die ECP-Werte im Nasensekret liegen bei den CRS-Patienten zwischen 11 und 8175 $\mu\text{g/l}$ (Median: 433,5 $\mu\text{g/l}$) und im Serum zwischen 3 und 208 $\mu\text{g/l}$ (Median: 19 $\mu\text{g/l}$). Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten ergibt einen Wert von $r = 0,5922$. Damit bewegt sich dieser Wert im positiven Wertebereich, wobei 0 auf keinen, -1 auf einen perfekt negativen und +1 perfekt positiven Zusammenhang hinweist. Somit ist hier ein positiver Zusammenhang festzustellen: je höher die ECP-Nasensekretwerte, desto höher die ECP-Serumwerte. 35% der Varianz der Serumwerte kann durch die Nasensekretwerte erklärt werden und umgekehrt.

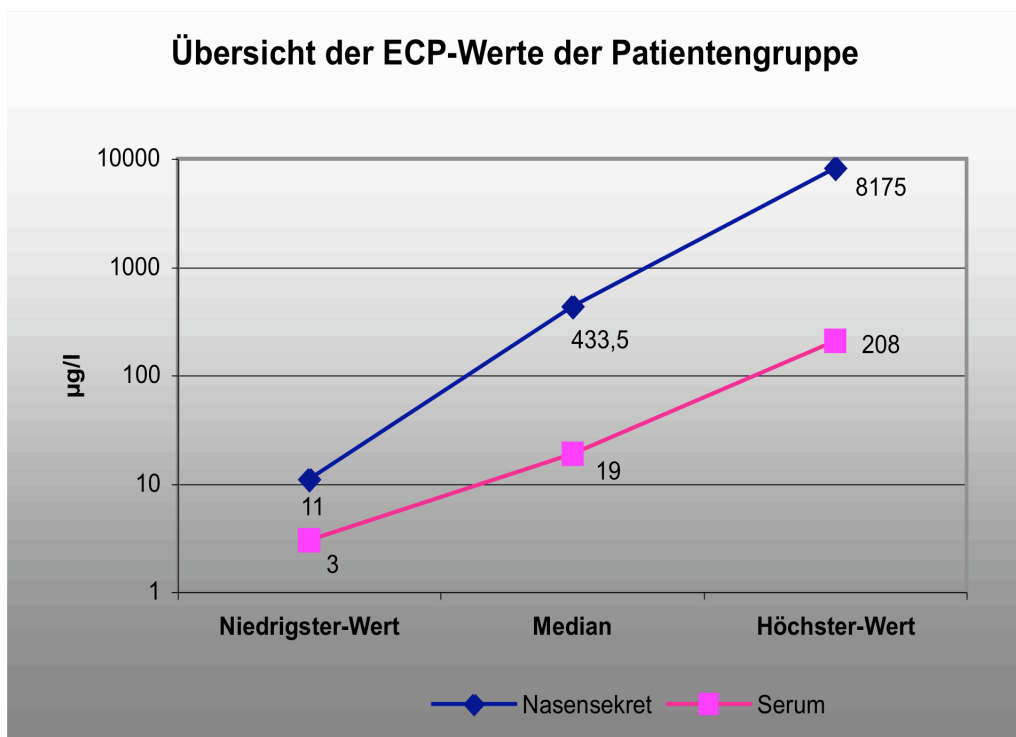


Abb. 20 Übersicht der ECP-Werte der Patientengruppe im Nasensekret und Serum

4.2.5 Signifikanzprüfung der ECP-Werte im Nasensekret und Serum

Für die Signifikanzprüfung kommt der U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney, ein nicht-parametrischer Zwei-Stichproben-Test für unverbundene Stichproben mit einer hohen Empfindlichkeit gegenüber Medianunterschieden (siehe 3.7) zur Anwendung. Die ECP-Nasensekretwerte der CRS-Gruppe sind insgesamt deutlich höher (Median: 433,5 $\mu\text{g/l}$) als die der Kontrollgruppe (Median: 138,5 $\mu\text{g/l}$). Beim Vergleich der ECP-Konzentration im Nasensekret ergibt sich ein statistisch signifikanter Unterschied ($p = 0,025165$). Es verhält sich völlig anders zwischen den ECP-Serumwerten der CRS-Gruppe (Median: 19 $\mu\text{g/l}$) und der Kontrollgruppe (Median: 11 $\mu\text{g/l}$). Hier lässt sich beim Vergleich der ECP-Konzentration im Serum kein statistisch signifikanter Konzentrationsunterschied ($p = 0,107136$) feststellen.

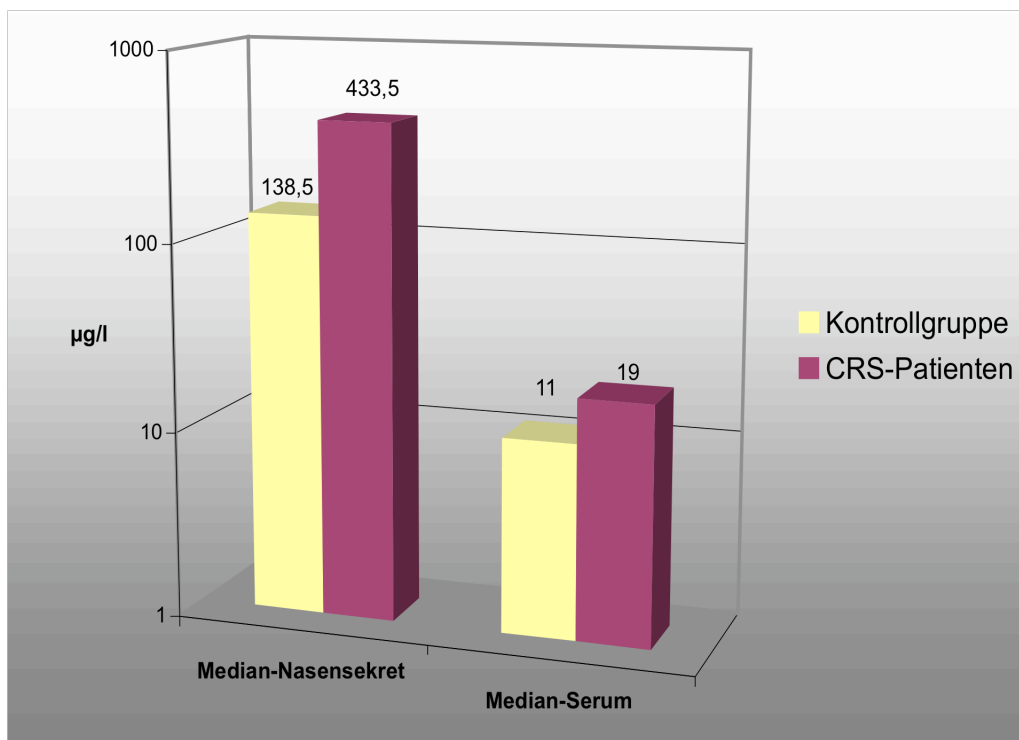


Abb. 21 Übersicht der ECP-Medianwerte

4.3 Total-IgE im Serum

Die Serumgewinnung erfolgt nach der unter 3.2 beschriebenen Methode. Die quantitative Bestimmung von zirkulierendem Gesamt-IgE in diesem Serum wird mit dem UniCAP Total IgE Assay (siehe 3.3.2) durchgeführt.

4.3.1 Total-IgE im Serum der Kontrollgruppe

Tab. 12 Total-IgE im Serum der Kontrollgruppe (n=6)

Kontroll-Nr.	Total-IgE im Serum kU/l
1	6
2	28
(3)	(734)
4	2
5	22
6	60

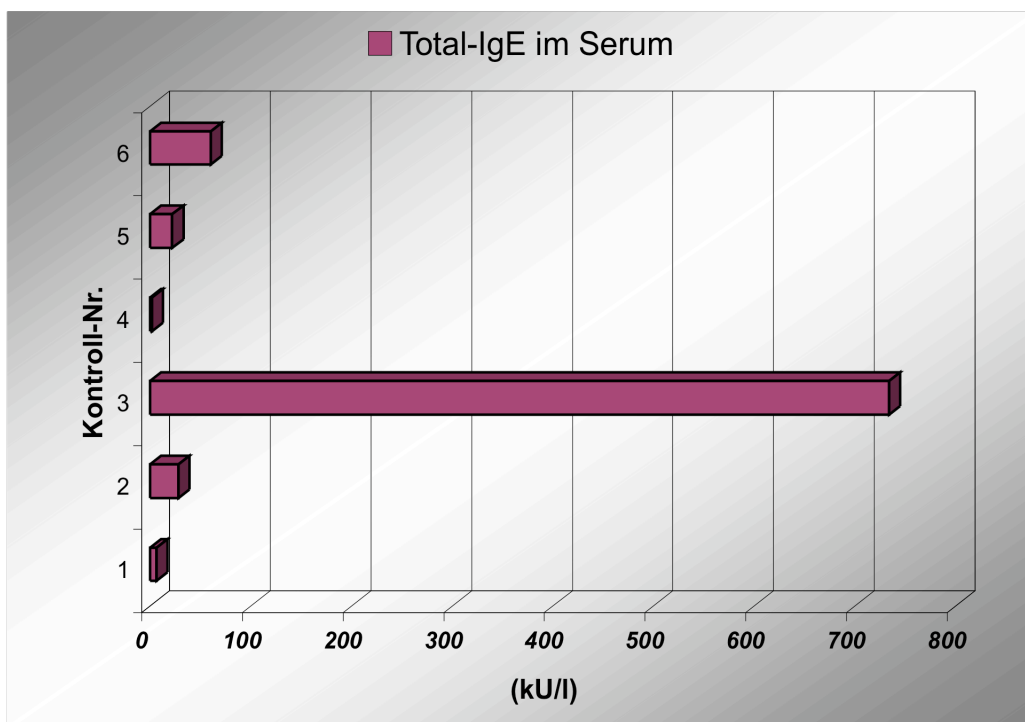


Abb. 22 Total-IgE im Serum der Kontrollgruppe (n=6)

Die Total IgE-Werte im Serum sind bei den Kontrollen zwischen 2 und 734 kU/l (Median: 25 kU/l) verteilt. Allerdings fällt der Kontroll-Nr. 3 Wert deutlich aus der Reihe. Mit einem Total-IgE-Wert von 734 kU/l liegt dieser deutlich höher als die übrigen fünf Werte. Betrachtet man zusätzlich die spezifischen IgE-Werte g6, g12, t3, d1 und d2 der gleichen Kontroll-Nr. (siehe 4.4.1) verhärtet sich der Verdacht einer allergischen Genese, obwohl der Proband bei der klinischen Untersuchung keinerlei pathologische Befunde aufweist. Aus diesem Grund wird bei der statistischen Auswertung die Kontroll-Nr. 3 nicht berücksichtigt, so dass die Total IgE-Werte im Serum nun zwischen 2 und 60 kU/l (Median: 22 kU/l) liegen.

4.3.2 Total-IgE im Serum der CRS-Patienten

Tab. 13 Total-IgE im Serum
der CRS-Patienten (n=26)

Patienten- Nr.	Total-IgE (Serum) kU/l
1	149
2	72
3	2178
4	28
5	291
6	84
7	856
8	171
9	34
10	45
11	620
12	34
13	37
14	51
15	18
16	4
17	130
18	57
19	1453
20	73
21	68
22	66
23	184
24	30
25	777
26	14

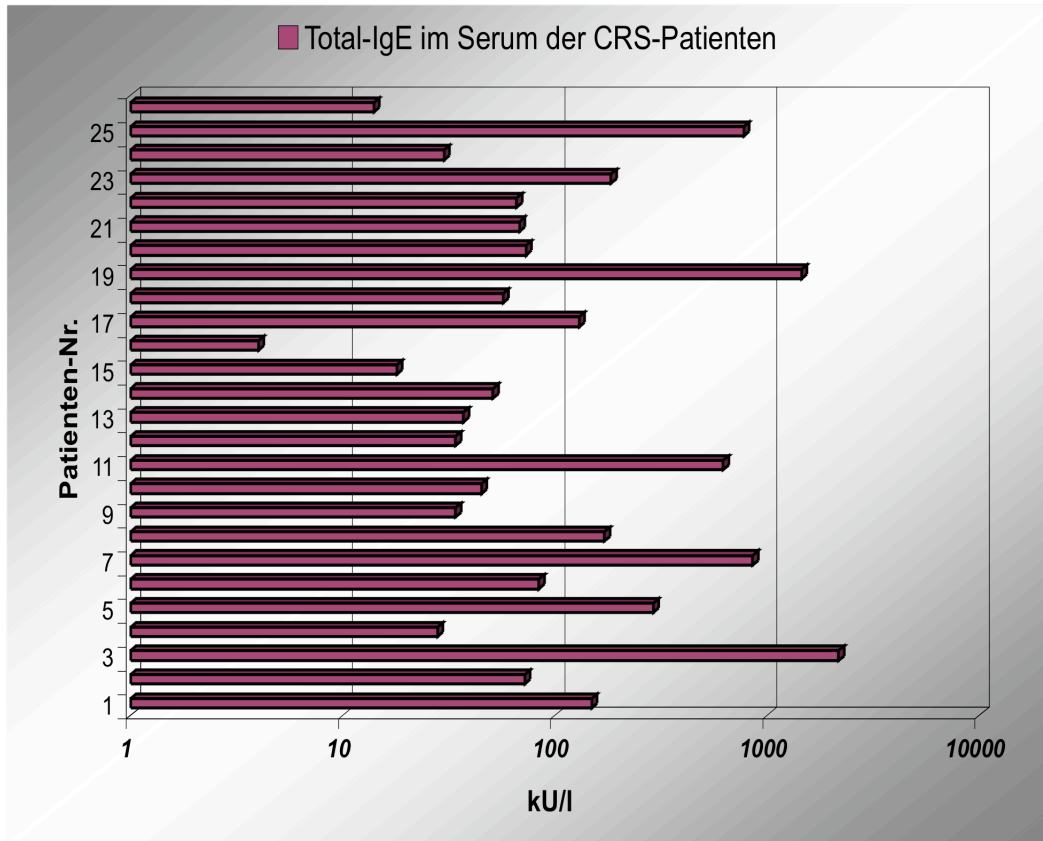


Abb. 23 Total-IgE im Serum der CRS-Patienten (n=26)

Die Total IgE-Werte im Serum sind bei den CRS-Patienten zwischen 4 und 2178 kU/l (Median: 70 kU/l) verteilt.

4.3.3 Signifikanzprüfung der Total-IgE-Serumwerte

Für die Signifikanzprüfung kommt der U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney, ein nicht-parametrischer Zwei-Stichproben-Test für unverbundene Stichproben mit einer hohen Empfindlichkeit gegenüber Medianunterschieden (siehe 3.7) zur Anwendung. Die Total-IgE-Werte der CRS-Patienten sind insgesamt deutlich höher (Median: 70 kU/l) als die der Kontrollgruppe (Median: 22 kU/l). Es ergibt sich ein statistisch hochsignifikanter Unterschied ($p = 0,010982$).

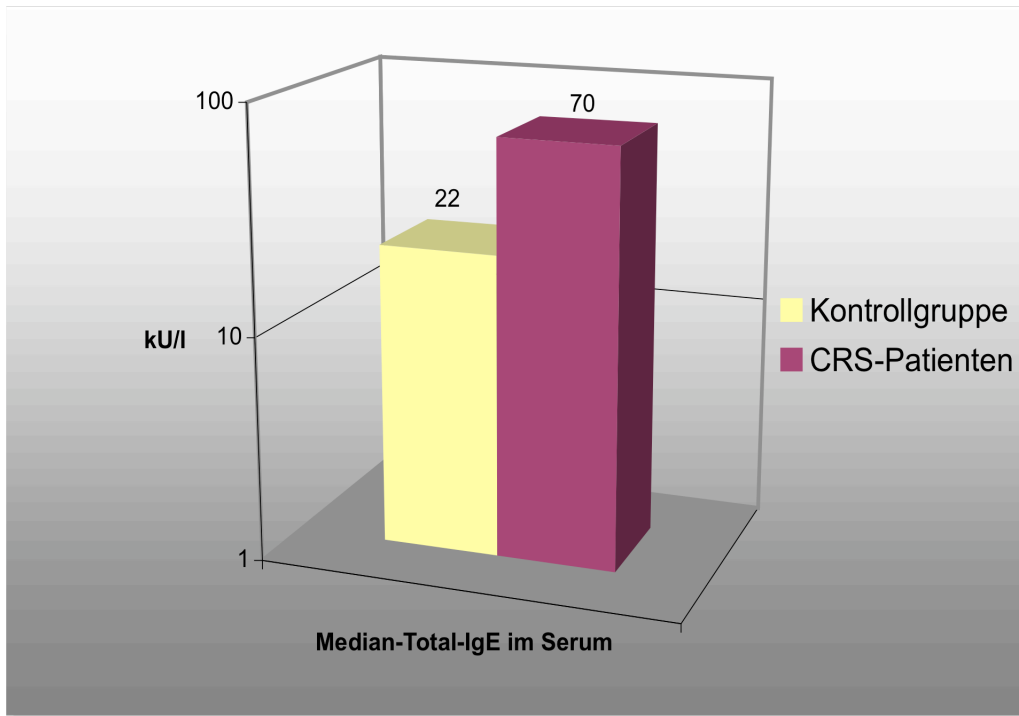


Abb. 24 Übersicht der Total-IgE-Medianwerte

4.3.4 Pearson-Korrelation zwischen ECP-Werten und Total-IgE-Werten bei CRS-Patienten

Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten zwischen ECP im Serum und Total-IgE im Serum ergibt einen Wert von $r = -0,0376$. Damit bewegt sich dieser Wert im negativen Wertebereich, wobei 0 auf keinen, -1 auf einen perfekt negativen und +1 perfekt positiven Zusammenhang hinweist. Somit ist hier ein negativer Zusammenhang festzustellen: je höher die ECP-Serumwerte, desto niedriger die Total-IgE-Werte im Serum. 0% der Varianz der ECP-Serumwerte kann durch die Total-IgE-Werte erklärt werden und umgekehrt.

Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten zwischen ECP im Nasensekret und Total-IgE im Serum ergibt einen Wert von $r = 0,1826$. Damit bewegt sich dieser Wert im sehr geringen positiven Bereich, eher in Tendenz zu Null. Somit ist hier ebenfalls kein Zusammenhang festzustellen. Nur 3% der Varianz der ECP-Nasensekretwerte kann durch die Total-IgE-Werte erklärt werden und umgekehrt.

4.4 Spezifisches-IgE im Serum

Die Serumgewinnung erfolgt nach der unter 3.2 beschriebenen Methode. Die Messung des Spiegels des zirkulierenden allergenspezifischen IgE in diesem Serum wird mit dem UniCAP Specific IgE Assay (siehe 3.3.3) durchgeführt.

4.4.1 Spezifisches-IgE im Serum der Kontrollgruppe

Tab.14a Spezifischer-IgE Spiegel von g6 – w9 im Serum der Kontrollgruppe (n=6)

Kontroll-Nr.	g 6		g 12		w 6		w 9	
	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l
1	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
2	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
3	3	12,3	3	7,78	0	<0,35	0	<0,35
4	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
5	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
6	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35

Tab. 14b Spezifischer-IgE Spiegel von t2-d2 im Serum der Kontrollgruppe (n=6)

Kontroll-Nr.	t 2		t 3		d 1		d 2	
	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l
1	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
2	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
3	0	<0,35	4	46,6	4	46,3	4	42,3
4	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
5	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
6	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35

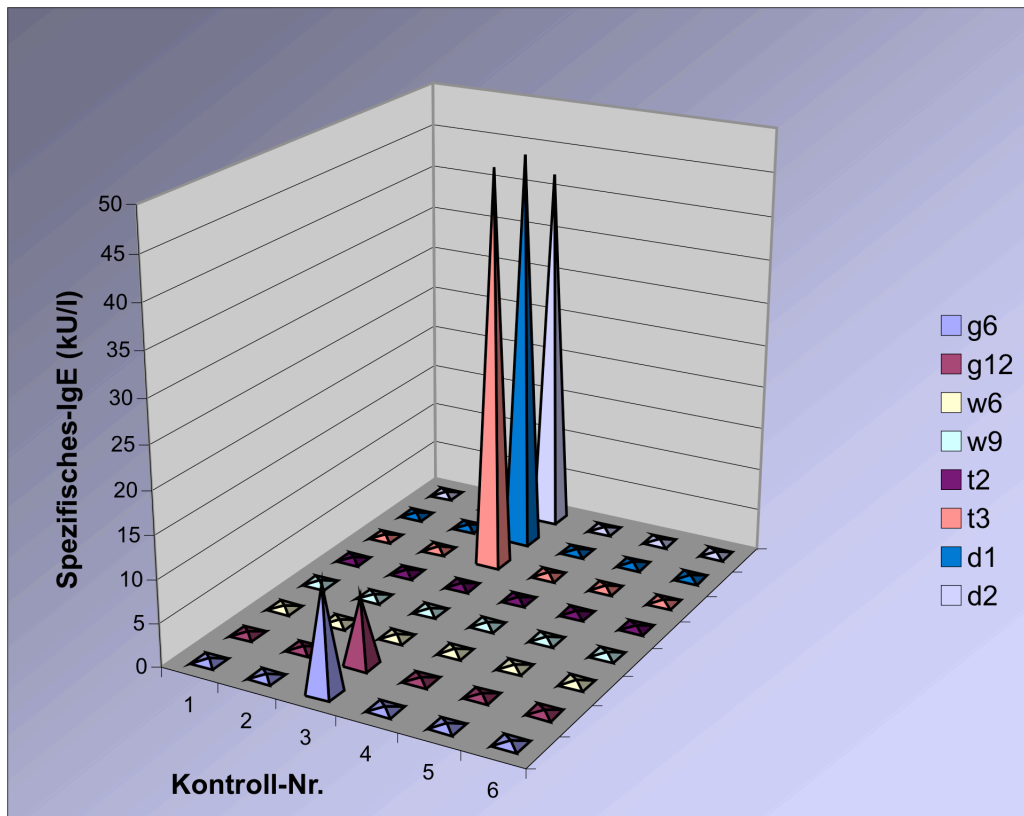


Abb. 25 Spezifischer-IgE Spiegel im Serum der Kontrollgruppe (n=6)

UniCAP Specific IgE Units-Werte $\geq 0,35$ kU/l deuten auf einen progressiven Anstieg der relativen Konzentration der allergenspezifischen Antikörper hin. Ergebnisse $\leq 0,35$ kU/l deuten auf das Nichtvorhandensein bzw. nicht meßbare Konzentration allergenspezifischer Antikörper hin (Tab. 15).

Tab. 15 Evalierung in Spezifischen IgE Klassen

Spez. IgE Klasse (CAP-Klasse)	Größer als oder gleich als	Niedriger als	Mengen der allergenspezifischen IgE Antikörper
6	Cal-100	-	sehr hoch
5	Cal-50	Cal-100	sehr hoch
4	Cal-17,5	Cal-50	sehr hoch
3	Cal-3,5	Cal-17,5	Hoch
2	Cal-0,7	Cal-3,5	Mittelgradig
1	Cal-0,35	Cal-0,7	Niedrig
0	-	Cal-0,35	Keine oder nicht nachweisbar

Bei 5 Kontrollen (Nr.: 1, 2, 4, 5, 6) sind alle spezifischen-IgE-Werte (g6 – d2) $\leq 0,35$ kU/l, was auf das Nichtvorhandensein bzw. nicht meßbare Konzentration allergenspezifischer Antikörper hindeutet. Damit gehören diese der CAP-Klasse 0 zu. Lediglich eine Kontrolle (Nr.: 3) weist auf einen progressiven Anstieg der relativen Konzentration der allergenspezifischen Antikörper (g6 = 12,3 kU/l, g12 = 7,78 kU/l, t3 = 46,6 kU/l, d1 = 46,3 und d2 = 42,3 kU/l) hin. Damit gehört diese der CAP-Klasse 3 bzw. 4 zu.

4.4.2 Spezifisches-IgE im Serum der CRS-Patienten

Tab.16a Spezifischer-IgE Spiegel von g6 – w9 im Serum der CRS-Patienten (n=26)

Patienten-Nr.	g 6		g 12		w 6		w 9	
	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l
1	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
2	2	1,38	2	0,98	0	<0,35	0	<0,35
3	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
4	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
5	2	1,25	2	1,53	0	<0,35	0	<0,35
6	3	3,93	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
7	1	0,36	0	<0,35	1	0,54	0	<0,35
8	2	1,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
9	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
10	2	0,76	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
11	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
12	2	2,46	2	2,28	0	<0,35	0	<0,35
13	1	0,46	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
14	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
15	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
16	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
17	2	0,74	2	0,95	0	<0,35	0	<0,35
18	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
19	5	62,2	5	52,4	0	<0,35	1	0,35
20	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
21	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
22	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
23	5	58,6	4	48,2	0	<0,35	2	1,33
24	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
25	0	<0,35	0	<0,35	2	1,50	0	<0,35
26	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35

Tab.16b Spezifischer-IgE Spiegel von t2 – d2 im Serum der CRS-Patienten (n=26)

Patienten-Nr.	t 2		t 3		d 1		d 2	
	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l
1	0	<0,35	0	<0,35	2	1,28	2	1,63
2	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
3	0	<0,35	0	<0,35	1	0,42	1	0,59
4	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
5	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
6	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
7	0	<0,35	0	<0,35	2	1,76	2	0,94
8	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
9	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
10	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
11	0	<0,35	0	<0,35	2	1,64	2	1,58
12	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
13	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
14	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
15	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
16	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
17	0	<0,35	1	0,37	1	0,36	0	<0,35
18	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
19	3	5,39	3	10,7	3	4,33	2	0,92
20	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
21	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
22	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
23	0	<0,35	4	31,3	0	<0,35	0	<0,35
24	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
25	0	<0,35	1	0,58	0	<0,35	0	<0,35
26	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35

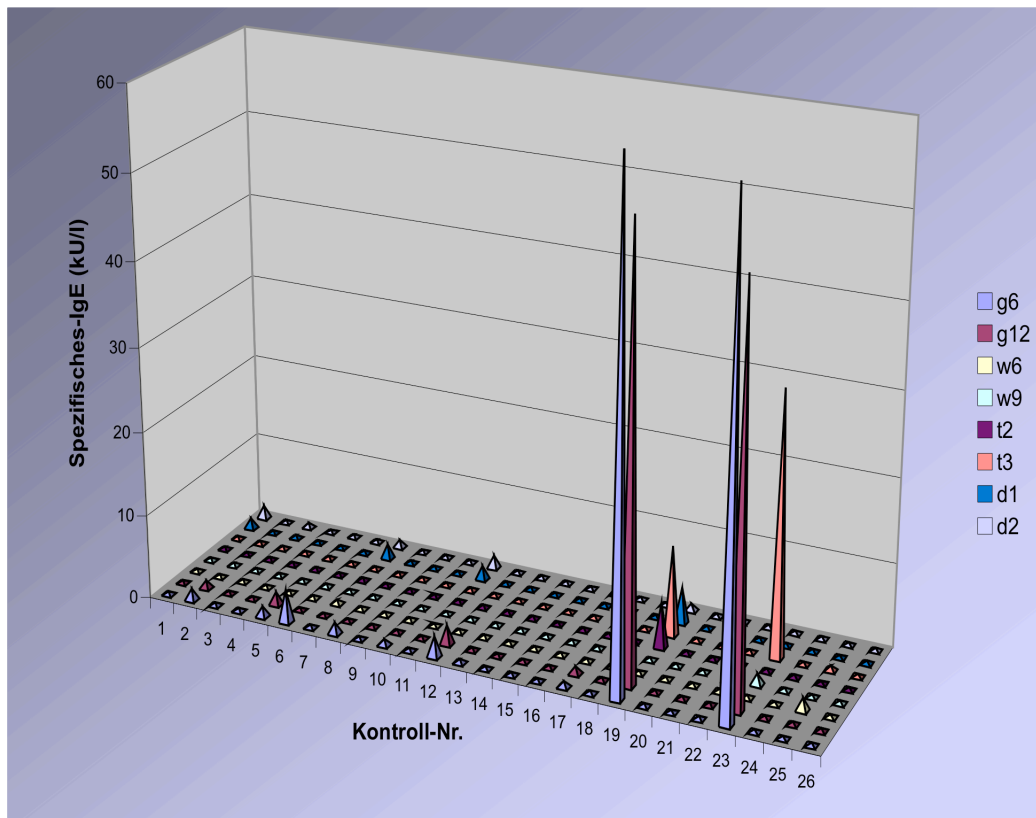


Abb. 26 Spezifischer-IgE Spiegel im Serum der CRS-Patienten (n=26)

UniCAP Specific IgE Units-Werte $\geq 0,35$ kU/l deuten auf einen progressiven Anstieg der relativen Konzentration der allergenspezifischen Antikörper hin. Ergebnisse $\leq 0,35$ kU/l deuten auf das Nichtvorhandensein bzw. nicht meßbare Konzentration allergenspezifischer Antikörper hin (siehe Tab. 15).

Bei 11 CRS-Patienten (Nr.: 4, 9, 14, 15, 16, 18, 20, 21, 22, 24, 26) sind alle spezifischen-IgE-Werte (g6 – d2) $\leq 0,35$ kU/l, was auf das Nichtvorhandensein bzw. nicht meßbare Konzentration allergenspezifischer Antikörper hindeutet. Damit gehören diese der CAP-Klasse 0 zu.

6 CRS-Patienten gehören der CAP-Klasse 1 (Nr.: 3, 7, 13, 17, 19, 25), 12 CRS-Patienten der CAP-Klasse 2 (1, 2, 5, 7, 8, 10, 11, 12, 17, 19, 23, 25), zwei CRS-Patienten der CAP-Klasse 3 (6, 19), ein CRS-Patient der CAP-Klasse 4 (23) und zwei CRS-Patienten der CAP-Klasse 5 (19, 23) zu. Bei diesen Patienten besteht ein progressiver Anstieg der relativen Konzentration der allergenspezifischen Antikörper.

Lediglich fünf CRS-Patienten (Nr.: 7, 17, 19, 23, 25) können mehreren CAP-Klassen zugeordnet werden.

Tab. 17 CAP-Klassen Verteilung bei Nachweis von spez. IgE der CRS-Patienten (n=12)

Patienten-Nr.	CAP 1	CAP 2	CAP 3	CAP 4	CAP 5
1		d1, d2			
2		g6, g12			
3	d1, d2				
5		g6, g12			
6			g6		
7	g6, w6	d1, d2			
8		g6			
10		g6			
11		d1, d2			
12		g6, g12			
13	g6				
17	t3, d1	g6, g12			
19	w9	d2	t2, t3, d1		g6, g12
23		w9		g12, t3	g6
25	t3	w6			

4.5 Mykologische Ergebnisse

Die Nasensekretgewinnung erfolgt nach dem unter 3.1 beschriebenen Prinzip. Die weitere Aufbereitung des Mukus findet nach der unter 3.4 beschriebenen Methode statt im Institut für Medizinische Mikrobiologie (Zentrum für Hygiene) an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main.

Die Serumgewinnung erfolgt nach der unter 3.2 beschriebenen Methode. Die Messung des Spiegels des zirkulierenden allergenspezifischen IgE (mx2 Schimmelpilzmischung) in diesem Serum wird mit dem UniCAP Specific IgE Assay (siehe 3.3.3) durchgeführt.

4.5.1 Pilzkulturen und spezifisches mx2-IgE der Kontrollgruppe

Tab. 18 Pilzkulturen und spezifisches mx2-IgE der Kontrollgruppe (n=6)

Kontroll-Nr.	Pilzkulturen	mx 2 N: Negativ P: Positiv
1	kein Nachweis	N
2	kein Nachweis	N
3	kein Nachweis	N
4	kein Nachweis	N
5	kein Nachweis	N
6	Penicillium sp.	N

Bei 5 von 6 Kontrollen (83%) kann keine positive Pilzkultur angezchtet werden. Lediglich in einer Kontrolle (Nr. 6) wird eine Pilzkultur, nämlich Penicillium sp., identifiziert.

Alle 6 Kontrollen werden einer spezifischen IgE Messung (UniCAP Specific IgE in vitro Test auf mx2 Schimmelpilzmischung) unterzogen. Dabei zeigen alle Kontrollen (100%) ein negatives Ergebnis, dass auf das Nichtvorhandensein bzw. nicht messbare Konzentrationen des zirkulierenden allergenspezifischen IgEs auf die getestete Pilzallergenmischung in Serum hinweist.

4.5.2 Pilzkulturen und spezifisches mx2-IgE der CRS-Patienten

Tab. 19 Pilzkulturen und spezifisches mx2-IgE
Nachweis bei CRS-Patienten (n=26)

Patienten Nr.	Pilzkulturen	mx 2 N: Negativ P: Positiv
1	kein Nachweis	N
2	kein Nachweis	N
3	kein Nachweis	P
4	kein Nachweis	N
5	kein Nachweis	N
6	Candida glabrata	P
7	1. Aureobasidium pullulans 2. Scopulariopsis brevicaulis 3. Ulocladium chartarium	N
8	kein Nachweis	N
9	Cladosporium sphaerospermum	N
10	kein Nachweis	N
11	kein Nachweis	N
12	kein Nachweis	N
13	kein Nachweis	N
14	kein Nachweis	N
15	kein Nachweis	N
16	kein Nachweis	N
17	kein Nachweis	P
18	kein Nachweis	N
19	kein Nachweis	N
20	kein Nachweis	N
21	kein Nachweis	N
22	kein Nachweis	N
23	kein Nachweis	N
24	kein Nachweis	N
25	kein Nachweis	N
26	kein Nachweis	N

Bei 3 von 26 CRS-Patienten (12%) können zirkulierenden allergenspezifischen IgEs auf die getestete Pilzallergenmischung in Serum nachgewiesen werden (Abb. 27).

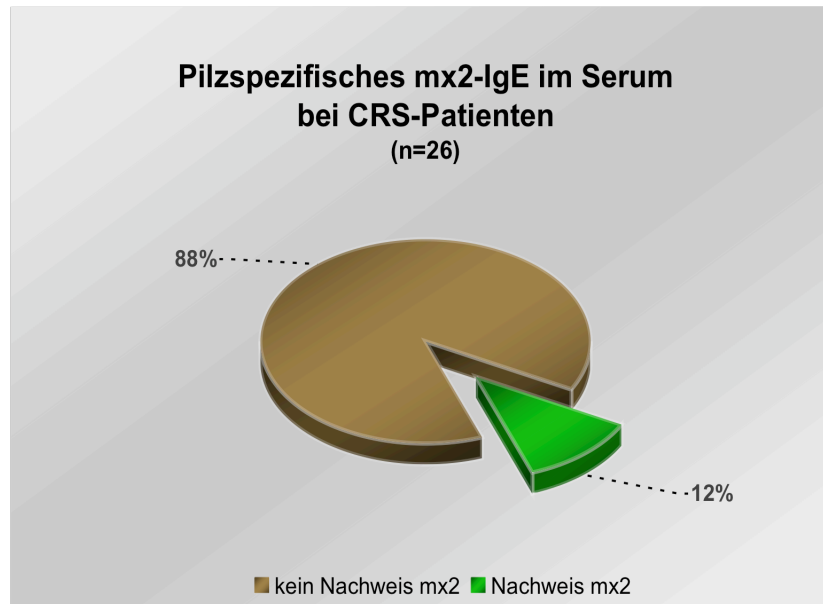


Abb. 27 Pilzspezifisches mx2-IgE im Serum bei CRS-Patienten

Lediglich bei 3 von 26 CRS-Patienten (12%) kann eine Pilzkultur bzw. können mehrere Pilzkulturen, nämlich *Candida glabrata* (Patienten-Nr.: 6), *Aureobasidium pullulans*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Ulocladium chartarium* (Patienten-Nr.: 7) und *Cladosporium sphaerospermum* (Patienten-Nr.: 9) identifiziert werden (Abb. 28).

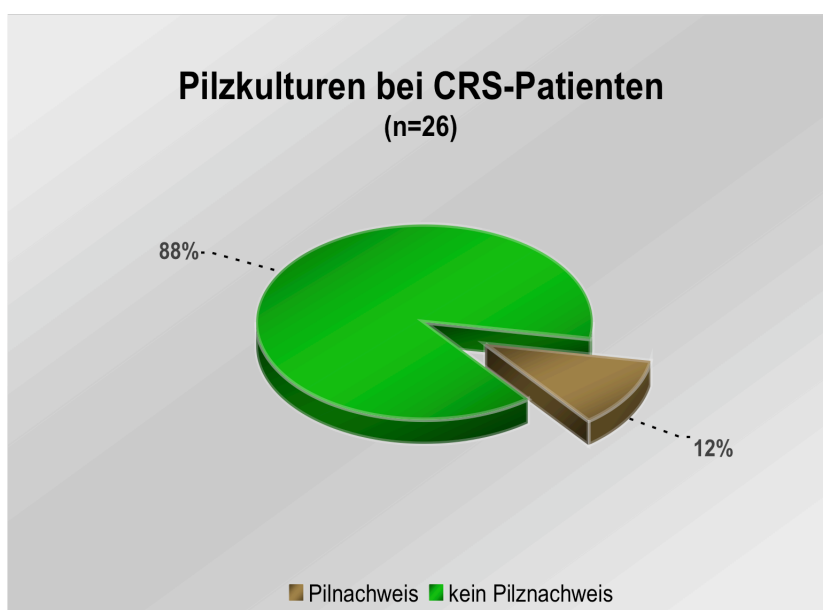


Abb. 28 Pilzkulturnachweis bei CRS-Patienten

Von diesen 3 CRS-Patienten hat nur ein Patient (Nr. 6) einen positiven Nachweis von zirkulierenden allergenspezifischen IgEs auf die getestete Pilzallergenmischung in Serum (Abb. 29).

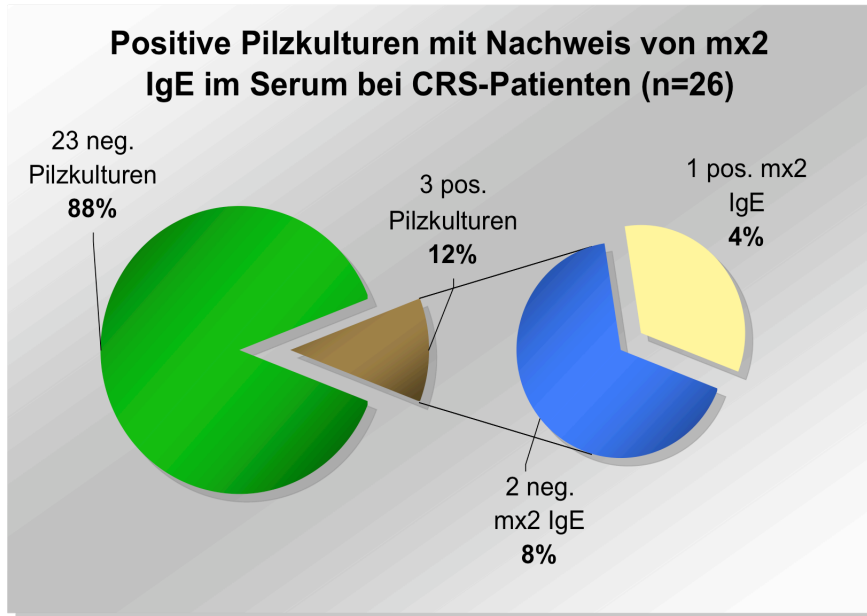


Abb. 29 Positive Pilzkulturen mit Nachweis von mx2 IgE im Serum bei CRS-Patienten

Von 23 CRS-Patienten ohne Pilzkulturnachweis ist bei zwei Patienten (Nr. 3 und 17) ein positiver Nachweis von zirkulierenden allergenspezifischen IgEs auf die getestete Pilzallergenmischung in Serum festzustellen (Abb. 30).

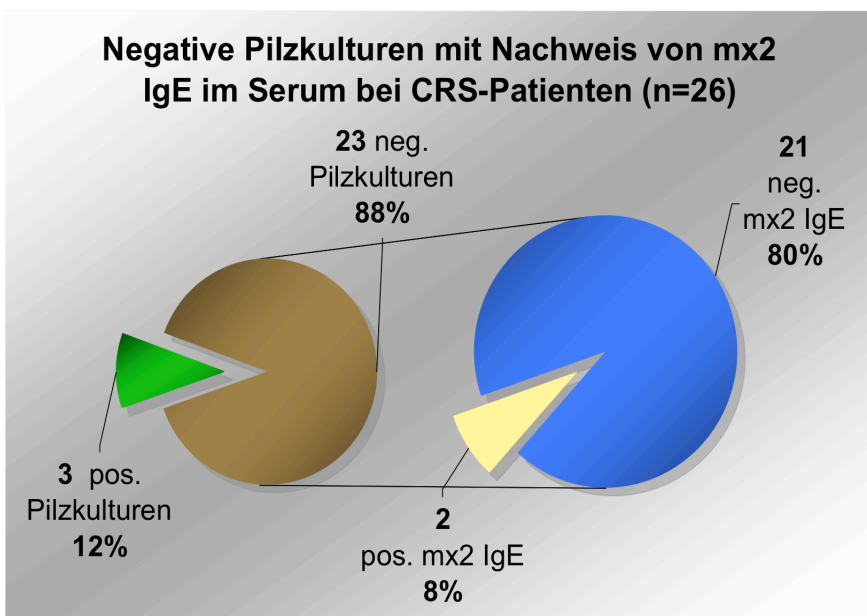


Abb. 30 Negative Pilzkulturen mit Nachweis von mx2 IgE Serum bei CRS-Patienten

UniCAP Specific IgE Units-Werte $\geq 0,35$ kU/l deuten auf einen progressiven Anstieg der relativen Konzentration der allergenspezifischen Antikörper hin. Ergebnisse $\leq 0,35$ kU/l deuten auf das Nichtvorhandensein bzw. nicht messbare Konzentration allergenspezifischer Antikörper hin (siehe Tab. 15).

Tab.20a Spezifischer-IgE Spiegel von m1 – m5 im Serum der CRS-Patienten (n=3)

Patienten-Nr.	m 1		m 2		m 3		m 5	
	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l
3	0	<0,35	2	1,13	2	0,93	3	5,19
6	1	0,60	0	<0,35	0	<0,35	0	<0,35
17	0	<0,35	2	1,85	0	<0,35	0	<0,35

Tab.20b Spezifischer-IgE Spiegel von m6 und m8 im Serum der CRS-Patienten (n=3)

Patienten-Nr.	m 6		m 8	
	CAP Klasse	kU/l	CAP Klasse	kU/l
3	2	0,76	0	2,29
6	3	8,15	1	0,62
17	0	<0,35	0	<0,35

Tab. 21 CAP-Klassen Verteilung nach positivem mx2 Nachweis bei CRS-Patienten (n=3)

Patienten-Nr.	CAP 1	CAP 2	CAP 3	CAP 4	CAP 5
3		m2, m3, m6	m5		
6	m1, m8		m6		
17		m2			

Lediglich zwei von den drei auf mx2 positiv reagierenden CRS-Patienten (Nr.: 3, 6) können mehreren CAP-Klassen zugeordnet werden (Tab. 21).

4.6 Zytologische und histologische Ergebnisse

Die zellhaltige Nasensekretgewinnung erfolgt nach dem unter 3.5 beschriebenen Prinzip. Die zytologische Aufbereitung des gewonnenen Nasenschleimes findet im zytologischen Labor der Pathologie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main statt.

4.6.1 Zytologische Ergebnisse der Kontrollgruppe

Tab. 22 Pilz- und Eosinophilienachweis im Nasensekretausstrich der Kontrollgruppe (n=6)

Kontroll-Nr.	Pilze im Ausstrich* Färbung n. Grocott	Eosinophilie im Nasensekret** Färbung n. Pappenheim
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0

* 0= negativer Pilznachweis, 1= positiver Pilznachweis

** semiquantitative Schätzung (0=keine Eos., 1=wenig, 2=mäßig, 3=viele)

Alle 6 Kontrollen lassen keine Pilze und auch keine Eosinophilie im Nasensekretausstrich erkennen (Tab. 22).

4.6.2 Zytologische Ergebnisse der CRS-Patienten

Tab. 23 Pilz- und Eosinophilenachweis im Nasensekretausstrich der CRS-Patienten (n=26)

Patienten-Nr.	Pilze im Ausstrich *	Eosinophilie im Nasensekret **
	Färbung n. Grocott	Färbung n. Pappenheim
1	1	0
2	0	1
3	0	1
4	1	0
5	1	0
6	1	0
7	0	0
8	0	0
9	1	3
10	0	1
11	0	0
12	0	0
13	0	0
14	0	0
15	0	0
16	0	0
17	0	1
18	1	0
19	1	0
20	0	3
21	0	0
22	0	1
23	0	0
24	1	0
25	0	0
26	1	0

* 0= negativer Pilznachweis, 1= positiver Pilznachweis

** semiquantitative Schätzung (0=keine Eos., 1=wenig, 2=mäßig, 3=viele)

Bei 17 von 26 CRS-Patienten (Nr.: 2, 3, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22, 23, 25) können wir keine Pilze bzw. Pilzfragmente im Nasensekretausstrich sehen, dagegen können wir bei 9 CRS-Patienten (Nr.: 1, 4, 5, 6, 9, 18, 19, 24, 26) Pilze im Ausstrich feststellen (Abb. 31).

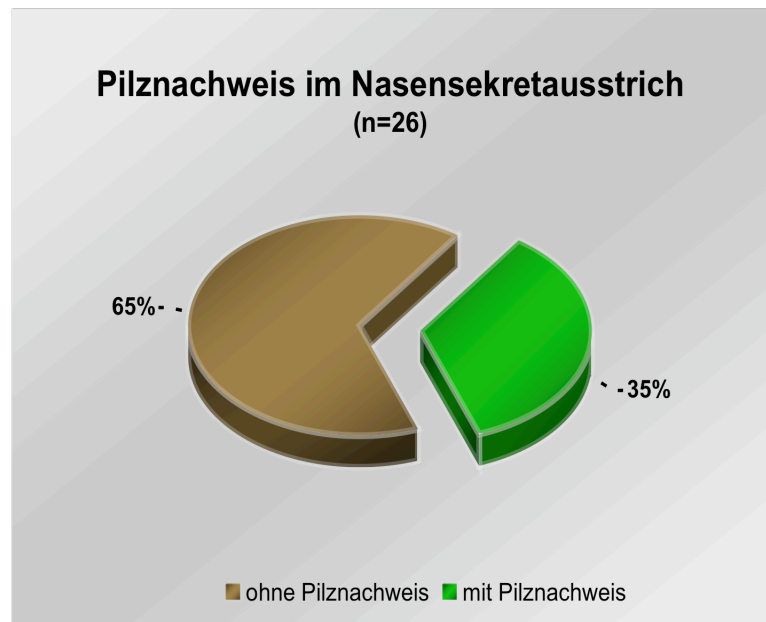


Abb. 31 Pilznachweis im Nasensekretausstrich von CRS-Patienten

Bei 11 von 26 CRS-Patienten (42%) können wir weder Pilze noch Eosinophile im Nasensekretausstrich sehen. Hingegen haben wir bei 15 CRS-Patienten (58%) Pilze und/oder Eosinophile im Ausstrich festgestellt. Von den 15 CRS-Patienten zeigt nur Patient-Nr. 9 (4%) sowohl Pilze als auch Eosinophile im Nasensekretausstrich. Bei den restlichen 14 CRS-Patienten sind entweder Pilze oder Eosinophile im Ausstrichpräparat vorhanden (Abb. 32).

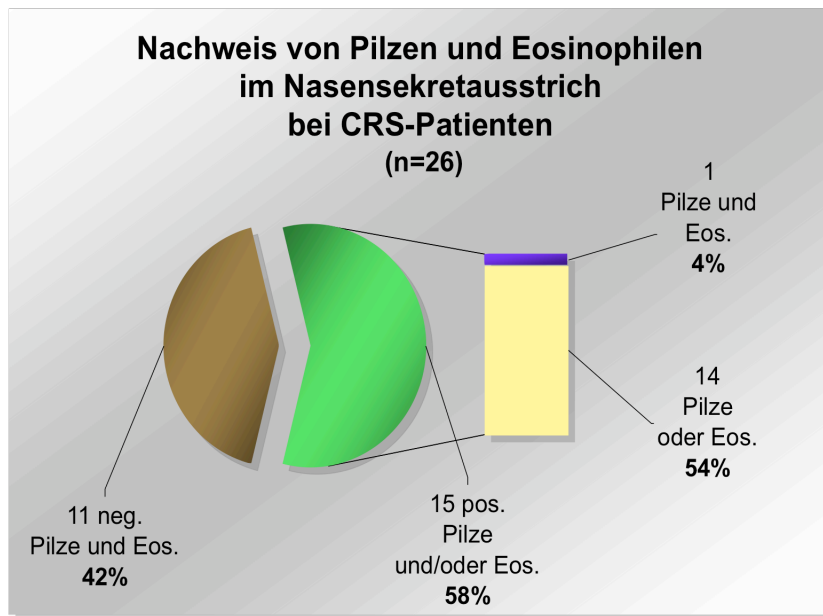


Abb. 32 Nachweis von Pilzen und Eosinophilen im Nasensekretausstrich bei CRS-Patienten

Von den 14 (54%) CRS-Patienten sind bei 8 (31%; Patienten-Nr.: 1, 4, 5, 6, 18, 19, 24, 26) nur Pilze und bei 6 (23%; Patienten-Nr.: 2, 3, 10, 17, 20, 22) nur Eosinophile im Ausstrich zu sehen (Abb. 33).

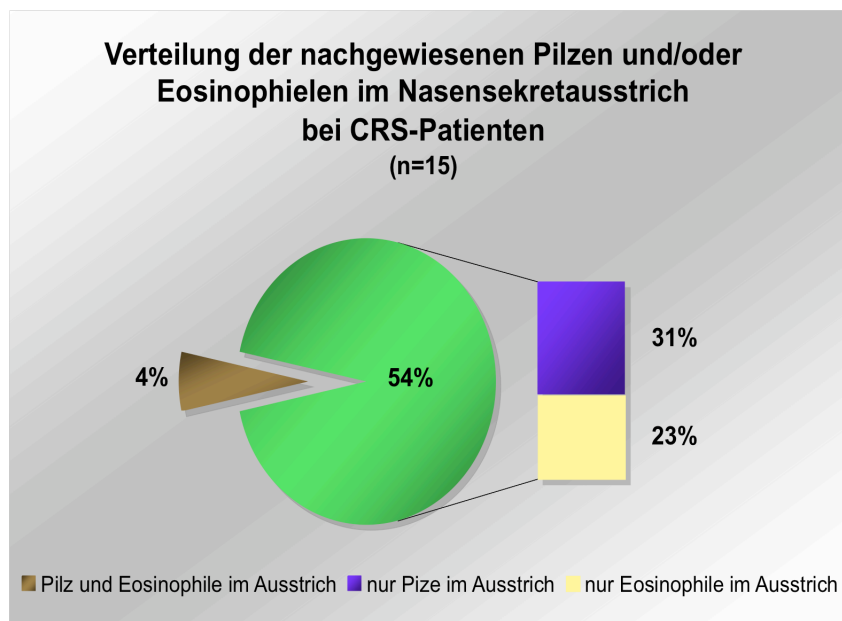


Abb. 33 Verteilung der nachgewiesenen Pilzen und Eosinophilen im Nasensekretausstrich bei CRS-Patienten

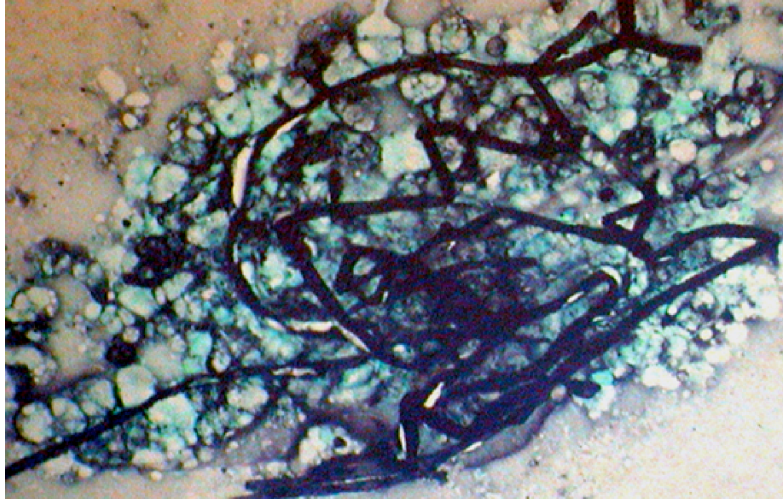


Abb. 34 Pilzhyphen im Nasensekretausstrich (Färbung n. Grocott und Pappenheim; 40facher Verg.)

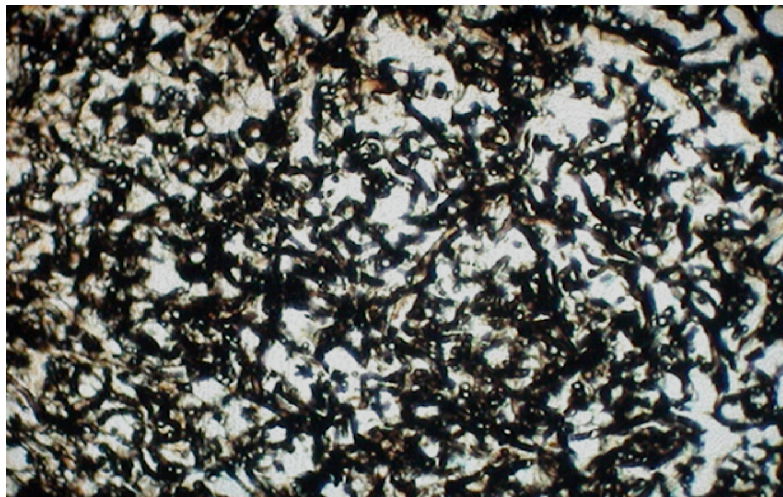


Abb. 35 Pilzhyphen und –fragmente im Nasensekretausstrich (Färbung n. Grocott; 40facher Verg.)

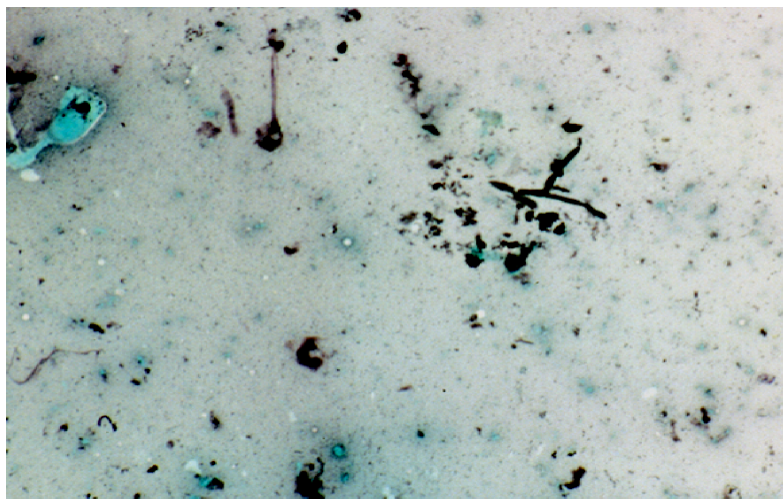


Abb. 36 Pilzfragmente im Nasensekretausstrich (Färbung n. Grocott und Pappenheim 10fache Verg.)

4.7 Histologische Ergebnisse

Die intraoperativ entnommenen Gewebstücke werden in 4%iger Formalinlösung fixiert. Die histologische Untersuchung der Präparate erfolgt nach der unter 3.6 beschriebenen Methode in der Pathologie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main .

4.7.1 Histologische Ergebnisse der Kontrollgruppe

Tab. 24 Histologischer Pilz- und Eosinophilenachweis im Nasenschleim der Kontrollgruppe (n=6)

Kontroll-Nr.	Pilze im Direktpräparat* Färbung n. Grocott	Eosinophilie im Direktpräparat** Hämalaun-Eosin (HE) Färbung
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0

* 0= negativer Pilznachweis, 1= positiver Pilznachweis

** semiquantitative Schätzung (0=keine Eos., 1=wenig, 2=mäßig, 3=viele)

Nach Doppelfärbung der 6 Präparate mit zunächst Hämalaun-Eosin-Färbung (HE), die das Ausmaß und die zelluläre Zusammensetzung des entzündlichen Infiltrats zeigt und Grocott-Färbung, die eine kräftige und spezifische schwarze Darstellung auch einzelner Pilzhyphen und Pilzfragmente im Gewebe und Schleim ermöglicht, sind in allen 6 Präparaten (100%) weder eine Eosinophilie bzw. eosinophile Cluster und/oder Charcot-Leyden-Kristalle als Kriterien des allergischen Schleims zu sehen noch nicht-invasive Pilzhyphen bzw. Pilzfragmente zu finden.

4.7.2 Histologische Ergebnisse der CRS-Patienten

Tab. 25 Histologischer Pilz- und Eosinophilenachweis im Nasenschleim der CRS-Patienten (n=26)

Patienten-Nr.	Pilze im Direktpräparat* Färbung n. Grocott	Eosinophilie im Direktpräparat** Hämalaun-Eosin (HE) Färbung
1	0	0
2	0	0
3	0	2
4	0	2
5	0	3
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	2
10	0	0
11	0	0
12	0	0
13	0	0
14	0	2
15	0	3
16	0	0
17	0	3
18	0	0
19	0	0
20	0	0
21	0	0
22	0	3
23	0	0
24	0	2
25	0	0
26	0	0

0= negativer Pilznachweis, 1= positiver Pilznachweis

** semiquantitative Schätzung (0=keine Eos., 1=wenig, 2=mäßig, 3=viele)

Tab. 26 Zusammensetzung der Eosinophilie im Nasenschleim der CRS-Patienten (n=9)

Patienten-Nr.	Eosinophilie im Direktpräparat** Hämalaun-Eosin (HE) Färbung	eosinophile Cluster** Hämalaun-Eosin (HE) Färbung	Charcot-Leyden-Kristalle** Hämalaun-Eosin (HE) Färbung
3	2	0	0
4	2	0	1
5	3	0	0
9	2	1	0
14	2	0	0
15	3	0	0
17	3	1	1
22	3	1	1
24	2	1	0

** semiquantitative Schätzung (0=keine Eos., 1=wenig, 2=mäßig, 3=viele)

Nach Doppelfärbung der 26 Präparate mit zunächst Hämalaun-Eosin-Färbung (HE), die das Ausmaß und die zelluläre Zusammensetzung des entzündlichen Infiltrats zeigt und Grocott-Färbung, die eine kräftige und spezifische schwarze Darstellung auch einzelner Pilzhypen und Pilzfragmente im Gewebe und Schleim ermöglicht, sind in allen 26 Präparaten (100%) keine nicht-invasive Pilzhypen bzw. Pilzfragmente zu finden (Tab. 25). Allerdings sieht man in 9 Präparaten (35%) eine Eosinophilie (Tab. 25, Abb. 37), davon in vier (Patienten-Nr.: 9, 17, 22, 24) mit eosinophilen Clustern (15%) bzw. in zwei Präparaten (Patienten-Nr.: 17, 22) mit ebenfalls Charcot-Leyden-Kristalle (8%, Abb. 38). Lediglich in einem Präparat (Patienten-Nr.: 4) sind nur Charcot-Leyden-Kristalle (4%) im Nasenschleim zu sehen (Tab. 26).

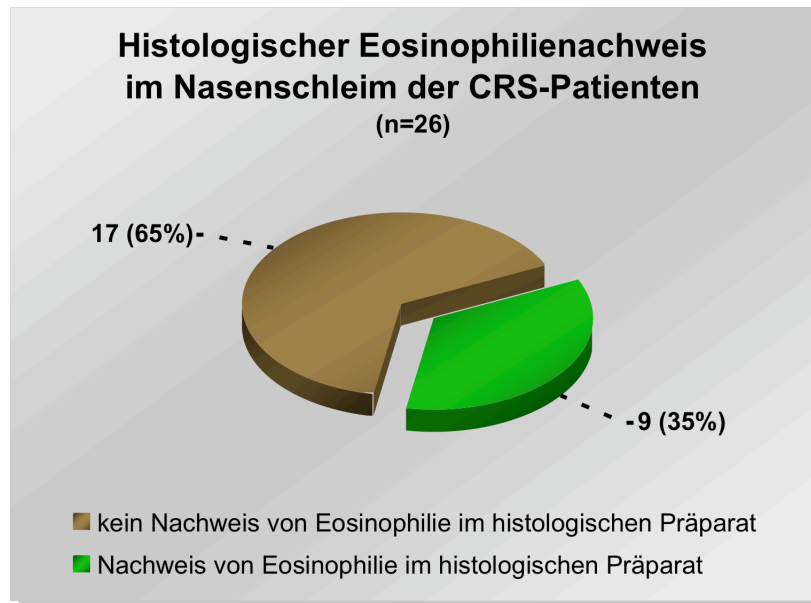


Abb. 37 Histologischer Eosinophilienachweis im Nasenschleim der CRS-Patienten

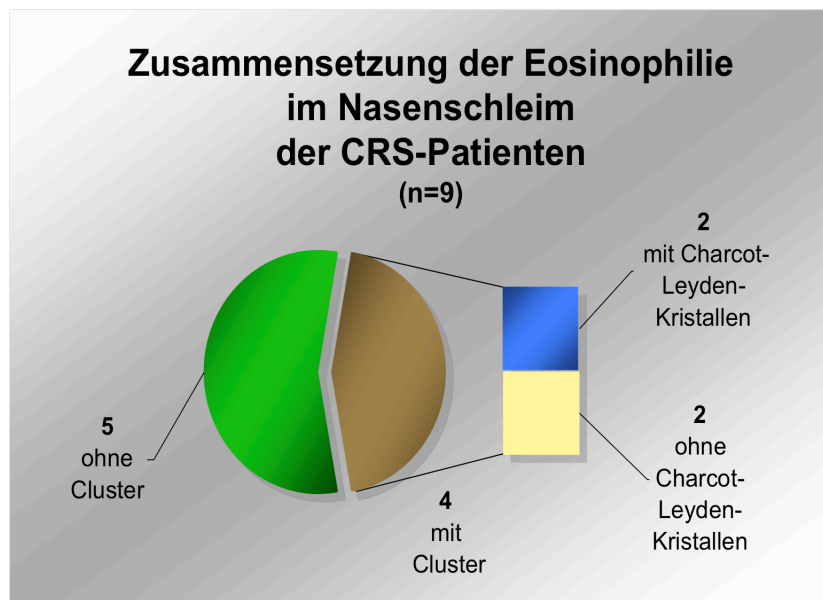


Abb. 38 Zusammensetzung der Eosinophilie im Nasenschleim der CRS-Patienten

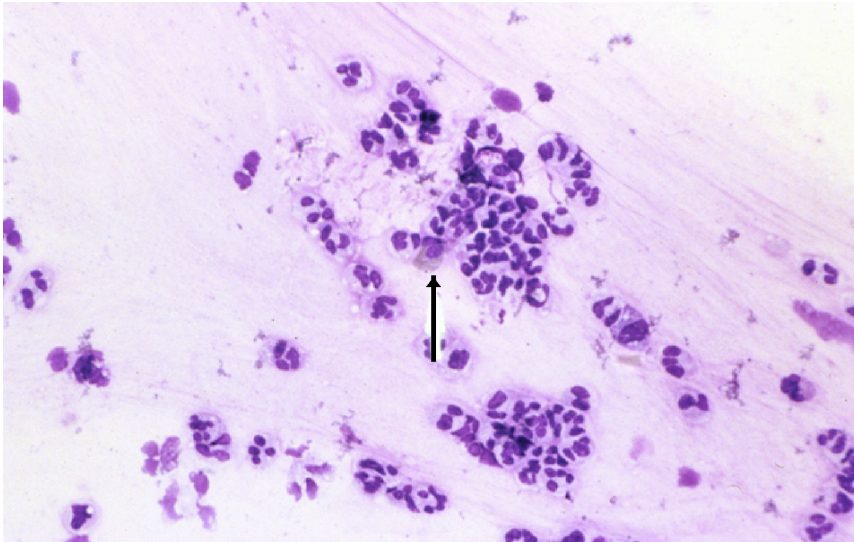


Abb. 39 Eosinophile Cluster im Nasenschleim (Hämalaun-Eosin Färbung; 40fache Verg.)

4.8 Signifikanzprüfung der ECP-Werte im Nasensekret bei Pilznachweis im Ausstrich, Histologie und Kultur

Zur Signifikanzprüfung werden Kultur-, Histologie- und Ausstrichergebnisse gemeinsam betrachtet (Tab. 19, 23, 25). Dabei wird der Pilznachweis als erbracht angesehen, wenn Pilze im Ausstrich und/oder in Kultur und/oder Histologie festzustellen sind. In 100% der Direktpräparate (Histologie) sind keine Pilzhyphen bzw. Pilzfragmente zu finden, so dass diese zur weiteren Auswertung entfallen (Tab. 25).

Für die Signifikanzprüfung kommt der U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney, ein nicht-parametrischer Zwei-Stichproben-Test für unverbundene Stichproben mit einer hohen Empfindlichkeit gegenüber Medianunterschieden (siehe 3.7) zur Anwendung. Die ECP-Nasensekretwerte der CRS-Patienten (Tab. 11) ohne Nachweis von Pilzen sind insgesamt ähnlich verteilt (Median: 458 $\mu\text{g/l}$) wie die der mit Nachweis von Pilzen (Median: 387 $\mu\text{g/l}$). Es ergibt sich somit kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den ECP-Werten mit und ohne Pilznachweis im Nasensekretausrich ($p = 0,420968$).

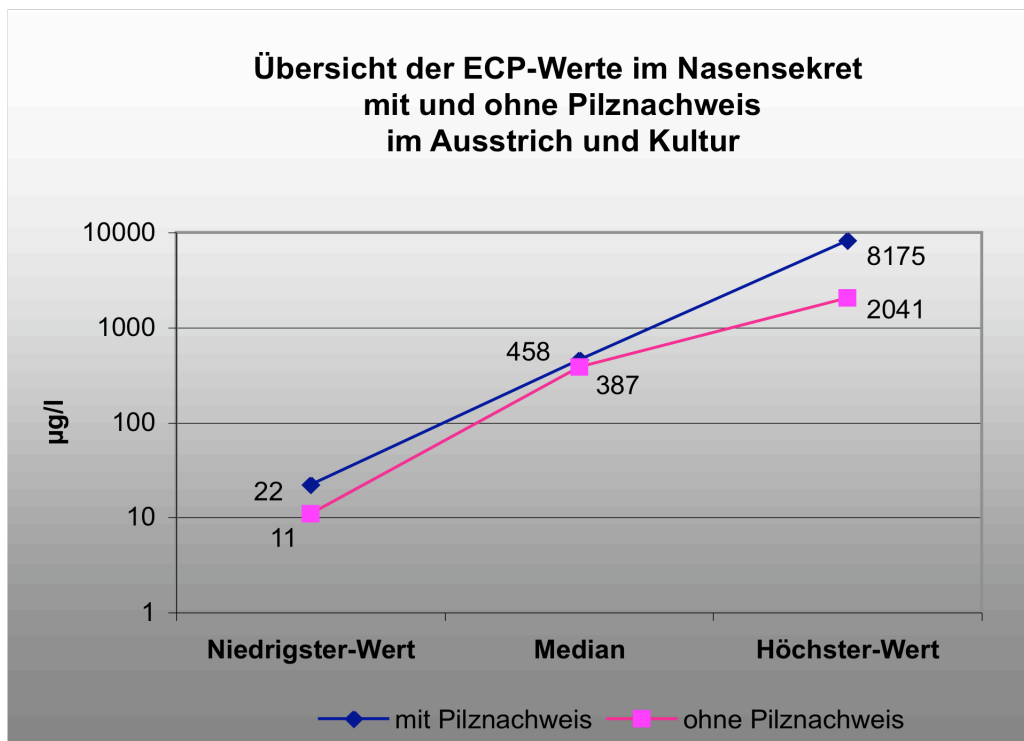


Abb. 40 Übersicht der ECP-Werte im Nasensekret mit und ohne Pilznachweis im Ausstrich

4.9 Aufgliederung der CRS-Patienten unter Berücksichtigung der histologischen, zytologischen und serologischen Befunden

Die Abb. 41 ist anhand der Tab. 13, 16a, 16b, 20a, 20b, 23, 25 und 26 erstellt worden. Durch die Auswertung der Gesamt-IgE- und allergenspezifische IgE-Werte können die CRS-Patienten in Allergiker und nicht-Allergiker eingeteilt werden.

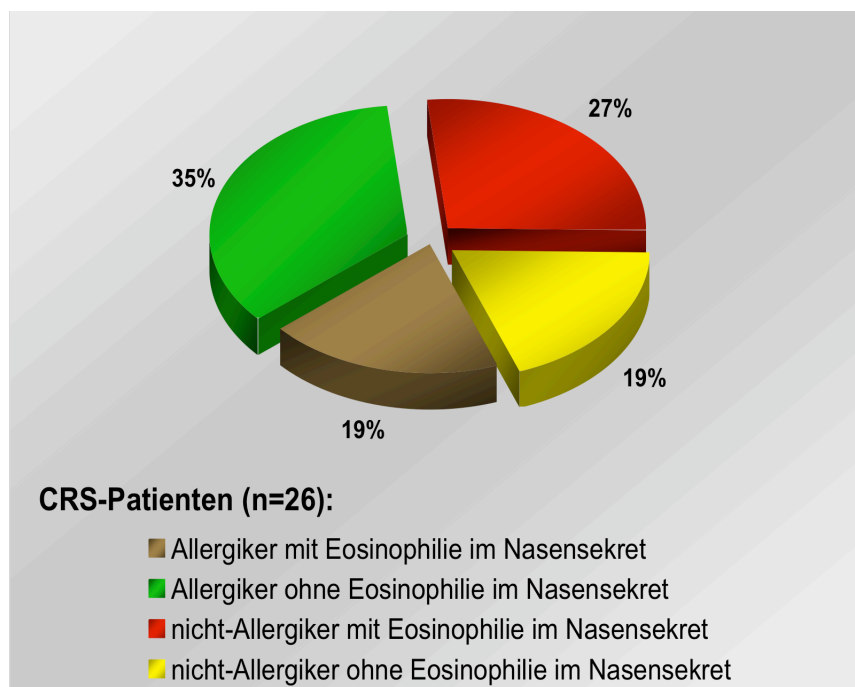


Abb. 41 Aufgliederung der CRS-Patienten

35% (9 von 26 CRS-Patienten) stellt die Gruppe der Allergiker ohne Eosinophilie im Nasensekret da, gefolgt von der Gruppe der nicht-Allergiker mit Eosinophilie mit 27% (7 von 26 CRS-Patienten). Mit jeweils 19% (5 von 26 CRS-Patienten) ist die Gruppe der Allergiker mit Eosinophilie und nicht-Allergiker ohne Eosinophilie vertreten.

Tab. 27 Überblick der Ergebnisse unter Beachtung der Aufgliederung der CRS-Patienten

	CRS-Patienten* n (%)	mit Pilzen im Nasensekret n (%)	ohne Pilze im Nasensekret n (%)	mit Pilzen und Allergic Mucin** im Nasensekret n (%)
<u>Allergiker</u>				
mit Eosinophilie im Nasensekret	5 (100)	1 (20)	4 (80)	0 (0)
ohne Eosinophilie im Nasensekret	9 (100)	4 (44)	5 (56)	-
<u>nicht-Allergiker</u>				
mit Eosinophilie im Nasensekret	7 (100)	2 (29)	4 (57)	1 (14)
ohne Eosinophilie im Nasensekret	5 (100)	1 (20)	4 (80)	-

* insgesamt 26 CRS-Patienten

** siehe 2.10.3

Bei 20% der Allergiker mit Eosinophilie und bei 44% der Allergiker ohne Eosinophilie können wir Pilze im Nasensekret nachweisen, jedoch ohne Allergic Mucin.

In der Gruppe der nicht-Allergiker mit Eosinophilie sind bei 29% der Fälle Pilze aufzufinden. Bei 14% der Fälle sind Pilze mit Allergic Mucin nachweisbar. Dieses Ergebnis ist mit einer EFRS zu vereinbaren. Nicht-Allergiker ohne Eosinophilie weisen in 20% der Fälle Pilze im Nasensekret auf.

4.9.1 Signifikanzprüfung Total-IgE-Serumwerte von Allergiker und nicht-Allergiker

Durch die Auswertung der Gesamt-IgE- und allergenspezifische IgE- Werte können die CRS-Patienten in Allergiker und nicht-Allergiker eingeteilt werden (Tab. 13, 16a, 16b, 20a und 20b). Für die Signifikanzprüfung kommt der U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney, ein nicht-parametrischer Zwei-Stichproben-Test für unverbundene Stichproben mit einer hohen Empfindlichkeit gegenüber Medianunterschieden (siehe 3.7) zur Anwendung. Die Total-IgE-Werte der Allergiker sind insgesamt deutlich höher (Median: 177,5 kU/l) als die der nicht-Allergiker (Median: 35 kU/l). Es ergibt sich ein statistisch hochsignifikanter Unterschied ($p < 0,001$).

5 Diskussion

Gegenstand der vorliegenden Arbeit war es die Hypothese von **Ponikau et al. 1999** zu prüfen, welche besagt dass die meisten Formen der chronischen Rhinosinusitis (CRS) bzw. Polyposis nasi auf eine immunologische Reaktion auf eingeatmete Pilze zurückgeht. Dabei sollte geklärt werden ob es bezüglich der Pilzkontamination der Nasenschleimhaut zwischen an Polyposis nasi bzw. CRS Erkrankten und Gesunden Unterschiede bestanden. Außerdem wurde der Aspekt, dass bei den Erkrankten ein histologisch nachweisbarer Schleim (Allergic Mucin) mit eingelagerten Eosinophilen (Clustern), Charcot-Leyden-Kristallen und Pilzhyphen vorhanden sein musste, besonders berücksichtigt. In diesem Kontext wird diskutiert, ob entsprechende non-invasive Screeningmethoden zur Erfassung von Patienten mit Polyposis nasi und CRS, die immunologisch abnorm auf Pilzstrukturen reagierten, etabliert werden könnten.

Die chronische Rhinosinusitis (CRS) ist definiert als chronisch entzündliche Erkrankung der Nasen- und Nasennebenhöhenschleimhaut, die länger als 3 Monate andauert und während dieser Zeitspanne die entsprechende klinische Symptomatik (Tab. 28) in mehreren Episoden (> 4 von je 10 Tagen Dauer) aufweist (Lund et al. 1995). Die fortschreitende chronische Entzündung endet häufig morphologisch in einer diffusen Polyposis nasi (Lanza u. Kennedy 1997).

Tab. 28 Haupt- und Nebensymptome zur klinischen Diagnosestellung einer chronischen Rhinosinusitis beim Erwachsenen (Lanza u. Kennedy 1997)

Hauptsymptome	Nebensymptome
Gesichtsschmerz/Druckschmerz	Kopfschmerz
Druckgefühl	Fieber
Behinderte Nasenatmung	Mundgeruch
Rinnende Nase/postnasal drip (eitrig, verfärbt)	Mattigkeit
Hyp- bis Anosmie	Zahnschmerz
Eitriges Sekret während der Untersuchung	Husten
Fieber (nur bei akuten Exazerbation)	Ohrenschmerz/Druckgefühl

Definitionsgemäß handelt es sich bei Nasenpolypen um entzündlich bedingte Wucherungen der Schleimhaut der Nase bzw. der Nasennebenhöhlen. Makroskopisch stellen Nasenpolypen ödematöses Gewebe von gelblichem bis glasigem Aussehen dar (Hosemann 2001). Mikroskopisch findet sich respiratorisches Epithel, welches das ödematöse Gewebe überzieht und gekennzeichnet ist durch Infiltration von Entzündungszellen. Das histologische Bild der Nasenpolypen ist somit geprägt von Eosinophilen, Mastzellen,

Makrophagen, Plasmazellen und Lymphozyten, unabhängig ob allergischer oder nichtallergischer Genese (Keith et al. 1994).

Die histologische Aufarbeitung der Polypen lässt eine grobe Auftrennung in eosinophile und neutrophile Polypen zu (Rudack u. Bachert 1999).

Wie es letztlich zur Polyposis nasi, diesem „Prolaps ödematös gequollener Nasennebenhöhlen-Schleimhaut“ (Albegger 1992), kommt ist im Einzelnen nicht geklärt. Nach heutigem Kenntnisstand muss man davon ausgehen, dass eine Reihe von verschiedenen ätiologischen Faktoren die Formation von Nasenpolypen induzieren kann und die Polyposis nasi daher nicht als solitäres Krankheitsbild verstanden werden darf (Rudack u. Bachert 1999).

Nasenpolypen nehmen am häufigsten ihren Ursprung von den Kontaktstellen des Processus uncinatus und der mittleren Nasenmuschel oder dem Infundibulum ethmoidale (Hosemann 1995). Aufgrund mangelnder Abflussverhältnisse oder schlechter Ventilation kann es zu einer chronischen Reizung und darauf folgend zu einer Hyperplasie der hochreaktionsfähigen Schleimhaut kommen (Probst u. Grevers 1992).

Im Vordergrund stehen lokal-anatomische Ursachen (ostiomeataler Komplex), eine Störung der Ventilation und Hämodynamik, eine virale Infektion, eine bakterielle sowie eine allergische Genese (Hosemann und Wigand 1985; Probst u. Grevers 1992). Im Gegensatz zur akuten Sinusitis wird die bakterielle Infektion, als primäre Ursache für CRS mittlerweile als zweifelhaft angesehen (van Cauwenberge 1997). Einige Autoren sprechen von einem multifaktoriellen Faktorengefüge.

5.1 Allergische Genese der eosinophilen Entzündung

Neben den physikalischen Pathomechanismen wurden in den letzten Jahren zunehmend immunologisch bedingte entzündliche Veränderungen der Nasen- und Nasennebenhöhlenschleimhäute beschrieben, die wesentlich an der Pathogenese einer CRS teilhaben (Bachert u. Ganzer 1993; Bachert 1997; Bachert et al. 1998; Rudack u. Bachert 1999; Bachert et al. 2001). Es existieren systemische Erkrankungen die mit der Polyposis nasi assoziiert sind. So leiden 20-30% der Patienten mit Aspirin-Intoleranz, 20-40% der Patienten mit Asthma bronchiale und 20% der Patienten mit zystischer Fibrose an Polyposis nasi (Imbrie 1981; Settupane 1996; Van der Baan 1997; May et al. 2000).

In einer histologischen Studie wurden Schleimhautpräparate einer chronischen Sinusitis untersucht. Auffallend war, dass eine deutlich höhere Eosinophileninfiltration in hyperplastisch polypösen Geweben vorlag, als in Präparaten ohne histologisch nachweisbaren Schleimhautpolypen (Jankowski et al. 1989). Sowohl in den histologischen Schleimhautpräparaten von Patienten mit Polyposis nasi und Aspirin-Intoleranz als auch in den Präparaten von Patienten mit Polyposis nasi und Asthma wurde die Anzahl der eosinophilen Granulozyten

als erhöht beschrieben (Harlin et al. 1988; Van der Baan 1997; Lamblin et al. 1999; Kaldenbach et al. 1999). Bei Patienten mit zystischer Fibrose wurde die Anzahl der eosinophilen Granulozyten eher als gering beschrieben. In den Präparaten dieser Patienten waren die Fibroblasten mengenmäßig, der am meisten vorkommende Zelltyp (Weber et al. 1997).

Die IgE-vermittelte Allergie wurde von vielen Autoren als ätiologischer Faktor bei der Entstehung von Nasenpolypen wegen der hohen Anzahl in ihnen vorkommender eosinophiler Granulozyten gewertet (Frenkiel et al. 1982; Drake-Lee et al. 1984). So wies eine Studie von *Jordana* u. *Dolovich* 1997 darauf hin, dass bei Patienten die sowohl an Polyposis nasi, als auch an IgE-vermittelter Allergie litten, im Polypengewebe fast 20% aller Zellen die eosinophile Granulozyten repräsentierten und dass $\frac{3}{4}$ dieser Zellen in aktivierter Form vorlagen. Diese Zellen verursachten durch ihre Mediatoren eine Epithelschädigung und erhöhten damit die unspezifische Reaktivität der Nasenschleimhaut. Andere Studien sprachen gegen diese These und haben gezeigt, dass zwar die Anzahl der eosinophilen Granulozyten in histologischen Präparaten von Nasenpolypen hoch ist, dies aber nicht auf eine IgE-vermittelte Allergie zurückzuführen war (Caplin 1971; Settiane 1996; Parks et al. 1998). Ferner konnte in einer anderen Arbeit gezeigt werden, dass die höchsten Polypenraten in der Gruppe der nichtallergischen Patienten mit Asthma vorlagen, als in der Gruppe der allergischen Patienten mit Asthma (Settiane 1977). Außerdem wurde im Allgemeinen die Prävalenz von Nasenpolypen bei Allergikern unter 5% angegeben, während die Prävalenz der Allergie in der allgemeinen Bevölkerung bei 15% lag (Braun et al. 2003a).

5.2 Nicht-allergisch vermittelte Entzündung mit Eosinophilie

Nichtallergische Mechanismen scheinen die Akkumulation von Entzündungszellen hervorzurufen, weshalb das Konzept der chronisch nicht-allergisch vermittelten Entzündung mit Eosinophilie entstand (Jankowski 1996). Dieses Krankheitsbild wurde in der Literatur seit 1979 als NARES (**n**on-**a**llergic rhinitis with **e**osinophilia **s**yndrom) bezeichnet (Mullarky 1979). Die betroffenen Patienten hatten einen negativen Pricktest, kein Nachweis von erhöhtem Gesamt-IgE im Serum und/oder spezifischen IgE im RAST. Weiterhin bestand kein Hinweis auf Aspirinsensitivität. Trotzdem war eine massive Eosinophilie im Nasenschleim nachweisbar. Leider konnte bis heute kein einheitliches Erklärungsmodell für diese Befunde aufgestellt werden (Moneret-Vautrin et al. 1992; Kaldenbach et al. 1999).

Als möglicher Pathomechanismus bei beidseitiger eosinophiler Polyposis nasi mit assoziiertem Asthma und Aspirinsensitivität wurde neuerdings eine Kolonisation mit enterotoxinbildenden Staphylokokken beschrieben, deren Produkte als Superantigene wirken und eine polyklonale lokale IgE-Bildung verursachen sollen. Die Präsenz enterotoxinspezifischer IgE-Antikörper im Gewebe führt schließlich zur schweren eosinophilen Entzündung. Dieser

Mechanismus müsste noch in weitgehenden klinischen Studien untersucht werden (Bachert et al. 2001).

Unter physiologischen Bedingungen finden sich keine Eosinophilen im Nasensekret oder im Nasenschleimhautepithel bei gesunden Probanden (Moneret-Vautrin 1992; Kaliner 1997).

Eosinophile Zellen lassen sich zum Teil bis zu 70% in Nasenpolypen finden und bis zu 10% in der Nasenschleimhaut von Allergikern (Brandtzaeg 1995). Eosinophile können Parasiten, Pilze und andere nichtphagozytierbare Organismen in vitro zerstören (Harlin et al. 1988). Die Eosinophilen im Polypengewebe sind besonders zytotoxisch; ihre toxischen Granula und Sauerstoffradikale ermöglichen ihnen, direkt das Epithel, zu schädigen. MBP (**M**ajor **B**asic **P**rotein) und EPO (**E**osinophil **P**eroxidase) sind in vitro toxisch für das Nasenepithel (Harlin et al. 1988; Martin et al. 1996; Khan et al. 2000). MBP kann direkt das respiratorische Epithel von der Oberfläche her schädigen. Abhängig von der MBP-Dosis und Einwirkdauer kommt es zu einer Verlangsamung und Hemmung des Zilienschlages, einer Desquamation der zilientragenden Zellen bis auf die Ebene der Basalzellschicht, bis hin zur vollständigen Zerstörung der Lamina propria der respiratorischen Mukosa. *Harlin et al. 1988* zeigte sogar den direkten Zusammenhang zwischen MBP-Ablagerung und die dadurch bedingten Schädigungen des respiratorischen Epithels bei Patienten mit CRS.

Eine wichtige Erkenntnis war, dass der Eosinophile selbst in der Lage ist eine Vielzahl an Faktoren wie Chemokine (Eotaxin) und Zytokine (IL-1 α , IL-3, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , GM-CSF, TNF- α , MIP-1 α (**m**onocyte **i**nflammatory **p**rotein), TGF- α , TGF- β) zu synthetisieren und zu speichern. Dadurch sind diese Zellen potentiell in der Lage, ihre eigene Funktion und damit das Entzündungsgeschehen selbst zu beeinflussen (Harlin et al. 1988; Broide et al. 1992; Costa et al. 1993; Martin et al. 1996; Lamkhioed et al. 1996; Nakajima et al. 1996). Diese lokale Unterhaltung der eosinophilen Entzündung konnte in der Nasenschleimhaut nachgewiesen werden (Kim et al. 1999). Eosinophile produzieren sowohl aktivierende Faktoren (IL-3, IL-5, GM-CSF etc.) als auch Zytokine wie IL-10 und TGF- β , für die in vitro eine hemmende Wirkung gezeigt werden konnte (Luttmann et al. 1998a und 1998b). Außerdem werden die Eosinophilen direkt über Zytokine wie IL-5 (IL-3, GM-CSF) und Chemokine wie Eotaxin und RANTES aktiviert und angelockt, die unter anderem von Epithelzellen, T-Lymphozyten und Fibroblasten synthetisiert werden (Ponath et al. 1996; Kramer u. Rasp 1999; Shahabuddin et al. 2000; Rudack 2002).

Bei der Gewebseosinophilie, die bei Polyposis Patienten assoziiert ist mit erhöhten Werten von IL-3 (Interleukin) und GM-CSF (**G**ranulozyten und **M**akrophagen **C**olonie **s**timulierender **F**aktor), muss unterschieden werden zwischen Allergikern (zusätzlich erhöhte Zahlen an CD45-Zellen, neutrophilen und CD3-T-Lymphozyten) und nicht-allergisch Erkrankten (Hamilos et al. 1995).

Bei den „allergischen Polypen“ werden GM-CSF und IL-3, IL-4 und IL-5 gefunden. IL-5 und GM-CSF führt zur Aktivierung und erhöhtem Vorkommen Eosinophiler im Gewebe. Außerdem hemmt IL-5, welches im Vergleich zu gesunder Schleimhaut in Nasenpolypen in erhöhter Konzentration vorliegt, die Apoptoserate der Eosinophilen im entzündeten Gewebe bei Polyposis nasi (Bachert 1997; Shahabuddin et al. 2000). Im Gegensatz zu IL-3 und GM-CSF stimuliert IL-5 nicht die neutrophilen Granulozyten und wird daher als ein zentraler Faktor für die Entstehung einer Eosinophilie angesehen (Hamilos et al. 1995; Kramer u. Rasp 1999; Bachert 1997).

Der nicht-allergische Mechanismus liegt bis jetzt im Dunkeln, aber als typisches Zytokinprofil zeigt sich hier GM-CSF, IL-3 und IFN- χ (Interferon), das auch von T_H1-Lymphozyten exprimiert wird. Außerdem erweist er sich als unabhängig von IL-4 und IL-5, welche der Gewebseosinophilie bei allergischer Genese zuzuweisen sind. Die ASS-Unverträglichkeit ist von ihrem Zytokinmuster der nicht-allergischen Genese zuzuordnen (Hamilos et al. 1995; Bachert 1997).

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass pathogenetisch die vermehrte Gewebseosinophilie durch eine gesteigerte lokale Synthese bzw. transendotheliale Migration und durch Inhibierung des programmierten Zelltodes in Eosinophilen erklärt werden kann (Bachert u. Ganzer 1993; Bachert 1997; Simon et al. 1997; Dibbert et al. 1998; Kramer u. Rasp 1999; Kim et al. 1999).

Die Erkenntnis, dass in der Pathophysiologie der CRS die eosinophilen Granulozyten eine entscheidende Rolle bei den immunologischen Vorgängen spielen, führte zum erfolgreichen Einsatz von Glucocorticosteroiden (GS). GS reduzierten die Gesamtzahl Eosinophiler in der Schleimhaut und in noch erheblich stärkerem Ausmaß die Zahl aktivierter Eosinophiler (Bentley et al. 1992). Dies war offensichtlich auf eine verminderte Produktion von Chemokinen wie Eotaxin, IL-8 und RANTES (Wang et al. 1996) und überlebensverlängernder Zytokine (IL-5, IL-3, GM-CSF) zurückzuführen (Meltzer 1995; Rak et al. 1994; Roca-Ferrer 1997). Die topische bzw. systemische Einnahme dieser Medikamente führte zur Hemmung der Produktion, Migration, Aktivierung und Degranulation der Eosinophilen (Schleimer u. Bochner 1994; Benninger et al. 1997).

Die Gewebseosinophilie wird heutzutage als der histologische Marker der CRS mit oder ohne Polyposis angesehen, unabhängig davon, ob eine Atopie vorliegt oder nicht (Jankowski et al. 1989; Kaliner et al. 1997).

Eine besondere Problematik bei der Polyposis nasi spiegelt sich in der hohen Rezidivrate wieder. So werden die Behandelten trotz sehr sorgfältiger endoskopischer Sinuschirurgie und flankierender medikamentöser Maßnahmen im klinischen Alltag häufig mit dem Auftreten von Polypenrezidiven konfrontiert. Außerdem besteht ein direkter Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Gewebseosinophilie in der Nasenschleimhaut und dem Auftreten einer Rezidivpolyposis (Stoop et al. 1989; Finotto et al. 1994). Andererseits zeigten

die Ergebnisse der Studie von *Draft u. Weber 1993*, dass bei Patienten mit erhöhter Nasenschleimhauteosinophilie oder mit präoperativ massiven Nasenschleimhautbefunden, die eine postoperative kombinierte Glucocorticosteroidtherapie über 18 Monate erhielten, 75% der Fälle eine Rezidivfreiheit nach 2 bis 10 Jahren Nachuntersuchungszeitraum aufwiesen.

5.3 Überschießende Reaktion auf Pilze – Ursache für CRS bzw. Polyposis nasi?

Die Genese der chronisch rezidivierenden Rhinosinusitis (CRS) wurde in den letzten Jahren als mögliche überschießende Immunreaktion auf Pilze und Pilzfragmente diskutiert. Seit der Veröffentlichung der Untersuchungen von *Ponikau et al. 1999* wurde eine intensive, teilweise kontroverse Diskussion zur Genese der chronischen, insbesondere der chronisch hyperplastischen Sinusitis ausgelöst.

„Die Pilzhypothese“: *Als Ort der ablaufenden immunologischen Reaktion wird nicht die Mukosa, sondern der Nasenschleim, in welchem sich ubiquitär vorkommende und eingeatmete Pilze und Pilzsporen anheften, gesehen. Eosinophile Granulozyten aus der Mukosa reagieren mit den Pilzen im Schleim und bilden so genannte „Cluster“. Infolge dieser Reaktion wird MBP im Schleim freigesetzt, ein sehr toxisches Granulaprotein der Eosinophilen. Eine quantitativ große Ansammlung dieses Proteins im Nasenschleim soll schließlich eine Entzündung, Epithel- und Zilienschädigung und damit die Auslösung der Entzündung und Initialisierung der chronischen Rhinosinusitis bewirken (Katzenstein et al. 1983a; Brandtzaeg 1995; Ponikau et al. 1999; Khan et al. 2000; Braun et al. 2003a).*

Diese Pathogenese findet sich in den Krankheitsbilder AFS (**A**llergic **F**ungal **S**inusitis) und EFRS (**E**osinophilic **F**ungal **R**hino **S**inusitis) wieder und gehört zu den nicht-invasiven pilzassoziierten Erkrankungen von Nase und Nasennebenhöhlen (Tab. 29). Nicht-invasive Pilzsinusitiden kommen bei immunkompetenten Patienten vor und es handelt sich nicht um eine Pilzinfektion, sondern um eine Entzündungsreaktion des Organismus, die auf Eosinophilen basiert (Bachert et al. 2003, Stammberger 2003).

Tab. 29 Einteilung der pilzassoziierten Erkrankungen von Nase und NNH (Stammberger 2003)

1.	Nicht invasive Formen
1.1	saprophytische Formen („Pilzrasen“ – „Kolonisation“)
1.2	Pilzkugel, -konkrement (z.B. Kieferhöhlenmykose)
1.3	eosinophilenmedierte Formen
1.4	EFRS (Eosinophilic Fungal Rhinosinusitis)
1.5	AFS (Allergic Fungal Sinusitis)
2.	Invasive Formen
2.1	fulminante/akute (lebensbedrohliche) Form
2.2	chronische/indolente Form

Da eine Anhäufung von eosinophilen Granulozyten im Nasenschleim unabhängig von einer Typ-I-Immunreaktion bei der AFS auftritt, schlugen *Ponikau et al. 1999* die Bezeichnung EFRS (Eosinophilic Fungal Rhinosinusitis) vor. Erfolgte nun ein Nachweis einer IgE-medierten Allergie mit evtl. einer positiven pilzspezifischen-IgE-Reaktion und Pilznachweis im Nasenschleim durch Histologie und/oder Kultur, dann konnte erst die Diagnose AFS gestellt werden.

In der Literatur werden mehr als 80 Pilzgattungen beschrieben, deren Vertreter Allergene enthalten, gegen die Patienten IgE-Antikörper bilden (Latgé u. Paris 1991). In mehreren Untersuchungen wurde die Relevanz von Basidiomyceten als Ursache von allergischem Asthma herausgestellt, während nur wenige Daten zum Allergengehalt von Ascomyceten existieren (Burge et al. 1985). Dass eine Vielzahl von Ascomyceten-Sporen auch Allergene enthalten, gilt als wahrscheinlich, da sie oftmals die Hauptfruchtformen von allergologisch relevanten Fungi imperfecti sind (Horner et al. 1995). Zu den wichtigsten Aeroallergenen unter Fungi imperfecti werden Vertreter der Gattungen *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* und *Penicillium* gezählt (O'Neil 1990; Horner et al. 1995).

Luftgetragene Pilzsporen und Hyphenstücke haben einen wesentlichen Anteil am Bioaerosol der Luft. Ihre Anzahl überschreitet in der Regel die von Pollen um ein Vielfaches (Lacey 1981, Lehrer et al. 1983). Die Sporenkonzentration der Außenluft erreicht in der Regel bereits im Frühjahr mehr als 1000 Sporen/m³ (Salvaggio u. Aukrust 1981, Malling 1986). Konzentrationen über 20000 Sporen/m³ wurden im Spätsommer und Herbst häufig beobachtet (D'Amato u. Spielsma 1995).

In seiner Gesamtheit setzt sich der Sporengehalt der Luft aus Vertretern der Fungi imperfecti, Basidiomyceten und Ascomyceten mit jeweils abnehmenden Anteilen zusammen (Lacey 1981; Lewis et al. 1991). Den größten Sporenanteil in der Luft stellen mesophile und saprotrophe Pilze. Weiterhin sind darüber hinaus einzelne thermotolerante Pilzspezies, insbesondere *Aspergillus fumigatus* interessant, da sie auch bei Temperaturen über 37°C wachsen können.

In Deutschland erreichen die Basidiomyceten und die Ascomyceten im Spätsommer bis Herbst maximale Konzentrationen (Krempf-Lamprecht 1985). Unter den Fungi imperfecti nimmt die Gattung *Cladosporium* eine besondere Stellung ein. Sie stellt in der gemäßigten Klimazone weltweit den größten Anteil einer einzelnen Pilzgattung an der Sporenkonzentration (30-60%) und erreicht Durchschnittskonzentrationen bis 10000 Konidien/m³ in der Freilandluft (D'Amato et al. 1984). Weitere, besonders aus allergologischer Sicht wichtige Gattungen in der Außenluft sind *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Epicoccum*, *Fusarium* und *Penicillium*, deren Anteil an der Sporenmasse in der Regel jeweils deutlich unter 10% liegt.

Geographische Unterschiede in der Konzentration von Pilzsporen wurden innerhalb von Europa durch einen von der Jahreszeit abhängigen früheren Anstieg der Pilzkonzentration in südlichen Regionen beobachtet, während die maximale Häufigkeit einzelner Spezies mit lokalen Charakteristika, der Vegetation und dem kleinräumigen Klima einen Zusammenhang bildeten. Für die Standorte Brüssel, London, Leiden und München wurden z.B. für die Pilzgattungen *Alternaria* und *Cladosporium* die höchsten Konzentrationen in Brüssel festgestellt, während deren Konzentration in den anderen Städten in angegebener Reihenfolge abnahmen (Bagni et al. 1977).

Die Kontamination des Nasensekretes mit Pilzsporen ist nach den Erkenntnissen der letzten Jahre als Normalbefund zu werten und stellt kein Krankheitsbild dar. Bereits in den ersten Lebensstagen findet eine Besiedlung durch eine fortwährende aerogene Kontamination aus der Umgebungsluft statt. Pilzsporen werden kontinuierlich eingeatmet, von 15000 bis zu 1700000 Sporen pro 24 Stunden, je nach Saison. Diese haften zum Teil auf dem Nasensekret und werden mit diesem nach dorsal in den Nasenrachen transportiert und schließlich verschluckt, ohne irgendwelche Symptome zu verursachen (Koch et al. 2000; Burch u. Levetine 2002; Dales et al. 2003; Lackner et al. 2004).

Lackner et al. 2004 untersuchten 30 Neugeborene und fanden dabei bei 20% sofort nach der Geburt Pilze in der Nasenschleimhautkultur und nach vier Monaten sogar bei 94% der Säuglinge Pilze im Nasenschleim. Diese Ergebnisse entsprachen auch den bisher bereits gefundenen Pilznachweisraten in der Nase bei Erwachsenen. So zeigten Nasennebenhöhlengesunde in über 90% die gleichen Pilzspezies im Nasenschleim wie CRS-Patienten, allerdings mit dem Unterschied, dass sich bei Nebenhöhlengesunden keine Anhäufungen von eosinophilen Zellen um die Pilzfragmente im Schleim fanden (Ponikau et al. 1999).

Ähnlich wie Pollen und Stäube können Pilzsporen bei sensibilisierten Personen allergische Reaktion hervorrufen. Pilzsporen oder Hyphenstücke sind komplexe Bio-Partikel, die eine Vielzahl von biochemischen Komponenten enthalten, von denen einzelne für den Menschen toxisch sein können, wie z.B. die Mykotoxine von *Stachybotrys chartarum*, und andere als Antigene bzw. Allergene wirken, die Überempfindlichkeitsreaktionen auslösen können.

Aus noch unbekanntem Gründen werden die bei praktisch jedermann im Nasenschleim nachzuweisenden Pilze bei manchen Menschen vom Immunsystem als Pilzantigene erkannt und mit einer eosinophilenmedierten Entzündungsreaktion abgewehrt. Dies geschieht über die Freisetzung von MBP, welches seinerseits das Schleimhautepithel samt Zilien großflächig destruiert und so eine chronische Rhinosinusitis induzieren, unterhalten bzw. bakterielle Superinfektionen erleichtern kann. Die in den Eosinophilenclustern nachweisbaren Pilzfragmente werden offenbar durch die MBP-Freisetzung zumindest teilweise zerstört. Diese Patientengruppe leidet häufig an rezidivierender CRS und Polyposis, trotz Revisionsoperationen und

systemischer Corticoidtherapie (Therapieresistenz) (Ponikau et al. 1999; Braun 2003b).

Die histologische Darstellung der Pilzhyphen im Allergic Mucin gelingt nicht in allen Fällen von AFS. Schon *Katzenstein et al. 1983b* berichteten von einem Allergic Mucin, in dem keine Pilzhyphen identifiziert werden konnten. Einige Autoren ordneten diesem Befund ein eigenes Krankheitsbild unter mit der Bezeichnung „Allergic Mucin Sinusitis without Fungus“ (Stammberger u. Kennedy 1995; Jankowski 1996) sowie „Allergic Fungal Sinusitis-like Syndrom“ (Aachener Gespräche 1995). Der ausschlaggebende Unterschied war das Unvermögen die Pilzorganismen histologisch oder in einer Kultur darzustellen. Daraus ergab sich nun die Frage, ob diese Fälle von Pilzen verursacht werden, die in der Diagnose übersehen wurden oder ob es sich bei diesem AFS-ähnlichem Syndrom um eine andere klinische Entität handelte (Settipane 1996).

Entsprechend den Beschreibungen von *Ponikau et al. 1999* untersuchten wir primär das Nasensekret bzw. den Nasenschleim von 26 CRS-Patienten auf Vorkommen von Pilzen mit Eosinophilie. Außerdem wurden während einer endoskopischen Nasennebenhöhlensanierung das gewonnene Operationsmaterial auch histologisch auf das Vorkommen von Pilzelementen und eosinophilen Granulozyten untersucht.

Durch die Auswertung der Gesamt-IgE- und allergenspezifische IgE-Werte im Serum sowie Eosinophilienachweis im Nasensekret konnten wir die CRS-Patienten weiter einteilen. 35% (9 von 26 CRS-Patienten) stellte die Gruppe der Allergiker ohne Eosinophilie im Nasensekret dar, gefolgt von der Gruppe der nicht-Allergiker mit Eosinophilie mit 27% (7 von 26 CRS-Patienten). Mit jeweils 19% (5 von 26 CRS-Patienten) waren die Gruppen der Allergiker mit Eosinophilie und nicht-Allergiker ohne Eosinophilie vertreten. Als Kontrollgruppe dienten 6 NNH-Gesunde Probanden.

Da Nasenschleim eine eher visköse Substanz war in der Pilzelemente eingeschlossen waren wurde dieser durch Aufbrechen der Disulfidbrücken mit einem Mukolytikum (Sputasol®) zur Schleimverflüssigung versetzt. Dadurch erlangten mehr Pilzelemente einen engeren Kontakt mit dem Nährmedium. Dabei gelang es uns Pilze in 3 von 26 (12%) CRS-Patienten und 1 von 6 (17%) in der Kontrollgruppe mikrobiologisch nachzuweisen. Dagegen haben wir Pilzfragmente immerhin in 9 von 26 (35%) CRS-Patienten im Nasensekretausstrich gefunden, hingegen in keinem Fall in der Kontrollgruppe. Verteilt auf die CRS-Gruppen ergab sich folgendes Bild, wobei Kulturen und Ausstriche zusammen gezählt wurden: Bei 20% der Allergiker mit und bei 44% der Allergiker ohne Eosinophilie wurden Pilze im Nasenschleim nachgewiesen. Pilze oder Pilzfragmente mit Allergic Mucin konnten nicht gefunden werden, weshalb kein CRS-Patient die Kriterien einer AFS erfüllte. In der Gruppe der nicht-Allergiker mit Eosinophilie konnten in 29% der Fälle Pilze gefunden werden. Bei 14% der Fälle wurden Pilze mit Allergic Mucin im Nasenschleim identifiziert. Dieses Ergebnis war deshalb mit einer EFRS zu vereinbaren. Nicht-Allergiker ohne Eosinophile wiesen in 20% der Fälle Pilze im Nasensekret auf.

Damit lagen die Resultate weit unter denen der *Ponikau- und Braun-Studien*. Diese haben nämlich in 202 von 210 (96%) bzw. 207 von 238 (87%) Fällen Pilze im Nasenschleim bei an CRS leidenden Patienten nachgewiesen. Weiterhin konnten bei 21 von 23 (91%) freiwilligen Probanden positive Pilzkulturen angezchtet werden (Ponikau et al. 1999; Braun et al. 2003b). *Kaschke et al. 2002* allerdings konnten nur in 5 von 40 (12,5%) Fällen bei Patienten mit einer chronisch-hyperplastischen Pansinusitis die Diagnose einer allergisch-fungalen Sinusitis durch den Nachweis von vereinzelt Pilzhyphen in allergischem Schleim bei positiver Pilzkultur stellen. In einer anderen Studie in Zusammenarbeit mit dem Institut für Mikrobiologie der Universität Rostock, einem renommierten Pilzforschungsinstitut, konnten auch nach Auflösung des Schleims mit Dithiothreitol und bei Anwendung sensitivster Nachweismethoden bei weniger als 50% der Patienten mit Polyposis nasi Pilzelemente nachgewiesen werden (Riechelmann 2003). Dies entsprach unseren und denen von *Kaschke et al. 2002* durchgeführten Untersuchungen. Außerdem gelang es *Catten et al. 2001* einen positiven Pilznachweis im Nasenschleim von CRS-Patienten in nur 42% der Fälle und in 40% bei der Kontrollgruppe.

Mittlerweile sind ca. 100 im Nasenschleim nachgewiesene und durch Pilzkultur und/oder PCR-Technik eindeutig identifizierte Pilzarten bekannt (Ponikau et al. 1999; Braun et al. 2003b; Riechelmann 2003). Unsere Kulturen wurden als *Candida glabrata*, *Aureobasidium pullulans*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Ulocladium chartarium* und *Cladosporium sphaerospermum* identifiziert. Verglich man nun diese mit denen in der Literatur am häufigsten bei CRS-Patienten beschriebenen Pilzspezies, so wurden *Scopulariopsis brevicaulis* und *Ulocladium chartarium* selten gefunden. In der Kontrollgruppe wurde bei einer Untersuchungsperson *Penicillium sp.* identifiziert. Diese Spezies fand sich in der Tat sehr häufig bei NNH-Gesunden (Ponikau et al. 1999; Braun et al. 2003b).

Wir konnten nicht feststellen, dass mit der neuen verfeinerten Technik (Verflüssigung des viskösen Nasenschleims) bei nahezu jeder Untersuchungsperson Pilze im Nasenschleim sich nachweisen lassen. Unserer Meinung nach liegt die Ursache darin begründet, dass die an der Schleimhautoberfläche abgeschiedenen Sporen binnen weniger Minuten durch den mukoziliaren Transport in den Nasenrachenraum befördert und dort verschluckt werden. Auch moderne, sensitive Pilznachweistechiken benötigen in der Regel mehr als 1-2 Sporen, um positiv zu werden. Passend hierzu erscheint unser überwiegend negativer Pilznachweis beim NNH-Gesunden auch nach Vorbehandlung mit schleimlösenden Substanzen. Bei Patienten mit chronischer Rhinosinusitis ist die mukoziliare Clearance stark verlangsamt. Die Nasenschleimhaut weist überwiegend Epithelhyperplasien, einschichtiges kubisches Epithel oder Plattenepithel auf mit nur wenigen zilienträgenden Zellen (Coromina u. Sauret 1990). Dadurch verweilen die luftgetragene Pilzsporen und Hyphenstücke länger auf der Nasenschleimhaut und können somit sowohl im Nasenausstrich als auch im histologischen Präparat in erhöhter Zahl nachgewiesen werden. Der prozentualer Pilznachweis bei nicht-Allergiker mit Eosinophilie (29%) bzw. ohne Eosinophilie (20%) und Allergiker mit

Eosinophilie (20%) war fast übereinstimmend, lediglich bei Allergiker ohne Eosinophilie war der Pilznachweis gegenüber den anderen Gruppen mit 44% deutlich erhöht.

Bei Kulturen, die nicht ohne weiteres einer Spezies zugeordnet werden können, kann die DNA aus den Zellkernen der Pilzzellen extrahiert und mit Hilfe der Polymerasenkettenreaktion amplifiziert und sequenziert werden. Die auf diese Weise sequenzierten Daten können dann mit bestehenden Sequenzdaten aus Gendatenbanken im Internet verglichen und bei einer Übereinstimmung einer Pilzspezies zugeordnet werden (Braun et al. 2003b). Allerdings entfällt dieser Vorgang, wenn gar keine Kulturen auf den speziellen Pilz-Agarböden wachsen, was in unseren Studien der Fall war. Fernerhin war es möglich Informationen zum Vorkommen von Pilzen bereits im Ausstrich-Präparat zu erhalten.

Bei der CRS mit oder ohne Polyposis nasi wird die massive Infiltration der Nasenschleimhaut mit eosinophilen Granulozyten als der histologische Marker dieser Erkrankung angesehen, unabhängig davon, ob eine Atopie vorliegt oder nicht. Diese oft sehr intensive eosinophile Entzündung beim Patienten war bei gesunden Probanden nicht nachweisbar (Kaliner et al. 1997). Im Nasenschleim unserer Kontrollgruppe konnten wir ebenfalls keine eosinophilen Zellen, weder im Ausstrich noch im histologischen Präparat, entdecken.

Nach Hämalaun-Eosin-Färbung (HE) der 26 Präparate, die das Ausmaß und die zelluläre Zusammensetzung des entzündlichen Infiltrats zeigte sah man in 9 Präparaten (35%) eine Eosinophilie, davon in vier mit eosinophilen Clustern (15%) bzw. in zwei Präparaten mit ebenfalls Charcot-Leyden-Kristalle (8%). Lediglich in einem Präparat waren nur Charcot-Leyden-Kristalle (4%) im Nasenschleim zu sehen. Die Färbung nach Pappenheim zeigte in 7 Fällen (27%) Eosinophilie im Nasenausstrich. Infolgedessen war es möglich durch einfache pathomorphologische Verfahren eindeutige Informationen zum Vorkommen von eosinophile Zellen bereits im Ausstrich zu erhalten. In Ausstrich- und/oder Histologie-Präparaten wurden demnach bei 12 von 26 CRS-Patienten (46%) eosinophile Zellen ermittelt. Auf die Gruppen verteilt waren es damit 36% (5 von 14 Patienten) der Allergiker und 58% (7 von 12 Patienten) der nicht-Allergiker.

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass bei unseren untersuchten 26 CRS-Patienten nur einer (4%) die Kriterien des EFRS-Krankheitsbildes erfüllte. Betrachtet man die Gruppe der nicht-Allergiker isoliert, so war es dann einer von 7 Patienten (14%).

5.4 Immunologische Serumuntersuchungen

Die Bestimmung von Gesamt-IgE und allergenspezifischem IgE erfolgte mittels Immunoassays. Das Prinzip des Immunoassays ist die spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion. Die ursprüngliche Form der Immunoassays ist der Radioimmunoassay (RIA), bei welchem das Antigen oder der Antikörper mit radioaktiven Isotopen markiert wird. Durch die Einführung des Enzymimmunoassays (EIA) wurden die Gefahren der Verwendung radioaktiver Isotope vermieden, indem die Antigene bzw. die Antikörper durch Enzyme markiert werden. Zur Bestimmung von Gesamt-IgE wurde von der Firma Pharmacia der Phadebas-IgE-PRIST (Paper-Radio-Immuno-Sorbent-Test) entwickelt. Für das allergenspezifische IgE wurde der Phadebas-RAST (Radio-Allergo-Sorbent-Test) entwickelt. Eine Weiterentwicklung des RAST und PRIST stellt das CAP-System (Capacity system) der Firma Pharmacia zur Messung des spezifischen und des Gesamt-IgEs dar (Klimek et al. 1998). In dieser Studie wurde das CAP-System als FEIA (Fluoreszenz-Enzym-Immunoassay) angewandt.

Der Total-IgE-Wert im Serum diene vor allem der groben Differenzierung zwischen einer allergischen und einer nichtallergischen Erkrankung. Eine atopische Krankheit (z.B. allergische Rhinokonjunktivitis, exogenes allergisches Asthma bronchiale, atopisches Ekzem) liegt wahrscheinlich dann vor, wenn der Gesamt-IgE-Wert oberhalb des Normbereichs liegt bzw. eine Allergie kann ausgeschlossen werden, wenn der Wert darunter liegt. Es gibt allerdings auch nichtallergische Ursachen für erhöhte Gesamt-IgE-Werte, wie z.B. Wurmerkrankungen, systemische Pilzinfektionen, Mononukleose, Zytomegalie, HIV, Morbus Hodgkin, Bronchialkarzinom, IgE-Myelom, bullöses Pemphigoid, Erythema nodosum u.a. Der Normbereich reichte von 20 bis 100 kU/l (1U = 2,47 ng/ml). Bei Erwachsenen waren Werte ab 100 kU/l atopieverdächtig. Die Menge des Gesamt-IgE im Serum erlaubte keine Aussage darüber, ob eine Sensibilisierung gegen ein bestimmtes Allergen bestand (Hamburger u. Katzmann 1993; Urbanek u. Wahn 1994).

Verschiedene Studien untersuchten die IgE-Spiegel im Blut von AFS-Patienten. Es wurden sowohl die Gesamt-IgE als auch die pilzspezifischen-IgE-Spiegel gemessen. Die Ergebnisse wiesen eine beträchtliche Variationsbreite auf, die prozentuellen Angaben erhöhter Gesamt-IgE-Spiegel bewegten sich zwischen 33% (Ponikau et al. 1999) und 94% (Manning et al. 1993). Die Erhöhung des pilzspezifischen IgE lag zwischen 10% (Braun et al. 2000; Stammberger 2003) und 30% (Ponikau et al. 1999) im RAST. Mehr als 58% der untersuchten Patienten zeigten dagegen keine erhöhten IgE-Werte gegen Pilzantigene, sehr wohl konnten aber die übrigen klinischen und histologischen Kriterien der AFS in 93% der untersuchten CRS-Patienten nachgewiesen werden (Ponikau et al. 1999).

In der eigenen Untersuchung lag die Kontrollgruppe mit den Gesamt-IgE-Werten zwischen 2 und 60 kU/l im Normbereich. Es konnte ein signifikanter Unterschied ($p = 0,0109829$) der Gesamt-IgE-Werte zwischen der Kontroll-

gruppe und der CRS-Patientengruppe gezeigt werden. Weiterhin bestand ein statistisch hochsignifikanter Unterschied ($p < 0,001$) der Gesamt-IgE-Werte zwischen der CRS-Gruppe der Allergiker und nicht-Allergiker. Zudem haben wir bei 36% der Allergiker und bei 58% der nicht-Allergiker Eosinophilie im Nasenschleim festgestellt. Daneben diagnostizierten wir in 20% der Allergikerfälle und 29% der nicht-Allergikerfälle Pilze. Nur in 4% (1 von 26 CRS-Patienten) bzw. 14% (1 von 7 nicht-Allergiker) wurden die Kriterien eine EFRS erfüllt (siehe 5.3).

Der Gesamt-IgE-Wert bzw. Gesamt-IgE-Titer war ein hilfreicher Parameter zur Abgrenzung einer allergischen Komponente bei bestehender chronischer Rhinosinusitis, besaß aber keine Aussagefähigkeit über Vorliegen einer AFS bzw. EFRS.

Bei der Durchführung des UniCAP Specific IgE in vitro-Tests bedeutete ein negatives Testergebnis, dass allergenspezifisches IgE allenfalls in so geringen Konzentrationen im untersuchten Serum vorkamen, dass es nicht detektierbar war (UniCAP Specific IgE Units-Werte $\leq 0,35$ kU/l). Dies bedeutete für die meisten Allergene (g6, g12, w6, w9, t2, t3, d1, d2 und mx2), dass auch keine allergologisch relevanten IgE-Mengen vorlagen, bzw. dass sie sich der Detektion entzogen. Ein positives Testergebnis bewies unter der Annahme der Spezifität des Tests das Vorhandensein von allergenspezifischem IgE im Serum. Dabei wurde die CAP-Klasse I als intermediäres Ergebnis angesehen, und die CAP-Klassen \geq II wurde als positiv bewertet. Ein Hauptfaktor für die Aussagekraft der allergenspezifischen IgE-Bestimmung in vitro war dabei die Qualität der verwendeten Allergene. Diese musste bei Schimmelpilzallergenen generell mit Vorsicht zu betrachten sein, da diese zum Teil nur unvollständig charakterisiert sind. Gerade hier schloss ein negatives Testergebnis auch eine IgE-vermittelte Spätphasenreaktion (Late phase reaction) nicht aus (Klimek et al. 1998).

In der vorliegenden Studie wurde bei 50% der CRS-Patienten ein progressiver Anstieg der relativen Konzentration der allergenspezifischen Antikörper (UniCAP Specific IgE Units-Werte $\geq 0,35$ kU/l) bzw. 35% \geq CAP-Klasse II gegen eine Auswahl von stark allergenen Gräsern (g6, g12), Kräutern (w6, w9), Bäumen (t2, t3), Milben (d1, d2) und nur bei 12% gegen Schimmelpilzmischung (mx2) ermittelt. Wobei nur bei einem Patienten (4%) sowohl mx2 als auch eine positive Pilzkultur nachgewiesen wurde und sogar bei zwei Patienten (8%) mx2 aber negative Pilzkulturergebnisse beobachtet wurden.

Pilzallergien werden mit verschiedenen in vitro- oder in vivo-Tests untersucht, bei denen jedoch immer Pilzextrakte und nicht Pilzmaterial aus der Umwelt eingesetzt werden. Dabei werden spezifische IgE-Antikörper gegen Extraktallergene im Patientenserum bzw. gebunden an Lymphozyten erfasst, oder die körperliche Reaktion der Patienten auf Pilzextrakte bewertet. Das Auftreten und die Relevanz von Allergenen in der Umwelt, die denen in Extrakten entsprechen, sind jedoch nicht geklärt. Ferner ist die Qualität der Extrakte nicht standardisiert und wird sehr wesentlich durch das Ausgangsmaterial, durch die

Wachstumsbedingungen der Pilze und durch die Extraktionsmethoden beeinflusst (Einarsson u. Aukrust 1992; Portnoy et al. 1993).

Besonders unter der Annahme, dass Luftpartikel die Ursache für allergische Reaktionen sind, ist es interessant, dass sich der Allergengehalt und die Allergenzusammensetzung von Pilzsporen gegenüber Pilzmyzel deutlich unterscheiden. Dennoch wird Myzel als Ausgangsmaterial für viele kommerzielle Allergenextrakte verwendet, da Sporen in ausreichender Menge und Reinheit schwierig zu produzieren sind (Kozak u. Hoffman 1984).

Weissman et al. 1987 beschrieben, dass Sporenextrakte gegenüber Myzel-extrakten sowohl zusätzliche Allergene als auch höhere Konzentrationen gemeinsamer Allergene enthalten. In der Regel reagieren Patienten sowohl gegen Myzelextrakte als auch gegen Sporenextrakte. Dabei treten auch Fälle auf, in denen Patienten ausschließlich oder stärker gegen sporenspezifische bzw. myzelspezifische Allergene reagieren (Letagé u. Paris 1991; Fadel et al. 1992).

Freies allergenspezifisches IgE konnte auch durch das Allergen gebunden werden und dadurch bzw. durch eine dann rascher einsetzende Entfernung der Immunkomplexe aus der Zirkulation zu falschnegativen Testergebnissen führen. Dieses Problem spielte jedoch bei den Typ-I-Allergien des oberen Respirationstraktes auf Aeroallergene in der Regel keine Rolle, da hier durch die langfristige und wiederholte Allergenexposition eine dauerhafte allergenspezifische IgE-Produktion induziert wurde. Die in den Körper eindringenden Allergenmengen waren außerdem viel zu gering, um die allergenspezifischen Immunglobulinmoleküle weitgehend abzubinden (Klimek et al. 1998).

Die Ergebnisse der unterschiedlichen Tests korrelieren trotz der Verwendung des gleichen Extrakts oft nur mäßig miteinander. So wurden bei Patienten mit positivem Haut- bzw. Provokationstests z.B. keine spezifischen IgE-Antikörper gegen den zur Provokation verwendeten Extrakt festgestellt (Morgen et al. 1990).

Insgesamt wurde in 54% (14 von 26 CRS-Patienten) das Vorhandensein von allergenspezifischem IgE ermittelt. Mit hoher Wahrscheinlichkeit lag bei diesen Patienten eine atopische Genese vor, so dass eine Gliederung der CRS-Patienten in Allergiker und nicht-Allergiker ermöglicht wurde. Ein Zusammenhang zwischen pilzspezifischen IgE und Eosinophilie mit Clusterbildung und Pilznachweis konnte in keinem Fall beobachtet werden.

5.5 Zellaktivierungsmarker ECP

Mit Hilfe biochemischer Entzündungsmarker im Nasensekret wurden entzündliche Veränderungen der Nasenschleimhaut gemessen. Hierzu bestimmten wir die Konzentrationen des ECP im Nasensekret. Zusätzlich wurde die ECP-Serumkonzentration ermittelt, um eine entsprechende Korrelation der Entzündungsmarker vornehmen zu können, da oftmals ohnehin zur Untersuchung weiterer Parameter Blutproben benötigt werden. Wir führten diese Messung bei Patienten mit diagnostizierter chronischer Rhinosinusitis (CRS) durch. Zum Vergleich bestimmten wir denselben Entzündungsparameter bei einer gesunden Kontrollgruppe. Diese Personen hatten weder eigenanamnestisch noch klinisch die typischen Symptome einer CRS.

Das eosinophile kationische Protein (ECP) besitzt als Mediator der eosinophilen Granulozyten eine erhebliche helminthotoxische und neurotoxische Wirkung, wie auch eine zytotoxische Wirkung auf das respiratorische Epithel. ECP hat weiterhin Wirkungen wie Ziliostase und ist mit einem prokoagulatorischem Effekt an der Gerinnung beteiligt (Dahl et al. 1991). Da Mediatoren im Zuge der Zellaktivierung ausgeschüttet werden, kann die Aktivität der eosinophilen Granulozyten und somit die Aktivität einer Entzündung im Respirationstrakt anhand der Höhe des ECP-Spiegels im Blut gemessen werden (Venge 1993). Bei Asthmatikern konnten signifikante Unterschiede der ECP-Titer bei unterschiedlicher Erkrankungsschwere gesehen werden. Da ein Zusammenhang zwischen der Höhe des ECP-Spiegels und der Aktivität einer Entzündung besteht, stellt ECP einen nützlichen und wichtigen Entzündungsmarker dar (Barnes et al. 1998).

Ob die ECP-Werte im Serum bei pilzassoziierter CRS eine klinische Bedeutung haben, ist nicht bekannt. Die Vermutung lag nahe, dass ECP-Analysen aus dem Nasensekret besser hierzu geeignet waren, da diese ein Monitoring unmittelbar am Krankheitsprozess erlaubten. Zudem ergab sich bei Bestimmung aus Blutentnahmen immer das Problem der zellulären Mediatoren, die im Verlauf der Entnahme und Bearbeitung aktiviert werden konnten.

Die ECP-Konzentration im Nasensekret zeigte einen signifikanten Unterschied ($p = 0,025165$) zwischen der CRS-Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe. Die ECP-Konzentration im Serum hingegen zeigte keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,107136$) zwischen CRS-Gruppe und der Kontrollgruppe.

In einer größeren Untersuchung von *Rasp et al. 1994* zeigten sich für verschiedene Rhinitiden im Serum keine signifikanten Unterschiede, wohl aber bei der Nasensekretbestimmung. Diese Feststellung konnte ebenfalls durch unsere eigenen Untersuchungen bestätigt werden.

Führte man einen Korrelationsvergleich zwischen ECP-Konzentrationen im Nasensekret und Serum innerhalb einer Gruppe durch, stellte man einen positiven Zusammenhang fest, d.h. je höher die ECP-Nasensekretwerte, desto höher die ECP-Serumwerte. In der CRS-Gruppe konnten 35% der Varianz der

Serumwerte durch die Nasensekretwerte erklärt werden und umgekehrt ($r = 0,5922$). In der Kontrollgruppe konnten immerhin 27% der Varianz der Serumwerte durch die Nasensekretwerte erklärt werden und umgekehrt ($r = 0,5208$).

Beim Vergleich der Medianwerte der ECP-Serumkonzentrationen der Kontrollgruppen (11 $\mu\text{g/l}$) bzw. CRS-Gruppe (19 $\mu\text{g/l}$) mit dem geometrischen Mittelwert von 4,4 $\mu\text{g/l}$, der von der Firma Pharmacia Diagnostics unter gesunden Probanden ermittelt wurde, war in beiden Fällen ein bedeutender Unterschied zu erkennen. Bei Betrachtung der Werte der 90'er bzw. 95'er Perzentile mit Konzentrationen von 10,1 $\mu\text{g/l}$ und 11,3 $\mu\text{g/l}$ zum Vergleich mit den Konzentrationen in den Gruppen, war zu sehen, dass die Medianwerte der Kontrollgruppe (11 $\mu\text{g/l}$) innerhalb diesem Bereich lagen und die Medianwerte der CRS-Gruppe (19 $\mu\text{g/l}$) bedeutende Abweichungen aufwiesen. Vergleich man die o.g. ECP-Serumkonzentrationen mit einer Studie mit 95 gesunden Erwachsenen und folgenden ECP-Werten: Geometrischer Mittelwert 5,5 $\mu\text{g/l}$ und die 90er und 95er Perzentile lag bei 11,1 bzw. 13,3 $\mu\text{g/l}$ (Arm u. Lee 1992), so kam man zum gleichen Ergebnis.

Die ECP-Nasensekretwerte der CRS-Patienten ohne Nachweis von Pilzen waren insgesamt ähnlich verteilt (Median: 458 $\mu\text{g/l}$) wie die der mit Nachweis von Pilzen (Median: 387 $\mu\text{g/l}$). Es ergab sich somit kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den ECP-Werten mit und ohne Pilznachweis im Nasensekretausstrich ($p = 0,420968$).

Für das Monitoring von Entzündungsgeschehen im Nasenschleim waren Analysen des Nasensekrets gegenüber Blutanalysen zu bevorzugen. Die ECP-Konzentrationen im Nasensekret sind besser zur klinischen Symptomatik korreliert als Serumwerte (Linder et al. 1987; Toorerenbergen et al. 1992; Klimek et al. 1996). ECP im Nasensekret war kein Marker für chronische Rhinosinusitis mit Pilznachweis und war somit nicht geeignet zum nicht-invasiven Monitoring. Zugleich bestand keine Möglichkeit eine Aussage zu treffen über ECP-Werte im Nasenschleim bei diagnostizierter EFRS und AFS, da im Falle EFRS eine zu geringe Patientenzahl vorlag und das Krankheitsbild AFS nicht festgestellt werden konnte. Die Pearson-Korrelationsanalyse zwischen ECP im Nasensekret und Total-IgE im Serum der Patientengruppe ergab den Korrelationskoeffizient von $r = 0,1826$. Damit bewegte sich dieser Wert im sehr geringen positiven Wertebereich und wies auf keinen lineareren Zusammenhang hin. Eine Erklärungsmöglichkeit wäre, dass unsere CRS-Patienten eine gemischte Gruppe von Allergiker und nicht-Allergiker mit und ohne Eosinophilie darstellten und innerhalb der CRS-Patienten beträchtliche Überschneidungen hinsichtlich der Einzelwert-IgE und ECP-Werten im Serum bestanden.

5.6 Schlussfolgerungen

Nach unseren eigenen Untersuchungen waren wir zu der gleichen Ansicht gelangt wie *Kaschke, Riechelmann* und *Catten*, nämlich dass Pilzelemente, trotz verfeinerten Pilzkultivierungstechniken (Verflüssigung des viskösen Nasenschleims), in Deutschland nicht bei allen Patienten mit Polyposis nasi et sinuum sowie NNH-Gesunden nachweisbar waren (*Catten et al. 2001, Kaschke 2002, Riechelmann 2003*). Unserer Meinung nach war der Grund dafür, dass an der Schleimhautoberfläche abgeschiedenen Pilzelemente (Sporen, Konidien, Hyphen und zerstörte Hyphen) binnen weniger Minuten durch den mukoziliaren Transport in den Nasenrachenraum befördert und dort verschluckt wurden, ohne im Nasenschleim zu verbleiben bzw. irgendwelche Symptome zu verursachen (*Koch et al. 2000; Burch und Levetine 2002; Dales et al. 2003*). Auch moderne, sensitive Pilznachweistechiken benötigten in der Regel mehr als 1-2 Sporen, um positiv zu werden. Passend hierzu erschien unser überwiegend negativer Pilznachweis beim NNH-Gesunden auch nach Vorbehandlung mit schleimlösenden Substanzen. Bei Patienten mit chronischer Rhinosinusitis ist die mukoziliare Clearance stark verlangsamt. Die Nasenschleimhaut weist überwiegend Epithelhyperplasien, einschichtiges kubisches Epithel oder Plattenepithel auf mit nur wenigen zilientragenden Zellen (*Coromina u. Sauret 1990*). Dadurch verweilen die luftgetragene Pilzsporen und Hyphenstücke länger auf der Nasenschleimhaut und können somit sowohl im Nasenausstrich als auch im histologischen Präparat in erhöhter Zahl nachgewiesen werden.

Nach *Ponikau et al. 1999* (die „Pilzhypothese“) wurden aus noch unbekanntem Gründen Pilze bei manchen Menschen vom Immunsystem als Pilzantigene erkannt und mit einer eosinophilenmedierten Entzündungsreaktion abgewehrt. Dies geschah über die Freisetzung von MBP, welches seinerseits das Schleimhautepithel samt Zilien großflächig destruierte und so eine chronische Rhinosinusitis induzieren und unterhalten bzw. bakterielle Superinfektionen erleichtern würde.

Auf jeden Fall wird heutzutage die Gewebseosinophilie als der histologische Marker der CRS mit oder ohne Polyposis angesehen, unabhängig davon, ob eine Atopie vorliegt oder nicht (*Jankowski et al. 1989; Kaliner et al. 1997*).

Der Ausgangspunkt für die Differenzierung von eosinophilen Granulozyten sind CD-34⁺-Vorläuferzellen. Interessanterweise finden sich diese bisher als allein im Knochenmark vermuteten CD 34-positiven Zellen auch im Gewebe von Nasenpolypen, so dass eine lokale Unterhaltung der nachgewiesenen eosinophilen Entzündung stattfinden kann (*Kim et al. 1999*). Als erstes Signal ist ein bis dato unbekanntes Signal durch eine Stimulation z.B. beim Allergiker mit Allergen notwendig. Daraufhin exprimieren die CD-34⁺-Zellen an ihrer Oberfläche die Alpha-Kette des Interleukin-5-Rezeptors. Im Weiteren stimuliert Interleukin 5 wesentlich die CD-34-positiven Zellen bei ihrer Reifung zu eosinophilen Granulozyten. Unter dem Einfluss lokal gebildeter Zyto- und Chemokine wie Interleukin 5 und Eotaxin können die Vorläuferzellen aus dem

Knochenmark im entzündeten Gewebe sesshaft werden und dort dann wiederum die eosinophile Entzündung unterhalten (Rasp 2002). Diese Vorstellung könnte man auf die Pilzhypothese übertragen, wobei das erste Signal die Pilzsporen bzw. Pilzfragmente darstellen würden.

In Betrachtung dieser Hypothese ergab sich die Frage, warum bei klinisch gleich erscheinenden Krankheitsbildern mit einer intensiven Ausprägung die histologisch nachweisbare Eosinophilie in unterschiedlichem Ausmaß vorkommt. Zu erwarten wäre, dass bei positiven Pilzkulturen und positiven histologischen Pilz-Befunden die Eosinophilie besonders intensiv ausgeprägt wäre, im Gegensatz zu den Fällen fehlender Pilzhistologie und fehlender positiver Kultur. Weiterhin würde nach o.g. Hypothese somit fast jeder CRS-Patient auch gleichzeitig zu der Gruppe von Menschen gehören bei denen das Immunsystem auf Pilzbestandteile mit Rekrutierung von eosinophilen Zellen aus dem Blut bzw. nach neuen Erkenntnissen sogar mit lokaler Synthese der Zellen in der Nasenschleimhaut reagiert (Kim et al. 1999; Rasp 2002).

Diese Vorstellungen stehen nicht in Einklang mit dem derzeitigen Wissen über die Immunreaktion auf Pilze. Pilzelemente werden von antigen-präsentierenden Zellen phagozytiert und dem Immunsystem präsentiert, sie sind nicht zu groß (Bozza et al. 2002). Die unterschiedlichen Immunreaktionen auf Pilze sind sehr gut charakterisiert (Bozza et al. 2002; Cramer und Blaser 2002). Mit Parasiten, zu denen z.B. auch der Malaria-Erreger gehört, haben Pilze nichts zu tun. Die mit Eosinophilen assoziierte Immunreaktion auf manche Helminthen geht typischerweise mit der Bildung von spezifischem IgE einher (Finkelman 2001), das nach der Pilzhypothese nicht zur EFRS gehört (Riechelmann 2003).

Weiterhin erklärt die Pilzhypothese nicht welche Pilzbestandteile zu einer massiven eosinophilen Reaktion im Nasenschleim führen. Es wurde nur von: „bei manchen Menschen werden Pilze vom Immunsystem als Pilzantigene erkannt und mit einer eosinophilenmedierten Entzündungsreaktion abgewehrt“ gesprochen. Als bewiesen gilt, dass Pilzsporen ähnlich wie Pollen und Stäube bei sensibilisierten Personen allergische Reaktion hervorrufen können. Pilzsporen oder Hyphenstücke sind komplexe Bio-Partikel, die eine Vielzahl von biochemischen Komponenten enthalten, von denen einzelne für den Menschen toxisch sein können, wie z.B. die Mykotoxine von *Stachybotrys chartarum*, und andere als Antigene bzw. Allergene wirken, die Überempfindlichkeitsreaktionen auslösen können. In der Literatur werden mehr als 80 Pilzgattungen genannt, deren Vertreter Allergene enthalten, gegen die Patienten IgE-Antikörper bilden (Latgé und Paris 1991). Zu den wichtigsten Aeroallergenen unter Fungi imperfecti werden Vertreter der Gattungen *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* und *Penicillium* gezählt (O'Neil 1990; Horner et al. 1995).

Die Rekrutierung von eosinophilen Granulozyten in die Nasenschleimhaut bzw. lokale Synthese im Gewebe wird von verschiedenen Adhäsionsmolekülen vermittelt, wesentliche Botenstoffe hierbei sind Interleukin 5 und Eotaxin, die nötige Mikroumgebung wird geschaffen vor allem durch die Zytokine Interleukin

4 und Interleukin 13 sowie $TNF\alpha$. All diese Botenstoffe sind speziell im Falle der allergischen Entzündung bekannt und stärken die hierbei aus Experimenten gewonnenen Hypothesen zur Einwanderung bzw. lokaler Synthese der Entzündungszellen. Einmal in das Gewebe gewandert, können sie dort mit ihren gefüllten Granula verharren und im Gewebe oder an einer Gewebeoberfläche aktiviert werden. Die Aktivierung eosinophiler Granulozyten geht häufig Hand in Hand mit der Infiltration in das Gewebe, hierbei spielt wiederum Interleukin 5 eine Schlüsselrolle. Außerdem kommen die lokal in den Atemwegen (inkl. Nasenschleimhaut) durchaus reichlich vorhandenen Immunglobuline G und vor allem das sekretorische Immunglobulin A zum Tragen. Sind die eosinophilen Granulozyten aktiviert, so können sie ihre schädliche Wirkung entfalten (Rasp 2002).

Die Wirkung aktivierter eosinophiler Granulozyten umfasste den Epithelschaden, eine lokale Hyperreagibilität des Gewebes und eine vermehrte Gefäßdurchgängigkeit. Der Epithelschaden wird vor allem durch die kationischen Proteine und durch die Radikale erklärt. Mit der Bestimmung von ECP im Nasensekret lässt sich lokal am Ort der Entzündung die Aktivität der Erkrankung mit einfachen Verfahren messen (Rasp et al. 1994; Brandtzaeg 1995; Rasp 2002).

Bis heute erbrachten Untersuchungen zur Wirkung einer nasalen fungostatischen Therapie widersprüchliche Ergebnisse. Unkontrollierte Beobachtungen an einem inhomogenen Patientenkollektiv mit Zielgrößen, die wesentlich vom Untersucherurteil abhingen, zeigten teils positive Ergebnisse (Ponikau et al. 2002). Eine andere Untersuchung zeigte keine positiven Ergebnisse einer nasalen fungostatischen Therapie bei schweren Erkrankungsformen (Ricchetti 2002). In einer weiteren Studie an 60 Patienten mit Poyposis nasi et sinuum beeinflusste nasal appliziertes Amphotericin B den Krankheitsverlauf nicht, gemessen anhand des NNH-CT's vor und nach Therapie (Riechelmann 2003).

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass bei unseren untersuchten 26 CRS-Patienten nur einer die Kriterien für das EFRS-Krankheitsbild erfüllte. Die These, dass Pilze das ätiologische Agens der Polyposis nasi et sinuum oder gar der chronischen Sinusitis im Allgemeinen sind, ist weiterhin sehr kritisch zu werten. Der Pilznachweis bei Patienten mit chronischer Sinusitis war wahrscheinlich ein reines Epiphänomen. Wir schließen uns der Ansicht von *Lara und Gomez 2001, Schbert 2001, Kaschke et al. 2002* sowie *Riechelmann 2003* an und sind ebenfalls der Meinung, dass möglicherweise die nachweisbaren Pilze nur eingeschlossene „bystander“ eines bereits pathologischen Prozesses, der zur Nasenschleimhautschädigung geführt hat.

6 Aussichten und Therapieansätze bei eosinophilenmediierter CRS

Mit der Glucocorticosteroidtherapie steht eine klinisch evaluierte und inzwischen mit längerer Erfahrung versehene und damit sicher kalkulierbare Therapie zur Verfügung, jedoch nicht ohne Nebenwirkungen. Glucocorticosteroide (GS) wirken typischerweise besonders eindrucksvoll bei eosinophilenassoziierten Entzündungen. Mit dieser Therapie können die Größe der Polypen sowie der Atemwiderstand signifikant verbessert werden (Bachert et al. 2003). GS reduzieren die Gesamtzahl Eosinophiler in der Schleimhaut und in noch erheblich stärkerem Ausmaß die Zahl aktivierter Eosinophiler (Bentley et al. 1992). Ergebnisse kontrollierter Studien zum Einsatz einer antimykotischen Therapie bei der chronischen Sinusitis liegen nicht vor. Es werden lediglich Einzelbeobachtungen bei nicht-invasiven Formen (Bent und Kuhn 1996; Andes et al. 2000; Ricchetti et al. 2002; Ponikau et al. 2003) und invasiven Mykosen bei immunkomprimierten Patienten (Rizk et al. 2000) berichtet. Die u.g. Überlegungen und Verfahren befinden sich zum Teil noch im Stadium der experimentellen Untersuchung oder präklinischen Studien. Zusammenfassend kann man festhalten, dass sicherlich lokal hoch effiziente und selektive Therapieformen in der Zukunft eine Rolle spielen werden.

Virale Infektion – Auslöser eosinophiler Entzündungsreaktion ?

Virale Infektionen sind sowohl als bedeutsame Träger des Asthmas im Falle der Infektion mit RSV bekannt. Auch im Fall der Nasenpolypen oder chronischen Sinusitis sind es Virusinfekte, die in üblicher Weise einer Verschlechterung oder einer lang persistierenden subakuten Entzündung vorangehen. Kationische Proteine (EDN, ECP) aus den Eosinophilen sind in der Lage virale infektiöse Partikel spezifisch und dosisabhängig zu zerstören. Die Infektion mit RSV führt zu einer Hyperreagibilität der Atemwege und auch zur Produktion von für Eosinophile chemotaktischen Substanzen (Saito et al. 1997). Damit ist anzunehmen, dass es durch die Infektion per se zu einer Rekrutierung in das Gewebe bzw. lokaler Synthese von Eosinophilen im Gewebe kommt. In Tiermodellen führte die Infektion mit RSV zur bronchialen Hyperreagibilität mit einer erhöhten Produktion von Interferon- γ . Der Einsatz von Anti-Interleukin 5 hemmte die Entwicklung der bronchialen Hyperreagibilität und die Eosinophilie (Schwarze et al. 1997). Erste Studien mit monoklonalen Anti-5-Antikörpern bei Asthma bronchiale werden derzeit unternommen. Für Anti-Interleukin 5 wie für alle Zytokine und deren Hemmstoffe sind allerdings bei systemischer Applikation mit enormen Nebenwirkungen zu rechnen. Deshalb wird in Zukunft die lokale Applikation eine Rolle spielen. Interessanterweise wurde in der Literatur seit 1979 das Krankheitsbild NARES beschrieben, welches nichtallergische Mechanismen für die Akkumulation von Entzündungszellen verantwortlich macht (Mullarky 1979). Daraus entstand das Konzept der chronisch nicht-allergisch vermittelten Entzündung mit Eosinophilie (Jankowski 1996). Bis heute konnte dafür kein einheitliches Erklärungsmodell aufgestellt werden. Die oben genannte Virushypothese könnte zur Klärung dieses Krankheitsbilds beitragen, wobei der Virus theoretisch das Primärsignal bei der

eosinophilen Entzündungsreaktion erzeugen könnte. Diese Vermutung bedarf weiterführender Studien.

IgE-vermittelte Spätphasenreaktion – doch der Auslöser?

Da bei Provokationsversuchen mit Allergen der Anstieg der kationischen Proteine zeitlich in der Spätphase der allergischen Sofortreaktion liegt, also beginnend 2-3 h nach Provokation mit Allergen mit einem Maximum nach 6-8 h, ist es durchaus denkbar, dass die eosinophilenmedierte Form der CRS bzw. Polyposis nasi durch eine IgE-vermittelte Spätphasenreaktion (Late phase reaction) bedingt ist. Eine suffiziente und vergleichbare IgE-Diagnostik (falschnegative oder falschpositive Testergebnisse) zwischen verschiedenen Laboren scheint ein Problem darzustellen. Es wäre für die Zukunft wünschenswert ein Laborwert, wie INR bei der Gerinnungsanalyse, in der Labordiagnostik zu etablieren. Unklar bleibt weiterhin bis dato was das erste Signal bei der eosinophilen Entzündungsreaktion darstellt. Nach unseren eigenen Untersuchungen erscheinen Pilze nicht primär in Frage zu kommen. Die Therapie mit humanisiertem Anti-IgE reduziert deutlich die Serumspiegel von IgE, vermindert auch die Spätphase der IgE-vermittelten Reaktion und damit die klinisch vor allem dem Eosinophilen zugeschriebene Reaktion auf das Allergen und damit im Endeffekt Beschwerden bei Patienten mit Asthma (Milgrom et al. 1999; Rasp 2002). Inwieweit damit tatsächlich die Antwort von Eosinophilen in der Nasenschleimhaut mit beeinflusst wird, bleibt weiterhin klinisch-experimentellen Studien überlassen.

Blockierung der Adhäsion und Infiltration

Ein anderer Ansatz wäre die Anwendung von blockierenden Antikörpern gegen P-Selektin und/oder andere Adhäsionsmoleküle als Nasenspray und die daraus resultierende Vermeidung der eosinophilen Infiltration in die Schleimhaut der Siebbeinzellen, um so den gewebetoxischen Effekt der Eosinophilen, der durch Cortison nicht ausreichend vermindert werden kann, zu verhindern und der Polyposis nasi entgegen zu wirken. Der lösliche, P-Selektin-blockierende Antikörper sPSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand) wurde bereits bei Mäusen mit allergischer Konjunktivitis getestet wobei die Infiltration durch eosinophile Granulozyten ausblieb (Strauss et al. 1999). Auch blockierende Antikörper gegen ICAM-1 Und LFA-1 wurden bei Mäusen mit allergischer Konjunktivitis untersucht, auch hier zeigte sich eine verminderte eosinophile Infiltration (Whitcup et al. 1999).

Medikamentöse Therapie

Potentielle Angriffspunkte für eine medikamentöse Therapie sind Eotaxin und der Chemokinrezeptor 3. Hierfür stehen noch keine Medikamente zur Verfügung. Interferon- α wäre ein weiterer Ansatz zur Therapie eosinophiler Erkrankungen. Allerdings müssen erhebliche systematische Nebenwirkungen und unklare Langzeiteffekte berücksichtigt werden.

7 Zusammenfassung

Die Genese der chronisch rezidivierenden Rhinosinusitis wurde in den letzten Jahren als mögliche überschießende Immunreaktion auf Pilze und Pilzfragmente diskutiert. Gegenstand der vorliegenden Arbeit war es die Hypothese von *Ponikau et al. 1999* zu prüfen, welche besagte, dass die chronische Rhinosinusitis auf eine immunologische Reaktion auf eingeatmete Pilzelemente zurückgehe.

An der Untersuchung nahmen 26 Patienten (medianes Alter: 47,1) und 6 Kontrollprobanden ohne nasale Entzündung (medianes Alter: 25) teil. Durch serologische Untersuchungen haben wir die CRS-Patienten in 9 Allergiker ohne (35%) und 5 mit Eosinophilie (19%) sowie 5 nicht-Allergiker ohne (19%) und 7 mit Eosinophilie mit (27%) eingeteilt. In unsere Studie sollte geklärt werden, ob es bezüglich der Pilzkontamination der Nasenschleimhaut zwischen an Polyposis nasi bzw. CRS Erkrankten und Gesunden Unterschiede bestanden haben. Außerdem wurde der Aspekt, dass bei den Erkrankten ein histologisch nachweisbarer Schleim mit eingelagerten Eosinophilen (Clustern), Charcot-Leyden-Kristallen und Pilzhyphen vorhanden sein musste, besonders berücksichtigt. In diesem Kontext wurde diskutiert, ob entsprechende non-invasive Screeningmethoden zur Erfassung an AFS (Allergic Fungal Sinusitis) und EFRS (Eosinophilic Fungal Rhinosinusitis) erkrankten Patienten, etabliert werden konnten.

Entsprechend den Beschreibungen von *Ponikau et al. 1999* gelang es uns mit der neuen verfeinerten Technik (Verflüssigung des viskösen Nasenschleims) Pilze in nur 12% bei CRS-Patienten und in 17% bei der Kontrollgruppe mikrobiologisch nachzuweisen. Desweiteren haben wir Pilzfragmente in 35% bei CRS-Patienten im Nasensekretausstrich gefunden, hingegen in keinem Fall in der Kontrollgruppe. Verteilt auf die CRS-Gruppen ergab sich folgendes Bild, wobei Kulturen und Ausstriche zusammen gezählt wurden: Bei 20% der Allergiker mit und bei 44% ohne Eosinophilie wurden Pilze im Nasenschleim nachgewiesen. In der Gruppe der nicht-Allergiker mit Eosinophilie konnten in 29% der Fälle Pilze gefunden werden. Bei 14% der Fälle wurden Pilze mit Allergic Mucin im Nasenschleim identifiziert. Nicht-Allergiker ohne Eosinophile wiesen in 20% der Fälle Pilze im Nasensekret auf. Folglich konnten wir nicht feststellen, dass durch Verflüssigung des Nasenschleims bei nahezu jeder Untersuchungsperson Pilze im Nasenschleim sich nachweisen ließen. Moderne, sensitive Pilznachweistechiken benötigen in der Regel mehr als 1-2 Sporen, um positiv zu werden. Die Polymerasenkettenreaktion (PCR) stellt dabei ein hilfreiches Verfahren zur Pilzspeziesidentifikation dar, entfällt aber wenn keine Pilzkulturen auf den speziellen Pilz-Agarböden wachsen, was in unseren Studien der Fall war. Pilzelemente werden kontinuierlich mit dem Nasenschleim nach dorsal in den Nasenrachen transportiert und schließlich verschluckt. Passend hierzu war unser überwiegend negativer Pilznachweis beim NNH-Gesunden auch nach Vorbehandlung mit schleimlösenden Substanzen. Bei Patienten mit chronischer Rhinosinusitis ist die mukoziliäre Clearance stark verlangsamt.

Bei den untersuchten 26 CRS-Patienten hat nur einer (4%) die Kriterien des EFRS-Krankheitsbildes erfüllt. Betrachtet man die Gruppe der nicht-Allergiker isoliert, so war es dann einer von 7 Patienten (14%).

Durch immunologische Serumuntersuchungen konnte ein signifikanter Unterschied ($p = 0,01$) bezüglich der Gesamt-IgE-Werte zwischen der Kontroll- und der CRS-Patientengruppe festgestellt werden, allerdings ohne die übrigen zytologischen und histologischen Kriterien der AFS zu erfüllen. Der Gesamt-IgE-Wert bzw. Gesamt-IgE-Titer war ein hilfreicher Parameter zur Abgrenzung einer allergischen Komponente bei bestehender chronischer Rhinosinusitis, besaß aber keine Aussagefähigkeit über Vorliegen einer AFS. Zudem wurde auch der pilzspezifische-IgE-Spiegel gemessen. Insgesamt resultierte bei 12% der CRS-Patienten ein positiver Nachweis von zirkulierenden pilzspezifischen IgEs im Serum. Ein Zusammenhang zwischen pilzspezifischen IgE und Eosinophilie mit Clusterbildung und Pilznachweis konnte in keinem Fall beobachtet werden.

Mit Hilfe biochemischer Entzündungsmarker im Nasensekret wurden entzündliche Veränderungen der Nasenschleimhaut gemessen. Hierzu bestimmten wir die Konzentrationen des ECP im Nasensekret. Zusätzlich wurde die ECP-Serumkonzentration ermittelt, da oftmals ohnehin zur Untersuchung weiterer Parameter Blutproben benötigt werden. Die ECP-Konzentration im Nasensekret zeigte einen signifikanten Unterschied ($p = 0,02$) zwischen CRS- und der Kontrollgruppe auf, hingegen im Serum war der Unterschied geringfügig ($p = 0,11$). Für das Monitoring von Entzündungsgeschehen im Nasenschleim sind Analysen des Nasensekrets daher gegenüber Blutanalysen zu bevorzugen. Die ECP-Nasensekretwerte der CRS-Patienten ohne Nachweis von Pilzelementen im Ausstrich waren insgesamt ähnlich hoch verteilt wie die der mit Nachweis von Pilzelementen im Ausstrich. Somit bestand kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den ECP-Werten mit und ohne Pilznachweis im Nasensekretausstrich ($p = 0,87$). Das ECP im Nasensekret erscheint zum Screening der pilzassoziierten chronischen Rhinosinusitis ungeeignet. Zugleich bestand keine Möglichkeit eine Aussage zu treffen über ECP-Werte im Nasenschleim bei diagnostizierter EFRS und AFS, da im Falle EFRS eine zu geringe Patientenzahl vorlag und das Krankheitsbild AFS nicht festgestellt werden konnte.

Der Pilznachweis bei Patienten mit chronischer Sinusitis kann ein Epiphänomen darstellen. Eine Ansicht die auch von *Lara und Gomez 2001*, *Schubert 2001*, *Kaschke et al. 2002* sowie *Riechelmann 2003* vertreten wird. Pilze wären demnach nur eingeschlossene „bystander“ eines bereits pathologischen Prozesses, der zur Nasenschleimhautschädigung geführt hat. Da Pilze über potente Antigene verfügen, kann eine Verstärkung eines bereits bestehenden Entzündungsreizes nicht sicher ausgeschlossen werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen darauf hin, dass es möglich ist durch einfache pathomorphologische Verfahren eindeutige Informationen zum Vorkommen von Pilzen und eosinophile Zellen bereits im Ausstrich-Präparat zu erhalten. Bei Problemfällen kann der Hinweis auf ein positiven Pilzbefund in der Histologie wertvoll sein, da

differentialdiagnostisch ein zusätzlicher potenzierender Entzündungsfaktor zu berücksichtigen ist. Es liegt dann an der Erfahrung des HNO-Arztes und dem klinischen Verlauf welche therapeutischen Optionen dann nützlich sind.

Die These, dass Pilze das ätiologische Agens der Polyposis nasi et sinuum oder gar der chronischen Sinusitis allgemein sind, ist weiterhin sehr kritisch zu werten, weil bei unseren untersuchten CRS-Patienten nur einer die Kriterien für das EFRS-Krankheitsbild erfüllte. Unklar bleibt weiterhin bis dato was das erste Signal bei der eosinophilen Entzündungsreaktion darstellt. Nach unseren Untersuchungen scheinen Pilze nicht primär in Frage zu kommen.

8 Abstract

The genesis of chronic relapsing rhino sinusitis has been discussed in recent years as a possible keloid immune reaction to fungi or their fragments. The purpose of the given paper was to prove the hypothesis of Ponikau et al. (1999) stating that chronic rhino sinusitis can be traced back to an immunologic response to inhaled fungi elements.

The investigation was made among 26 patients (median age: 47.1) and 6 control persons (median age: 25). Among all CRS patients 9 allergic persons (35%) did not have and 5 (19%) had eosinophilia, whereas 5 non allergic persons (19%) did not have and 7 (27%) had eosinophilia. Our trial had to clarify whether a fungi contamination of nasal mucosa was manifested among patients with polyposis nasi or CRS in a different way than among healthy persons. Besides, special attention was paid to the circumstance that in patients' mucus eosinophilic clusters, Charcot-Leyden-Crystals and fungi hyphens should be histologically traceable. In this context the possibility to establish special non-invasive screening methods for registration of patients who contracted AFS (Allergic Fungal Sinusitis) and EFRS (Eosinophilic Fungal Rhino sinusitis) was discussed.

In accordance with Ponikau's et al. (1999) description and by means of a new improved technique (fluidifying of viscous nasal mucosa) we succeeded in microbiologically detecting fungi in only 12% of CRS-patients and 17% of persons in the control group. Furthermore fungi fragments were found in 35 % of the CRS patients nasal discharge smear compared to no findings in the control group. Counting cultures and smears together, the results were distributed as follows: fungi were detected in nasal mucosa of 20% of allergic persons with eosinophilia against 44% of persons without it. Among the non allergic persons with eosinophilia fungi could be found in 29% of cases. In 14% of cases nasal mucosa fungi were found in allergic mucin. Nasal smear of non allergic persons without eosinophilia contained fungi in 20% of cases. Consequently it could not be proved that fungi could be detected in almost each person examined by fluidifying of nasal mucosa. As a rule, modern sensitive techniques used for fungi detection require more than 1 or 2 spores to become positive. The polymerase chain reaction is instrumental in fungi identification, however it is not applicable if no fungi cultures grow on special plates as in our investigation. Fungi fragments were continuously conveyed to dorsal nasopharynx with nasal mucosa and eventually swallowed up. Our predominantly negative proof of fungi presence in NNH-healthy persons pretreated with mucolytic substances was matching with the above findings.

The criterion of EFRS clinical picture was met only in 1 (4%) of 26 examined CRS patients. Among non allergic persons only, this was the case with one of 7 (14%) patients.

By means of the immunologic serum examination a significant difference ($p = 0,01$) was determined regarding total-IgE value between the persons in the

control group and CRS-patients but the remaining cytological and histological criteria of EFRS were not met. Total IgE value and, respectively total IgE titer was helpful for the differentiation of an allergic component in present chronic rhino sinusitis; however it provided no information about an AFS. In addition, the Allergen specific IgE level of a fungi allergen mixture was measured. 12% of CRS patients showed positive evidence of circulating allergen specific IgEs in the tested fungi-allergen mixture in serum. There was no correlation between fungi specific IgE and eosinophilic cluster formation and fungi evidence.

Inflammatory changes in nasal mucosa were studied by means of detecting biochemical inflammation markers in nasal discharge. For this purpose, the concentration of ECP in nasal discharge was measured. The ECP concentration in serum was determined additionally because often blood samples were anyway needed for the study of further parameters. The ECP concentration in nasal discharged showed a significant difference ($p = 0,02$) between the CRS patients and control persons. On the other hand, the difference in serum was insignificant ($p = 0,11$). For the purpose of monitoring of inflammation in nasal mucosa, examination of nasal discharge should be preferred to blood analyses. The ECP values of CRS-patients whose smear showed no evidence of fungi fragments were altogether distributed similarly as among those with evidence of fungi fragments in smear. Consequently, no statistically significant difference ($p=0,87$) between the ECP values stated in nasal discharge with and without fungi evidence could be established. The presence of ECP in nasal discharge seems to be inapplicable either as a marker or for the purpose of screening for fungi associated chronic rhino sinusitis. At the same time it was impossible to determine ECP values in nasal mucosa of patients with diagnosed EFRS and AFS due to a low number of EFRS patients on the one hand and unclear clinical picture of AFS on the other hand.

Fungi evidence in patients with chronic sinusitis can be treated as an epiphenomenon. Lara and Gomez (2001), Schubert (2001), Kaschke et al. (2002) as well as Riechelmann (2003) share the opinion that fungi are embedded "bystanders" of some already existing pathologic process which has lead to a damage of nasal mucosa. As fungi posses potent antigens, the enhancement of an existent inflammation cannot be definitely precluded. The results of this study point out that it is possible to obtain explicit information about the occurrence of fungi and eosinophilic cells already in a smear preparation using simple pathomorphologic methods. In problematic cases positive histological fungi evidence can be rather valuable for differential diagnosis as an additionally potentizing inflammatory factor. Expedient therapeutic options depend then on the experience of otolaryngologist and clinical progression.

The thesis that fungi present an etiologic cause of polyposis nasi et sinuum or even chronic sinusitis generally keeps being valued rather critically because in CRS patients studied by us only one EFRS criterion was met. It remains still unclear what serves as a first signal testifying to an eosinophilic inflammatory response. Our study shows that fungi should not be considered in the first place.

9 Literaturverzeichnis

- Aachener Gespräche zur Allergologie. *Allergologie* 1995; 3: 118-23
- Albegger, K.: Nasenpolypen. In: Naumann, H.H., Helms, J., Herberhold, C., Kastenbauer, E. (Hrsg.): *Oto-Rhino-Laryngologie in Klinik und Praxis*. Bd II. Stuttgart: Thieme, 1992a: 2-10
- Albegger, K.: Unspezifische Entzündungen der Nasennebenhöhlen. In: Naumann, H.H., Helms, J., Herberhold, C., Kastenbauer, E. (Hrsg.): *Oto-Rhino-Laryngologie in Klinik und Praxis*. Bd II. Stuttgart, Thieme, 1992b: 216-27
- Andes, D., Proctor, R., Bush, R.K., Pasic, T.R.: Report of successful prolonged antifungal therapy for refractory allergic fungal sinusitis. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 202-4
- Arm, J.P., Lee, T.M.: The pathobiology of bronchial asthma. *Adv Immunol* 1992; 51: 323-82
- Bachert, C., Moller, P.: Die Tonsille als MALT der Nasenschleimhaut. *Laryngo Rhino Otol* 1990; 69: 515-20
- Bachert, C., Ganzer, U.: Die Rolle der proinflammatorischen Zytokine bei der Rekrutierung von Entzündungszellen an der Nase. *Laryngo Rhino Otol* 1993; 72: 585-9
- Bachert, C.: IL-5 synthesis is upregulated in human nasal polyp tissue. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 837-42
- Bachert, C., Wagenmann, M., Rudack, C., Hopken, K., Hillebrandt, M., Wang, D., van Cauwenberge, P.: The role of cytokines in infectious sinusitis and nasal polyposis- *Allergy* 1998; 53: 2-13
- Bachert, C., Gevaert, P., Holtappels, G., Johansson, S.G., van Cauwenberge, P.B.: Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 607-14
- Bachert, C., Hörmann, K., Mösges, R., Rasp, G., Riechelmann, H., Müller, R., Luckhaupt, H., Stuck, B.A., Rudack, C.: Empfehlungen zur Diagnose und Therapie der Sinusitis und Polyposis nasi. *Allergologie* 2003; 26: 52-71
- Baggiolini, M., Dahinden, C.A.: CC chemokines in allergic inflammation. *Immunol Today* 1994; 15: 127-33

- Bagni, N., Davies, R.R., Mallea, M., Nolard, N., Spireksma, F.T., Stix, E.: Sporenkonzentration in Städten der Europäischen Gemeinschaft (EG). II Cladosporium- und Alternaria-Sporen. *Acta Allergol* 1977; 32: 118-38
- Barnes, P.J., Rodger, I.W., Thomson, N.C. (Editors): *Asthma. Basic Mechanisms and Clinical Management* 3rd edition, London, Academic Press, 1998
- Baroody, F.M., Lee, B.J., Lim, M.C., Bochner, B.S.: Implicating adhesion molecules in nasal allergic inflammation. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1995; 252 Suppl. 1: 50-8
- Bassichis, B.A., Marple, B.F., Mabry, R.L., Newcomer, M.T., Schwade, N.D.: Use of immunotherapy in previously treated patients with allergic fungal sinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 125: 487-90
- Bellinghausen, I., Enk, A.H., Mohamadzadeh, M., Lohmann, S., Knop, J., Saloga, J.: Epidermal cells enhance interleukin 4 and immunoglobulin E production after stimulation with protein allergen. *J Invest Dermatol* 1996; 107: 582-8
- Benninger, M.S., Anon, J., Mabry, R.L.: The medical management of rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 117: 41-9
- Bent, J.P. 3rd, Kuhn, F.A.: Diagnosis of allergic fungal sinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 111: 580-8
- Bent J.P. 3rd, Kuhn, F.A.: Allergic fungal sinusitis/polyposis. *Allergy and Asthma Proc* 1996; 17: 259-68
- Bentley, A.M., Cumberworth, V., Varney, V.A.: Studies during the pollen season in understanding allergic rhinitis. In: Godard, P., Bousquet, J., Michel, F.B., eds. *Advances in allergology and clinical immunology*. Carnforth: Panthenon; 1992: 457-64
- Berghaus, A., Rettinger, G., Böhme, G.: *Hals-Nasen-Ohrenheilkunde*. Stuttgart, Hippokrates Verlag, 1996
- Bernstein, J.M.: Mucosal immunology of the upper respiratory tract. *Respiration* 1992; 59 Suppl. 3: 3-13
- Bochner, B.S., Udem, B.J., Lichtenstein, L.M.: The role of adhesion molecules in human eosinophils and basophils recruitment. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94: 427-38
- Bochner, B.S., Klunk, D.A., Sterbinsky, S.A., Coffman, R.L., Schleimer, R.P.: IL-13 selectively induces vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *J Immunol* 1995; 154: 799-803

- Boenninghaus H.G.: Hals-Nasen-Ohrenheilkunde. 9. Auflage, Heidelberg - New York, Springer-Verlag, 1993
- Bozza, S., Gaziano, R., Spreca, A., Bacci, A., Montagnoli, C., di Francesco, P. et al.: Dendritic cells transport conidia and hyphae of *Aspergillus fumigatus* from the airways to the draining lymph nodes and initiate disparate Th responses to the fungus. *J Immunol* 2002; 168: 1362-71
- Brandtzaeg, P.: Mucosal immunology with special reference to specific immunodefence of the upper respiratory tract. *Orl J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1988a; 50: 225-35
- Brandtzaeg, P.: Immunobarriers of the mucosa of the upper respiratory and digestive pathways. *Acta Otolaryngol Stockh* 1988b; 105: 172-80
- Brandtzaeg, P.: Immunocompetent cells of the upper respiratory airways: Functions in normal and diseased mucosae. *Arch Otorhinolaryngol* 1995; 252 Suppl. 1: 8-21
- Braun, H., Hofmann, Th.: Eosinophilic Fungal Rhinosinusitis (EFRS) – Grazer Ergebnisse. 44. Österreichischer HNO-Kongress 2000, Abstract, *Otorhinolaryngol Nova* 2000; 10: 55-90, V92
- Braun, H., Buzina, W., Freudenschuss, K., Beham, A., Stammberger, H.: Eosinophilic fungal rhinosinusitis. A common disorder in Europe? *Laryngoscope* 2003a; 113: 264-9
- Braun, H., Stammberger, H., Buzina, W., Freudenschuss, K., Lackner, A., Beham, A.: Häufigkeit und Nachweis von Pilzen und eosinophilen Granulozyten bei chronischer Rhinosinusitis. *Laryngo Rhino Otol* 2003b; 82: 330-40
- Breuninger, H.: Über das physikalisch-chemische Verhalten des Nasenschleims. *Arch Ohr Nas Kehlk Heilk* 1964; 184: 133-8
- Broide, D.H., Paine, M.M., Firestein, G.S.: Eosinophils express interleukin 5 and granulocyte macrophage-colony-stimulating factor mRNA at sites of allergic inflammation in asthmatics. *J Clin Invest* 1992; 90: 1414-24
- Brown, J.R., Kleimberg, J., Marini, M., Sun, G., Bellini, A., Mattoli, S.: Kinetics of eotaxin expression and its relationship to eosinophil accumulation and activation in bronchial biopsies and bronchoalveolar lavage (BAL) of asthmatic patients after allergen inhalation. *Clin Exp Immunol* 1998; 114: 137-46
- Burch, M., Levetine, E.: Effects of meteorological conditions of spore plumes. *Int J Biometeorol* 2002; 46: 107-17

- Burge, H., Gold, M.D., Muilenberg, M., Solomen, W.: Allergenicity of airborne ascospores. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 75: 118
- Buzina, W., Braun, H., Freudenschluss, K.: Klassifikation von Pilzen aus Nase und Nasennebenhöhlen. 44. Österreichischer HNO-Kongress 2000, Abstracts, *Otorhinolaryngol Nova* 2000; 10: 55-90, V93
- Caplin, I., Haynes, J.T., Spahn, J.: Are nasal polyps an allergic phenomenon? *Ann Allergy* 1971; 29: 631-4
- Catten, M.D., Murr, A.H., Goldstein, J.A., Mhatre, A.N., Lalwani, A.K.: Detection of fungi in the nasal mucosa using polymerase chain reaction. *Laryngoscope* 2001; 111: 399-403
- Clutterbuck, E.J., Hirst, E.M.A., Sanderson, C.J.: Human interleukin-5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: comparison and interaction with IL-1, IL-3, IL-6 and GM-CSF. *Blood* 1989; 73: 1504-12
- Cody, D.T. 2nd, Neel, H.B. 3rd, Ferreiro, J.A., Roberts, G.D.: Allergic fungal sinusitis: the Mayo Clinic experience. *Laryngoscope* 1991; 104: 1074-9
- Corey, J.P., Delsupehe, K.G., Ferguson, B.J.: Allergic fungal sinusitis: allergic, infectious, or both? *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995; 113: 110-9
- Coromina, J., Sauret, J.: Nasal mucociliary clearance in patients with nasal polyposis. *ORL* 1990; 52: 311-5
- Costa, J.J., Matossian, K., Resnick, M.B., Beil, W.J., Wong, D.T., Gordon, J.R., Dvorak, A.M., Weller, P.F., Galli, S.J.: Human eosinophils can express the cytokines tumor necrosis factor-alpha and macrophage inflammatory protein-1 alpha. *J Clin Invest* 1993; 91: 2673-84
- Cramer, R., Blaser, K.: Allergy and immunity to fungal infections and colonization. *Eur Respir J* 2002; 19: 151-7
- D'Amato, G., Stanzola, A.A., Melillo, G.: A three year investigation (1980-1982) of the airborne fungal spores in Naples, Italy. *Ann Allergy* 1984; 52: 363-7
- D'Amato, G., Spiekma, F.: Aerobiologic and clinical aspects of mould allergy in Europe. *Allergy* 1995; 50: 870-7
- Dahl, R., Venge, P., Henriksen, J.: Eosinophils in exercise induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88: 699-704
- Dales, R.E., Cakmak, S., Judek, S., Dann, T., Coates, F., Brook, J.R., Burnett, R.T.: The role of fungal spores in thunderstorm asthma. *Chest* 2003; 123: 745-50

- De Shazo, R.D., Swain, R.E.: Diagnostic criteria for allergic fungal sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 24-35
- De Shazo, R.D., Chapin, K., Swain, R.E.: Fungal sinusitis. *N Engl J Med* 1997; 337: 254-9
- Deitmer, Th.: Physiology and pathology of the mucociliary system. *Adv Oto Rhino Laryngol* 1983; 43: 281-8
- Dibbert, B., Daigle, I., Braun, D., Schranz, C., Weber, M., Blaser, K., Zangemeister-Wiike, U., Akbar, A.N., Simon, H.U.: Role for Bcl-xL in delayed eosinophil apoptosis mediated by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin 5. *Blood* 1998; 92: 778-83
- Draf, W.: Die klinische Behandlung entzündlicher Erkrankungen der Nasennebenhöhlen. *Arch Otolaryngol* 1982; 235: 133-5
- Draf, W., Weber, R.: Endonasal micro-endoscopic pansinusoperation in chronic sinusitis I. Indications and operation technique. *Am J Otolaryngol* 1993; 14: 394-8
- Drake-Lee, A.B., Lowe, D., Swanston, A., Grace, A.: Clinical profile and recurrence of nasal polyps. *J Laryngol Otol* 1984; 98: 783-93
- Durham, S.R., Varney, V., Gaga, M., Jacobson, M.R., Frew, A.J., Kay, A.B.: Immunotherapy suppresses T lymphocyte infiltration in the cutaneous late phase reaction. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 299
- Durham, S.R.: New insights into mechanisms of immunotherapy. *Europ Arch Oto Rhino Laryngol* 1995; 252: 64-7
- Einarsson, R., Aukrust, L.: Allergens of the Fungi imperfecti. *Clin Rev Allergy* 1992; 10: 165-90
- Elsner, J., Hochstetter, R., Klimmig, D., Kapp, A.: Human eotaxin represents a potent activator of the respiratory burst of human eosinophils. *Eur J Immunol* 1996; 26: 1919-25
- Elsner, J., Kapp, A.: Eosinophilie. In: Kapp, A., Klimek, L., Werfel, Th. (Hrsg.). *Allergische Entzündung. Zur Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie.* Stuttgart, New York, Thieme Verlag, 2002
- Fadel, R., David, B., Paris, S., Guesdorn, J.L.: *Alternaria* spore and mycelium sensitivity in allergic patients: In vivo and in vitro studies. *Ann Allergy* 1992; 69: 329-35

- Ferguson, B.J., Barnes, L., Bernstein, J.M., Brown, D., Clark, C.E. 3rd., Cook, P.R., De Witt, W.S., Graham, S.M., Gordon, B., Javer, A.R., Krouse, J.H., Kuhn, F.A., Levine, H.L., Manning, S.C., Marple, B.F., Morgan, A.H., Osguthorpe, J.D., Skedros, D., Rains, B.M., 3rd., Ramadan, H.H., Terrell, J.E., Yonkers, A.J.: Geographic variation in allergic fungal rhinosinusitis. *Otolaryngol Clin North Am* 2000; 33: 227-35
- Ferguson, B.J.: Eosinophilic mucin rhinosinusitis: a distinct clinicopathological entity. *Laryngoscope* 2000; 110: 799-813
- Ferreiro, J.A., Carlson, B.A., Cody D.T. 3rd.: Paranasal sinus fungus ball. *Head Neck* 1997; 19: 481-6
- Finkelman, F.D., Urban, J.F. jr.: The other side of the coin: the protective role of the TH2 cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 772-80
- Finotto, S., Ohno, I., Marshall, J.S., Gauldie, J., Denburg, J.A., Dolovich, J., Clark, D., Jordana, M.: TNF-alpha production by eosinophils in upper airways inflammation (nasal polyposis). *J Immunol* 1994; 153: 2278-89
- Frenkiel, S., Small, P., Rochon, L., Cohen, C., Darragh, D., Black, M.: Nasal polyposis: A multidisciplinary study. *J Otolaryngol* 1982; 11: 275-8
- Ganz, H: Die Polyposis nasi – ein ungelöstes Rätsel. In: *HNO Praxis Heute*. Berlin, Heidelberg, New York, Springer Verlag 1985; Band 5: 59-87
- Grevers, G., Grantzow, R.: *Praktische Rhinologie*. München, Wien, Baltimore: Urban & Schwarzenberg, 1998
- Gwaltney, J.M. Jr., Phillips, C.D., Miller, R.D., Riker, D.K.: Computed tomographic study of the common cold. *N Engl J Med* 1994; 330: 25-30
- Hallgren, R., Colombel, J.F., Dahl, R., Fredens, K., Kruse, A., Jacobsen, N.O., Venge, P., Rambaud, J.C.: Neutrophil and eosinophil involvement of the small bowel in patients with celiac disease and Crohn's disease: studies on the secretion rate and immunohistochemical localization of granulocyte granule constituents. *Am J Med* 1989; 86: 56-64
- Hamburger, H.A., Katzmann, J.A.: *Methods in laboratory immunology*. In: *Allergy*. Middleton, E. et al. (eds). St. Louis: Mosby 1993
- Hamilos, D.L., Leung, D.Y.M., Wood, R., Cunningham, L., Bean, D.K., Yasrueel, Z., Schotman, E., Hamid, Q.: Evidence for distinct cytokine expression in allergic versus non-allergic chronic sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 537-44

- Harlin, S.L., Ansel, D.G., Lane, S.R., Myers, J., Kephart, G.M., Gleich, G.J.: A clinical and pathologic study of chronic sinusitis: The role of the eosinophil. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 81: 867-75
- Hedman, J., Kaprio, J., Poussa, T., Nieminen, M.M.: Prevalence of asthma, aspirin intolerance, nasal polyposis and chronic obstructive pulmonary disease in a population-based study. *Int J Epidemiol* 1999; 28: 717-22
- Hellquist, H.B.: Nasal polyps update. *Histopathology. Allergy Asthma Proc* 1996; 17: 237-42
- Homburger, H.A., Katzmann, J.A.: *Methods in laboratory immunology.* In: Middleton, E., Reed, C.E., Ellis, E.F., Yunginger (eds.). *Allergy: Principles and Practice.* St. Louis, Mosby 1993
- Horner, W.E., Helbling, A., Salvaggio, J.E., Lehrer, S.B.: Fungal allergens. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 161-79
- Hosemann, W., Wigand, M.E.: Örtliche Unterschiede im Gewebesbild der chronisch-hyperplastischen Nasennebenhöhlenschleimhaut. *HNO* 1985; 33: 311-5
- Hosemann, W., Baenkler, H.W., Gunther, F.: ASA-induced release of histamine from nasal mucous membranes in analgesic intolerance and polyposis nasi. *Rhinology* 1990; 28: 231-8
- Hosemann, W., Göde, U., Wagner, W.: Epidemiology, pathophysiology of nasal polyposis and spectrum of endonasal sinus surgery. *Am J of Otolaryngol* 1995; 15: 85-98
- Hosemann, W.: Innere Nase und Nasennebenhöhlen. In: Strutz, J., Mann, W. (Hrsg.). *Praxis der HNO-Heilkunde, Kopf- und Halschirurgie.* Stuttgart, Thieme: 2001, 342-92
- Hybbinette, J.C., Mercke, U.: Effects of sympathomimetic agonists and antagonists on mucociliary activity. *Acta Otolaryngol Stockh.* 1982; 94: 121-30
- Ilberg v C., May, A., Weber, A.: Zur Mikrochirurgie der Nasenhaupt- und nebenhöhlen. *Laryngo Rhino Otol* 1990; 69: 52-7
- Imbrie, J.D.: Karthagener's Syndrom: a genetic defect affecting the function of the cilia. *Am J Otolaryngol* 1981; 2: 215-22
- Iwen, P.C., Rupp, M.E., Hinrichs, S.H.: Invasive mold sinusitis: 17 cases in immunocompromised patients and review of the literature. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 1178-84

- Jankowski, R., Bene, M.C., Moneret-Vautrin, A.D., Haas, F., Faure, G., Simon, C., Wayoff, M.: Immunohistological characteristics of nasal polyps. A comparison with healthy mucosa and chronic sinusitis. *Rhinol Suppl* 1989; 8: 51-8
- Jankowski, R.: Eosinophils in the pathophysiology of nasal polyposis. *Acta Otolaryngol* 1996; 116: 160-3
- Jaquiéry, C., Podvinec, M.: Pilzkrankungen der Nebenhöhlen. Übersicht der Entwicklung im Aarauer Patientenkollektiv der letzten 10 Jahre. *Oto Rhino Laryngol Nova*, 1996; 6: 111-5
- Jordana, M., Dolovich, J.: Eosinophils in nasal polyps. In: Settupane, G.A., Lund, V.J., Bernstein, J.M., Tos, M.: *Nasal polyps: Epidemiology, pathogenesis and treatment*. OceanSide Publications, Inc Providence, Rhode Island 1997; 49-56
- Kaldenbach, T., Schäfer, D., Gosepath, J., Bittinger, F., Klimek, L., Mann, W.J.: Die Bedeutung eosinophiler Granulozyten in Beziehung zu Allergie und Aspirin-Intoleranz bei Patienten mit Sinusitis polyposa. *Laryngo Rhino Otol* 1999; 78: 429-34
- Kaliner, M.A.: Human nasal host defence and sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90: 424-30
- Kaliner, M.A., Osguthorpe, J.D., Fireman, P., Anon, J., Georgitis, J., Davis, M.L., Naclerio, R., Kennedy, D.: Sinusitis: bench to bedside. Current findings, future directions. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 116: 1-20
- Kapp, A., Czech, W., Krutmann, J., Schöpf, E.: Eosinophil cationic protein in sera of patients with atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 1991; 24: 555-8
- Kaschke, O., Rumor, D., Jautzke, G., Wölke, K., Seefeld, B.: Untersuchungen zur pilzallergischen Genese chronischer Rhinosinusitis. *Laryngo Rhino Otol* 2002; 81: 629-34
- Katzenstein, A.L., Sale, S.R., Greenberger, P.A.: Allergic aspergillus sinusitis: a newly recognized form of sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1983a; 72: 89-93
- Katzenstein, A.L., Sale, S.R., Greenberger, P.A.: Pathologic findings in allergic aspergillus sinusitis. A newly recognized form of sinusitis. *Am J Surgery Pathol* 1983b; 7: 439-43

- Kay, A.B., Ying, S., Varney, V., Gaga, M., Durham, S.R., Moqbel, R., Wardlaw, A.J., Hamid, Q.: Messenger RNA expression of the cytokine gene cluster, interleukin 3 (IL-3), IL-4, IL-5, and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, in allergen-induced late-phase cutaneous reactions in atopic subjects. *J Exp Med* 1991; 173: 775-8
- Keith, P.K., Conway, M., Evans, S., Wong, D.A., Jordana, G., Pengelly, D., Dolovich, J.: Nasal polyps: effects of seasonal allergen exposure. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 93: 567-73
- Kennedy, D.W.: Functional endoscopic sinus surgery. Theory and diagnostic evaluation. *Arch Otolaryngol* 1985a; 111: 576-82
- Kennedy, D.W.: Functional endoscopic sinus surgery: Technique. *Arch Otolaryngol* 1985b; 111: 643-9
- Kennedy, C.A., Adams, G.L., Neglia, J.P., Giebnik, G.S.: Impact of surgical treatment on paranasal fungal infections in bone marrow transplant patients. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 116: 610-6
- Khan, D.A., Cody, D.T. 2nd, George, T.J., Gleich, G.J., Leifermann, K.M.: Allergic fungal sinusitis: an immunohistologic analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 1096-101
- Killingsworth, S.M., Wetmore, S.J.: *Curvularia/Drechslera* sinusitis. *Laryngoscope* 1990; 100: 932-7
- Kim, Y.K., Uno, M., Hamilos, D.L., Beck, L., Bochner, B., Schleimer, R. et al.: Immunolocalization of CD 34 in nasal polyposis: effect of topical corticosteroids. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20: 388-97
- Kirsch, J.P., White, J.A.: Nasal polyposis. *J La State Med Soc* 1990; 142: 11-4
- Klimek, L., Rasp, G.: Zellaktivierungsmaker bei Rhinitis und Rhinosinusitis, Teil 1: Eosinophiles kationisches Protein (ECP). *Laryngo Rhino Otologie* 1996; 75: 665-70
- Klimek, L., Saloga, J., Mann, W., Knop, J. (Hrsg.): Allergische Rhinitis. Einführung in Diagnostik und Therapie. Stuttgart, New York, Schattauer, 1998
- Klimek, L., Hundorf, I., Hörmann, K.: Physiologie und Immunsystem der Nasenschleimhaut. In: Kapp, A., Klimek, L., Werfel, Th. (Hrsg.). Allergische Entzündung. Zur Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie. Stuttgart, New York, Thieme Verlag, 2002

- Klimek, L., Bachert, C.: Therapie mit inhalativen Glucocorticosteroiden. In: Kapp, A., Klimek, L., Werfel, Th. (Hrsg.). Allergische Entzündung. Zur Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie. Stuttgart, New York, Thieme Verlag, 2002
- Klossek, J.M., Peloquin, L., Fourcroy, P.J., Ferrie, J.C., Fontanel, J.P.: Aspergillomas of the sphenoid sinus: a series of 10 cases treated by endoscopic sinus surgery. *Rhinology* 1996; 34: 179-83
- Koch, A., Heilemann, K.J., Heinrich, J., Wichmann, H.E., Bischof, W.: Indoor viable mold spores – a comparison between two cities, Erfurt (Eastern Germany) and Hamburg (Western Germany). *Allergy* 2000; 55: 176-80
- Kozak, P., Hoffman, D.R.: Critical review of diagnostic procedure for mould allergy. In: Al-Doory, Y., Domson, J.F. (Editors): *Mold Allergy*. Lea and Fibinger, Philadelphia, 1984, 157-86
- Kramer, M.F., Rasp, G.: Nasal polyposis. Eosinophils and Interleukin-5. *Allergy* 1999; 54: 669-80
- Krause, M.: Infektiöse Sinusitis und Otitis. *Ther Umsch* 1992; 49: 216-21
- Krempl-Lamprecht: Bedeutung saisonal auftretender Schimmelpilze als Allergene. *Allergologie* 1985; 8: (Suppl. 1) 26-30
- Kuna, P., Reddigari, S.R., Rucinski, D., Schall, T.J., Kaplan, A.P.: Chemokines of alpha, beta-subclass inhibit human basophil responsiveness to monocyte chemotactic and activating factor/monocyte chemoattractant protein-1. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95: 574-86
- Lacey, J.: The aerobiology of conidial fungi. In: *Biology of conidial fungi*. Cole, G.T., Kendrick, B. (edt.) Academic Press, Inc, New York. 1981; 373-416
- Lackner A., Freudenschuss, K., Buzina, W., Stammberger, H., Panzitt, Th., Schosteritsch, St., Braun, H.: Ab wann sind Pilze im Nasensekret des Menschen nachweisbar? *Laryngo Rhino Otol* 2004; 83: 117-21
- Lamblin, C., Gosset, P., Salez, F., Vandezande, L.M., Perez, T., Darras, J., Janin, A., Tonnel, A.B., Wallaert, B.: Eosinophilic airway inflammation in nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 85-92
- Lamkhioued, B., Gounni, A.S., Aldebert, D., Delaporte, E., Prin, L., Capron, A., Capron, M.: Synthesis of type 1 (IFN gamma) and type 2 (IL-4, IL-5 and IL-10) cytokines by human eosinophils. *Ann N Y Acad Sci* 1996; 796: 203-8
- Lanza, D.C., Kennedy, D.W.: Adult rhinosinusitis defined. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 117: 1-7

- Lara, J.F., Gomez, J.D.: Allergic mucin with and without fungus: a comparative clinicopathologic analysis. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125: 1442-7
- Larson, R.S., Springer, T.A.: Structure and function of leucocyte integrins. *Immunol Rev* 1990; 114: 181-217
- Latagé, J.P., Paris, S.: The fungal spore: Reservoir of allergens. In: Cole, G.T., Hoch, H.C. /Editors): *The fungal spore and disease initiation in plants and animals*, Plenum Press, New York, 1991, 379-401
- Lee, K.J.: *Essential otolaryngology: head and neck surgery*. 6th ed. Stamford, Connecticut, Appleton & Lange, 1995
- Lehrer, S.B., Aukrust, L., Salvaggio, J.E.: Respiratory allergy induced by fungi. *Clin Chest Med* 1983; 4: 23-41
- Lewis, W., Dixit, A.B., Wedner, H.J.: Mord aerospora of Texas gulf coast region (Abstract). *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 182
- Linder, A., Venge, P., Deuschl, H.: Eosinophil cationic protein and myeloperoxidase in nasal secretion as markers of inflammation in allergic rhinitis. *Allerg* 1987; 42: 583-90
- Linder, A., Karlsson-Parra, A., Hivela, C., Jonsson, L., Koling, A., Sjoberg, O.: immunocompetent cells in human nasal polyps and normal mucosa. *Rhinology* 1993; 31: 125-9
- Liu, C.M., Shun, C.T., Hsu, M.M.: Lymphocyte subsets and antigen specific IgE antibody in nasal polyps. *Ann Allergy* 1994; 72: 19-24
- Lukacs, N.W., Strieter, R.M., Chensue, S.W., Widmer, M., Kunkel, S.L.: TNF-alpha mediates recruitment of neutrophils and eosinophils during airway inflammation. *J Immunol* 1995; 154: 5411-7
- Lund, V.J., Kennedy, D.W., Draf, W., Friedman, W.H., Gwaltney, J.M., Hoffman, S.R., Huizing, E.G., Jones, J.G., Jones, J.K., Lusk, R.P., Mackay, I.S., Moriyama, H., Naclerio, R.M., Stankiewicz, J.A., van Cauwenberge, P., Vining, E.M.: Quantification for staging sinusitis. The Staging and Therapy Group. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl.* 1995; 167: 17-21
- Lund, V.J.: What is the place of endonasal surgery in fungal sinusitis? In: Stamm, A., Draf, W. (ed). *Micro-endoscopic surgery of paranasal sinuses and the skull base*. Berlin; Heidelberg; New York, Springer, 2000
- Luttmann, W., Franz, P., Matthys, H., Virchow, J.C. Jr.: Effects of TGF-beta on eosinophil chemotaxis. *Scand J Immunol* 1998a; 47: 127-30

- Luttmann, W., Franz, P., Schmidt, S., Barth, J., Matthys, H., Virchow, J.C. Jr.: Inhibition of HLA-DR expression on activated human blood eosinophils by transforming growth factor-beta 1. *Scand J Immunol* 1998b; 48: 667-71
- Luttmann, W., Matthiesen, T., Matthys, H., Virchow, J.C. Jr.: Synergistic effects of interleukin-4 or interleukin-13 and tumor necrosis factor-alpha on eosinophil activation in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20: 474-80
- Mabry, R.L., Mannins, S.C., Marby, C.S. Immunotherapy in the treatment of allergic fungal sinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997a; 116: 31-5
- Mabry, R.L., Mabry, C.S.: Immunotherapy for allergic fungal sinusitis: the second year. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997b; 117: 367-71
- Mabry, R.L., Marple, B.F., Folker, R.J., Mabry, C.S.: Immunotherapy for allergic fungal sinusitis: three years experience. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 119: 648-51
- MacMillan, R.H. 3rd, Cooper, P.H., Body, B.A., Mills, A.S.: Allergic fungal sinusitis due to *Curvularia lunata*. *Hum Pathol* 1987; 18: 960-4
- Maggi, E., Parronchi, P., Manetti, R., Simonelli, C., Piccinni, M.P., Ruggi, F.S., De Carli, M., Ricci, M., Romagnani, S.: Reciprocal regulatory effects of IFN-gamma and IL-4 on the in vitro development of human Th1 and Th2 clones. *J Immunol* 1992; 148: 2142
- Malling, H.J.: Diagnosis and immunotherapy of mould allergy. IV. Relation between asthma symptoms, spore counts and diagnostic tests. *Allergy* 1986; 41: 342-50
- Manning, S.C., Mabry, R.L., Schaefer, S.D., Close, L.G.: Evidence of IgE-mediated hypersensitivity in allergic fungal sinusitis. *Laryngoscope* 1993; 103: 717-21
- Manning, S.C., Merkel, M., Kriesel, K., Vuitch, F., Marple, B.: Computer tomography and magnetic resonance diagnosis of allergic fungal sinusitis. *Laryngoscope* 1997; 107: 170-6
- Marple, B.F., Mabry, R.L.: Comprehensive management of allergic fungal sinusitis. *Am J Rhinol* 1998; 4: 263-8
- Marple, B.F., Gibbs, S.R., Newcomer, M.T., Mabry, R.L.: Allergic fungal sinusitis – induced visual loss. *Am J Rhinol* 1999; 13: 191-5
- Martin, L.B., Kita, H., Leifermann, K.M., Gleich, G.J.: Eosinophils in allergy: role in disease, degranulation and cytokines. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 109: 207-15

- May, A., Wagner, D., Langenbeck, U., Weber, A.: Familienuntersuchung bei Patienten mit ASS-Intoleranz und Rhinosinusitis. HNO 2000; 48: 650-4
- McGhee, J.R., Kiyono, H.: Effective mucosal immunity. Current concepts for vaccine delivery and immune response analysis. Int J Technol Assess Health Care 1994; 10: 93-106
- McGill, T.J., Simpson, G., Healy, G.B.: Fulminant aspergillosis of the nose and paranasal sinuses: a new clinical entity. Laryngoscope 1980; 90: 748-54
- Meltzer, E.O.: Nasal cytological changes following pharmacological intervention. Allergy 1995; 50: 15-20
- Messerklinger, W., Eggemann, G.: Über die spontane Konkrementbildung in der Kieferhöhle. Monatsschr Ohrenheilkd Laryngorhinol 1973; 107: 456-68
- Messerklinger, W.: Endoskopie der Nase und Nasennebenhöhlen. In: Berendes, J., Link, R., Zöllner, F. (Hrsg.): Hals-Nasen-Ohrenheilkunde in Praxis und Klinik, 2. Auflage, Bd. 1, Stuttgart, Thieme Verlag, 1977
- Messerklinger, W.: Endoscopy of the nose. München-Wien-Baltimore, Urban & Schwarzenberg, 1978
- Messerklinger, W.: Das Infundibulum ethmoidale und seine entzündlichen Erkrankungen. Arch Otolaryngol 1979; 222: 11-22
- Michaelis, L., Hellquist, H.B.: Ear, nose and throat histopathology. 2nd. Ed., London, Springer, 2001
- Milgrom, H., Frick, R.B.Jr., Su, J.Q., Reimann, J.D., Bush, R.K., Watrous, M.L., et al.: Treatment of allergic asthma with monoclonal anti-IgE antibody. N Engl J Med 1999; 341: 1966-73
- Millar, J.W., Johnston, A., Lamb, D.: Allergic aspergillosis of the maxillary sinus. Abstract, Thorax 1981; 36: 710
- Moneret-Vautrin, D.A., Jankowski, R., Bene, M.C., Kanny, G., Hsieh, V., Faure, G., Wayoff, M.: NARES: a model of inflammation caused by activated eosinophils ? Rhinology 1992; 30: 161-8
- Morgen, J.E., Daul, C.B., Lehrer, S.B.: The relationships among shrimp-specific IgG subclass antibodies and immediate adverse reactions to shrimp challenge. J Allergy Clin Immunol 1990; 86: 387-92
- Morpeth, J.F., Rupp, N.T., Dolen, W.K., Bent, J.P., Kuhn, F.A.: Fungal sinusitis: an update. Ann Allergy Asthma Immunol 1996; 76: 128-40

- Mullarky, M., Hills, J., Webb., D.: Eosinophilic non allergic rhinitis. Prevalence and therapy. *J Allergy Clin Immunol* 1979; 63: 201-6
- Münzel, M. A.: Mykosen des Nasennebenhöhlensystems. *Laryngo Rhino Otol.* 1999; 78: 47-9
- Nakajima, H., Gleich, G.J., Kita, H.: Constitutive production of IL-4, IL-10 and stimulated production of IL-8 by normal peripheral blood eosinophils. *J Immunol* 1996; 156: 4859-66
- Nonaka, M., Nonaka, R., Woolley, K., Adelroth, E., Miura, K., Okhawara, Y., Glibetic, M., Nakano, K.: Distinct immunohistochemical localization of IL-4 in human inflamed airway tissues. IL-4 is localized to eosinophils in vivo and is released by peripheral blood eosinophils. *J Immunol* 1995; 155: 3234-44
- Noon, L.: Prophylactic inoculation of hay fever. *Lancet* 1911; 1: 572-3
- Nussenbaum, B., Marple, B.F., Schwade, N.D.: Characteristics of bony erosion in allergic fungal rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 124: 150-4
- O'Neil: Evaluation of Basidiomycete and Deutomycete (Fungi imperfecti) extracts for shared allergenic determinants. *Clin Exp Allergy* 1990; 20: 533-8
- Osguthorpe, J.D.: Adult rhinosinusitis: diagnosis and management. *Am Fam Physician* 2001; 63: 69-76
- Parks, H.S., Kim, H.Y., Nahm, D.H., Park, K., Suh, K.S., Yim, H.: The presence of atopy does not determine the type of cellular infiltrate in nasal polyps. *Allergy Asthma Proc* 1998; 19: 373-7
- Patel, K.D., McEver, R.P.: Comparison of tethering and rolling of eosinophils and neutrophils through selectins and P-selectin glycoprotein ligand-1. *J Immunol* 1997; 159: 4555-65
- Plinkert, P.K., Schurr, M.O., Kunert, W., Flemming, E., Buess, G., Zenner, H.P.: Minimal-invasive HNO-Chirurgie (MI-HNO). *HNO* 1996; 44: 288-301
- Ponath, P.D., Qin, S., Ringler, D.J., Clark-Lewis, I., Wang, J., Kassam, N., Smith, H., Shi, X., Gonzalo, J.A., Newman, W., Gutterrez-Ramos, J.C., Mackay, C.R.: Cloning of the human eosinophil chemoattractant, Eotaxin: Expression, receptor binding and functional properties suggest a mechanism for the selective recruitment of eosinophils. *J Clin Invest* 1996; 97: 604-12
- Ponikau, J.U., Wolf, E., Groden, C., Koch, U.: Invasive Pilzsinusitis. *Otorhinolaryngol Nova* 1996; 6: 250-6

- Ponikau, J.U., Sherris, D.A., Kern, E.B., Homburger, H.A., Frigas, E., Gaffey, T.A., Roberts, G.D.: The diagnosis and incidence of allergic fungal sinusitis. *Mayo Clinic Proc* 1999; 74: 877-84
- Ponikau, J.U., Sherris, D., Kern, E.: „Die Pilzrevolution“ – Ein Paradigmenwechsel bei chronischer Rhinosinusitis und Polyposis? 44. Österreichischer HNO-Kongress 2000, Abstracts, *Otorhinolaryngol Nova* 2000; 10: 55-90, V91
- Ponikau, J.U., Sherris, D.A., Kita, H., Kern, E.B.: Intranasal antifungal treatment in 51 patients with chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 862-6
- Portnoy, J., Pacheco, F., Barnes, C., Upadrashta, B., Crenshaw, R., Esch, R.: Selection of representative *Alternaria* strain groups on the basis of morphology, enzyme profile and allergen content. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 91: 773-82
- Probst, R., Grevers, G., Iro, H.: Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde. Stuttgart, Thieme, 2000
- Rak, S., Löwhagen, O., Venge, P.: The effect of immunotherapy on bronchial hyperresponsiveness and eosinophilic cationic protein in pollen-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 82: 470-80
- Rak, S., Jacobson, M.R., Sudderick, R.M., Masuyama, K., et al.: Influence of prolonged treatment with topical corticosteroid (fluticasone propionate) on early and late phase nasal responses and cellular infiltration in the nasal mucosa after allergen challenge. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 930-9
- Randerath, W., Rühle, K.H.: Das Analgetika-Syndrom. *Med Mschr Pharm* 1999; 23: 6-11
- Rasp, G., Thomas, B.A., Bujia, J.: Eosinophil inflammation of the nasal mucosa in allergic rhinitis and non-allergic rhinitis measured by eosinophil cationic protein levels in native nasal fluid and serum. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 1151-6
- Rasp, G.: Klinische Anwendung von Entzündungsmediatoren im Nasensekret: Tryptase und ECP. *Allergo Journal* 1998; 7: 9-11
- Rasp, G.: Die eosinophile Entzündung der Nasenschleimhaut. *Laryngo Rhino Otol* 2002; 81: 491-8
- Ribes, J.A., Vanover-Sams, C.L., Baker, D.J.: Zygomycetes in human disease. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 236-301

- Ricchetti, A., Landis, B.N., Maffioli, A., Giger, R., Zeng, C., Lacroix, J.S.: Effects of anti-fungal nasal lavage with amphotericin B on nasal polyposis. *J Laryngol Otol* 2002; 116: 261-3
- Riechelmann, H.: Pilze und Polypen – Fakten und Mythen. *Laryngo Rhino Otol* 2003; 82: 766-8
- Rizk, S.S., Kraus, D.H., Gerresheim, G., Nudan, S.: Aggressive combination treatment for invasive fungal sinusitis in immunocompromised patients. *J Ear Nose Throat* 2000; 79: 278-80
- Roca-Ferrer, J., Mullol, J., Lopez, E., Xaubert, A., Pujols, I., Fernandez, J.C., Picado, C.: Effect of tropical anti-inflammatory drugs on epithelial cell-induced eosinophile survival and GM-CSF secretion. *Eur Respir J* 1997; 10: 1489-95
- Rosen, S.D., Bertozzi, C.R.: The selectins and their ligands. *Curr Opin Cell Biol* 1994; 6: 663-73
- Rudack, C., Bachert, C.: Zytokine und Chemokine bei Nasennebenhöhlen-erkrankungen. *Laryngo Rhino Otol* 1999; 78: 481-90
- Rudack, C.: Untersuchungen zum Entzündungsgeschehen in Nasenpolypen. *Rhino Otol* 2002; 81: 659-60
- Sachs, L.: *Angewandte Statistik. Anwendung statistischer Methoden.* 11., überarb. und aktualisierte Aufl. Berlin, Heidelberg, New York, Springer Verl., 2004
- Saito, T., Deskin, R.W., Casola, A., Haeberle, H., Olszewska, B., Ernst, P.B., et al.: Respiratory syncytial virus induced selective production of the chemokine RANTES by upper airway epithelial cells. *J Infect Dis* 1997; 175: 497-504
- Salvaggio, J., Aukrust, L.: Postgraduate course presentations. Mold-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 68: 327-46
- Schiebler, T.H., Schmidt, W.: *Lehrbuch der gesamten Anatomie des Menschen.* 5., korrigierte Aufl. Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Springer Verl., 1991
- Schleimer, R.P., Sterbinsky, S.A., Kaiser, J., Bickle, C.A., Klunk, D.A., Tomioka, K., Newman, W., Lusinskas, F.W., Gimbrone jr, M.A., McIntyre, B.W.: IL-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium. Association with expression of VCAM-1. *J Immunol* 1992; 148: 1086-92

- Schleimer, R.P., Bochner, B.S.: The effects of glucocorticosteroids on human eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94: 1202-13
- Schroder, J.M., Noso, N., Sticherling, M., Christophers, E.: Role of eosinophil-chemotactic C-C chemokines in cutaneous inflammation. *J Leukoc Biol* 1996; 59: 1-5
- Schubert, M.S.: A superantigen hypothesis for the pathogenesis of chronic hypertrophic rhinosinusitis, allergic fungal sinusitis, and related disorders. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001; 87: 181-8
- Schwarze, J., Hamelmann, E., Bradley, K.L., Takeda, K., Gelfand, E.W.: Respiratory syncytial virus infection results in airway hyperresponsiveness and enhanced airway sensitization to allergen. *J Clin Invest* 1997; 100: 226-33
- Settipane, G.A., Chafee, F.H.: Nasal polyps in asthma and rhinitis. A review of 6037 patients. *J Allergy Clin Immunol* 1977; 59: 17-21
- Settipane, G.A.: Epidemiology of nasal polyps. *Allergy Asthma Proc* 1996; 17: 231-6
- Shahabuddin, S., Ponath, P., Schleimer, P.R.: Migration of eosinophils across endothelial monolayers: interactions among IL-5, endothelial-activating cytokines, and C-C chemokines. *J Immunol* 2000; 164: 3847-54
- Simmen, D.: Sinusitis, neue diagnostische und therapeutische Möglichkeiten. *Ther Umsch* 1995; 52: 744-8
- Simon, H.U., Yousefi, S., Dibbert, B., Levi-Schaffer, F., Blaser, K.: Anti apoptotic signals of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor are transduced via Jak2 tyrosine kinase in eosinophils. *Eur J Immunol* 1997; 27: 3536-9
- Small, P., Frenkiel, S., Black, M.: Multifactorial etiology of nasal polyps. *Ann Allergy* 1981; 46: 317-20
- Stammberger, H.: Schleimhautveränderungen im vorderen Siebbeinen bei chronischer Sinusitis und Mykosen der Nasennebenhöhlen. *Laryngo Rhino Otol* 1985a; 64: 113-7
- Stammberger, H.: Unsere Operationstechnik der lateralen Nasenwand- ein endoskopisches Konzept zur Behandlung entzündlicher Nasennebenhöhlenerkrankungen. *Laryngo Rhino Otol* 1985b; 64: 559-66

- Stammberger, H., Zinreich, S.J., Kopp, W., Kennedy, D.W., Johns, M.E., Rosenbaum, A.E.: Zur operativen Behandlung der chronisch-rezidivierenden Sinusitis – Caldwell-Luc versus funktionelle endoskopische Technik. HNO 1987; 35: 93-105
- Stammberger, H.R., Kennedy, D.W.: Paranasal sinuses: Anatomic terminology and nomenclature. Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl 1995; 167: 7-16
- Stammberger, H., Braun, H., Freudenschuß, K., Lackner, A.: Pilzassoziierte Erkrankung der Nase und der Nebenhöhlen – Vorschlag einer neuen Klassifikation. 44. Österreichischer HNO-Kongress 2000, Abstracts, Otorhinolaryngol Nova 2000; 10: 55-90, V90
- Stammberger, H.: Die Pilz-Verwirrung: Anmerkungen zum diskutierten pilzimmunologischen Hintergrund der chronischen Rhinosinusitis mit und ohne Polyposis. Laryngo Rhino Otol 2003; 82: 307-11
- Stoop, A.E., Hameleers, D.M.H., van Run, P., Biewenga, J., van der Baan, S.: Lymphocytes and non-lymhold cells in the nasal mucosa of patients with nasal polyps and healthy subjects. J Allergy Clin Immunol 1989; 84: 734-41
- Stoop, A.E., Heijden-Hamd van der, Biewenga, J., Baan, S. van der: Lymphocytes and nonlymphoid cells in human nasal polyps. J Allergy Clin Immunol 1991; 87: 470-5
- Stoop, A.E., Heijden, H. van der, Biewenga, J., Baan, S. van der: Eosinophils in nasal polyps and nasal mucosa: an immunohistochemical study. J Allergy Clin Immunol 1993; 91: 616-21
- Strauss, E.C., Larson, K.A., Brenneise, I., Foster, C.S., Larson, G.R., Lee, N.A., Lee, J.J.: Soluble P-selectin glycoprotein ligand 1 inhibits ocular inflammation in a murine modell of allergy. Invest Ophtalmol Vis Sci 1999; 26: 1571-9
- Terrahe, K.: Die Drüsen der respiratorischen Nasenschleimhaut. In: Aschoff, L., Koch, W.: Veröffentlichungen aus der morphologischen Pathologie. Stuttgart, Fischer-Verl., 1970
- Torres, C., El-Naggar, A.K., Sim, S.J., Weber, R.S., Ayala, A.G.: Allergic fungal sinusitis: A clinicopathologic study of 16 cases. Hum Pathol 1996; 27: 793-9
- Urbanek, R., Wahn, U.: Allergologische Labordiagnostik. In: Wahn, U., Seeger, R., Wahn, V. (Hrsg.): Pädiatrische Allergologie und Immunologie. Stuttgart, FischerVerl., 1994

- van Cauwenberge, P.B., Ingels, K.J., Bachert, C., Wang, D.Y.: Microbiology of chronic sinusitis. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 1997; 51: 239-46
- van der Baan, B.: Epidemiology and natural history. In: Mygind, N., Lildholdt, T., eds: *Nasal Polyposis*. Copenhagen, Munksgraad 1997
- van Toorerenbergen, A.W., van Wijk, R.G., Vermeulen, A.M., Zijlstra, F.J.: Increase of albumin, eosinophil cationic protein, histamin, leukotriens and mast cell tryptase in nasal lavage fluid after challenge with inhalant allergen extract. *Agens Actions* 1992; 8: 421-4
- Venarske, D.L., de Shazo, R.D.: Sinobronchial allergic mykosis. *CHEST* 2002; 121: 1670-6
- Venge, P.: Eosinophil and neutrophil granulocytes. *Allergy* 1993; 48: 39-47
- Venge, P.: Soluble markers of allergic inflammation. *Allergy* 1994; 49: 1-8
- Walther, L.E., Sens, A., Ebhardt, H., Gudziol, H.: Die akute invasive und fulminant verlaufende Pilzsinusitis bei immunsupprimierten Patienten. *Laryngo Rhino Otol* 2001; 80: 394-9
- Wang, J.H., Davalia, J.L., Xia, C., et al. Expression of RANTES by human bronchial epithelial cells in vitro and vivo and the effect of corticosteroids. *Am J Respir Cell Biol* 1996; 14: 27-35
- Waxman, J.E., Spector, J.G., Sale, S.R., Katzenstein, A.L.: Allergic aspergillus sinusitis: concepts in diagnosis and treatment of a new clinical entity. *Laryngoscope* 1987; 97: 261-6
- Weber, A., May, A., von Ilberg, C., Klima, A.: Möglichkeiten der Nasenmuschelbehandlung im Rhamen der endonasalen Mikrochirurgie. *Laryngo Rhino Otol* 1991; 70: 487-90
- Weber, A., Schröder, U.H., May, A., von Ilberg, C., Frömter, E.: Chloridleitfähigkeit nasaler Fibroblasten von Polyposis-Patienten mit zystischer Fibrose und Patienten ohne zystische Fibrose. Relevanz für den HNO-Arzt. *HNO* 1997; 45: 695-701
- Weerda, H.: Die rhinogene Sinusitis maxillaris. *Dtsch zahnärztl Z* 1988; 43: 1233-6
- Wei, J.L., Kita, H., Sherris, D.A., Kern, E.B., Weaver, A, Ponikau, J.U.: The chemotactic behavior of eosinophils in patients with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 2003; 113: 303-7

- Weissman, D.N., Halmeपुरo, L., Salvaggio, J.E., Lehrer, S.B.: Antigenic/allergic analysis of basidiomycete cap, mycelia, and spore extracts. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1987; 84: 56-61
- Welsch, U.: *Lehrbuch Histologie*. Urban & Fischer Verlag, München, Jena, 2003
- Whitcup, S.M., Chan, C.C., Kozhich, A.T., Magone, M.T.: Blocking ICAM-1 and LFA-1 inhibits experimental allergic conjunctivitis. *Clin Immunol* 1999; 93: 107-113
- Wiegand, M.E., Steiner, W., Jaumann, M.P.: Endonasal sinus surgery with endoscopic control: from radical operation to rehabilitation of the mucosa. *Endoscopy* 1978; 10: 255-60
- Wiegand, M.E.: *Endoskopische Chirurgie der Nasennebenhöhlen und der vorderen Schädelbasis*. Thieme Verlag, Stuttgart, 1989
- Ying, S., Humbert, M., Barkans, J., Corrigan, C.J., Pfister, R., Menz, G., Larche, M., Robinson, D.S., Durham, S.R., Kay, A.B.: Expression of IL-4 and IL-5 mRNA and protein product by CD4+ and CD8+ T cells, eosinophils and mast cells in bronchial biopsies obtained from atopic and nonatopic (intrinsic) asthmatics. *J Immunol* 1997; 158: 3539-44
- Zapater, E., Armengot, M., Campos, A., Montalt, J., Pedro, F., Basterra, J.: Invasive fungal sinusitis in immunosuppressed patients. Report of three cases. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 1996; 50: 137-42
- Zinreich, S.J., Kennedy, D.W., Malat, J., Curtin, H.D., Epstein, J.I., Huff, L.C., Kumar, A.J., Johns, M.E., Rosenbaum, A.E.: Fungal sinusitis: diagnosis with CT and MR imaging. *Radiology* 1988; 169: 439-444
- Zurawski, G., de Vries, J.E.: Interleukin 13 elicits a subset of the activities of its close relative interleukin 4. *Stem Cells* 1994; 12: 169-74

10 Lebenslauf

Name: Dr. med. Groisman
Vorname: Daniel
Geburtsdatum: 23.02.1971
Geburtsort: Riga/Lettland

Beruflicher Hintergrund

- 10/03 – 12/05 Charité Berlin Campus Virchow-Klinikum, Abteilung für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Klinische Navigation und Robotik, Plastische Operationen.
Direktor: Prof. Dr. mult. h.c. J. Bier
- Assistenzarzt
- 03/02 - 10/03 Praxis Dr. F. E. Spiegelberg, Zahnarzt für Oralchirurgie
Schwerpunkt Implantologie Frankfurt am Main
- Wissenschaftlicher Mitarbeiter zum Thema: Augmentation vs. Distractionsosteogenese
- 01/01 - 10/03 Aukammklinik Klinik für operative Rheumatologie und Orthopädie GmbH Wiesbaden
- Dienstarzt
- 11/98 - 12/03 Dr. med. Dr. med. dent. W. Kater Arzt für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Praxis mit Belegabteilung im Kreiskrankenhaus Bad Homburg v.d.H.
- AIP
 - Assistenzarzt

Veröffentlichungen und Vorträge

- 05/03 Vortrag: „Transversale Distraction der Mandibula als Alternative zur Prämolarenextraktion“ 13. Symposium für ästhetisch-plastisch-rekonstruktive Gesichtschirurgie Dr. Dr. W. Kater, Arzt für MKG, Bad Homburg v.d.H.
Filmdokumentation: „Mid-sagittal splitting und transversale Distraction beim Unterkiefer-Engstand“
- 10/02 Veröffentlichung und Vortrag: „Indikationen zur Alveolarfortsatz-distraction“ 2nd European Congress of the EUROPEAN FEDERATION OF ORAL SURGERY SOCIETIES - EFOSS
Filmdokumentation: „Vertikale Distraction eines retinierten und ankylosierten Zahnes 44“ zusammen mit Dr. F. E. Spiegelberg, Zahnarzt für Oralchirurgie, Frankfurt am Main
- 01/97 - 12/97 Dozententätigkeit im Fach Allgemeinmedizin an der Altenpflegeschule im Hufeland-Haus Frankfurt a.M.

Bildungshintergrund

Schulbildung

- 1978 Einschulung in die 1. Klasse in Riga/Lettland
- 1979 Eintritt in die 2. Klasse der Goetheschule (Grundschule)
Offenbach a.M.
- 1981 - 1982 Lauterbornschule (Grundschule) Offenbach a.M.
- 1982 - 1984 Förderstufe der Edith-Stein Schule (Gesamtschule)
Offenbach a.M.
- 1984 - 1991 Albert-Schweizer Gymnasium Offenbach a.M.
- 10.06.91 Abiturprüfung

Hochschulausbildung

- 1991 - 1998 Studium der Humanmedizin an der J. W. Goethe-Universität
Frankfurt a.M.
- 1999 - 2003 Studium der Zahnmedizin an der J. W. Goethe-Universität
Frankfurt a.M.

Auslandsaufenthalte

- 03/98 - 05/98 Departement of Otolaryngology – Head and Neck Surgery am
Northwester Memorial Hospital der Northwestern University
Medical School in Chicago/USA

Promotion

- 1996 - 1998 Promotion zum „Dr. med.“ bei Herrn Priv.-Doz. Dr. Dr. R. Rahn
im Zentrum der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der J.W.
Goethe-Universität in Frankfurt a.M. Dissertationstitel:
„Vergleichende Untersuchung der antiseptischen Wirksamkeit
von Taurolidin und PVP-Jod-Lösung in vivo bei Anwendung in
der Mundhöhle“

Frankfurt, 23.01.2006

11 Danksagung

Frau OÄ Priv.-Doz. Dr. A. May¹ gilt mein besonderer Dank für die interessante Themenstellung und für ihre freundliche Unterstützung im Laufe der Arbeit. Zugleich möchte ich mich bei Frau Dufrasne² aus dem HNO-Labor für ihre geduldige Unterstützung, wertvolle Hinweise und angenehme Zusammenarbeit bedanken.

Ebenso gebührt mein herzlicher Dank Herrn Prof. Dr. A. Weber³, der durch zahlreiche Anregungen sehr zur Fertigstellung der Arbeit beigetragen hat.

Frau OÄ Dr. E. Lambrecht⁴ möchte ich für ihre wichtige fachliche Hilfe bei der Auswertung der histologischen und zytologischen Präparate sehr herzlich danken.

Mein weiterer Dank gilt Frau Dr. R. Enzensberger⁵, die den mikrobiologischen Teil betreute. Zugleich möchte ich mich bei Frau M. Parschau⁶ für ihre ausdauernde Unterstützung bei der Auswertung der mykologischen Befunden bedanken.

Herrn Dr. H. Ackermann⁷ möchte ich für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse danken.

Gleichermaßen möchte ich meiner Familie danken für ihre Ermutigung bei der Fertigstellung des Manuskripts, im Besonderen meinem Vater und meiner Mutter für ihre große Hilfe während der Durchführung und Vollendung dieser Studie. Ebenso gilt mein Dank meiner Schwester Dr. Diana Groisman, die mir bei der Durchsicht des Manuskriptes und beim Korrekturlesen geholfen hat.

¹⁺²Zentrum der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, der J.W. Goethe-Universität Frankfurt a.M.

³Klinik für Hals-Nasen-Ohrenkrankheiten, Katholisches Krankenhaus St. Josef gGmbH in Essen

⁴Senckenbergisches Institut für Pathologie, der J.W. Goethe-Universität Frankfurt a.M.

⁵⁺⁶Zentrum für Hygiene, Institut für Medizinische Mikrobiologie, der J.W. Goethe-Universität Frankfurt a.M.

⁷Zentrum für medizinische Informatik, der J.W. Goethe-Universität Frankfurt a.M.

12 Schriftliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel:

**„Überschießende Reaktion auf Pilze -
eine mögliche Genese für chronische Rhinosinuitis?
Eine histologische, zytologische und immunologische Untersuchung“**

in dem Zentrum der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde des Klinikums der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main unter Betreuung und Anleitung von Frau OÄ Priv.-Doz. Dr. A. May mit Unterstützung durch Frau OÄ Dr. E. Lambrecht aus dem Senkenbergischen Institut für Pathologie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main und Frau Dr. R. Enzensberger aus dem Zentrum der Hygiene - Institut für Medizinische Mikrobiologie - der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 23.01.2006

(Ort und Datum)

(Unterschrift)