

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten
Kopf- und Halschirurgie
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. habil. Werner Hosemann)
der Medizinischen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt-Universität
Greifswald

**Zur Alters- und Geschlechtsabhängigkeit des
sekretorischen Immunglobulin A
im Parotis-, Submandibularis- und Mischspeichel**

Inaugural – Dissertation
zur
Erlangung des akademischen
Grades
Doktor der Medizin
(Dr. med.)
der
Medizinischen Fakultät
der
Ernst-Moritz-Arndt-Universität
Greifswald
2005

vorgelegt von
Martin Roland Zimmermann
geb. am 11.07.1963
in Orsingen

Dekan: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. H.K. Kroemer

1. Gutachter: PD Dr. rer. nat. habil. P. Meyer, Greifswald

2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. B. Freigang, Magdeburg

3. Gutachter: -/-

Raum: Hörsaal HNO-Klinik, Greifswald

Tag der Disputation: Montag, 05. September 2005

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Einführung	1
1.1.1. Antikörper/Immunglobuline	1
1.1.2. Antikörperstruktur	2
1.1.3. Biologische Funktionen der Immunglobuline	2
1.1.4. Immunglobulinklassen	3
1.2. Sekretorisches Immunglobulin A	4
1.2.1. Funktionen von sIgA im Speichel	4
1.2.2. Molekülstruktur von sIgA	6
1.2.3. Sekretionsmechanismus von sIgA	7
1.2.4. Verhältnis IgA ₁ zu IgA ₂	9
1.2.5. Biliäres sIgA	9
1.2.6. Pathophysiologie bei sIgA-Mangel	10
1.3. sIgA-Konzentration bei verschiedenen Krankheiten	11
1.4. Verschiedene Einflüsse auf die sIgA-Konzentration	13
1.5. Stress und sIgA	15
1.6. Das Immunsystem der Schleimhaut	17
1.6.1. Physiologische Bedeutung der Schleimhautimmunität	17
1.6.2. Regulation der humoralen Immunantwort	18
1.6.3. „Homing“ der Lymphozyten	20
1.6.4. Orale Toleranz	21
1.7. Mundspeichel und Speicheldrüsen	23
1.7.1. Physiologische Grundlagen	23
1.7.2. Funktion und Zusammensetzung des Speichels	23
1.7.3. Regulation der Speichelsekretion	24
1.7.4. Pathophysiologie der Speicheldrüsen	25
2. Ziel der Arbeit	26
3. Material und Methoden	27
3.1. Probandenkollektiv und Gruppeneinteilung	27
3.2. Altersverteilung in den Probandengruppen	28
3.3. Speichelentnahme	28
3.4. Quantitative Bestimmung der sIgA-Konzentration	30
3.4.1. ELISA-Testprinzip	30
3.4.2. Testvorbereitung	31
3.4.3. Testdurchführung	31

4.	Ergebnisse	32
4.1.	Statistisches Verfahren	32
4.2.	Lage- & Streuungsmaße von sIgA	33
4.2.1.	Parotisspeichel	33
4.2.2.	Submandibularisspeichel	34
4.2.3.	Mischspeichel	35
4.3.	Altersabhängigkeit von sIgA	36
4.3.1.	Altersabhängigkeit sIgA, Männer	36
4.3.2.	Altersabhängigkeit sIgA, Frauen	38
4.4.	Geschlechtsabhängigkeit von sIgA	39
5.	Diskussion	42
5.1.	Diskussion der Methode	42
5.1.1.	Probandenkollektiv	42
5.1.2.	Speichelart	43
5.1.3.	Analytische Methode	44
5.1.4.	Art der Speichelgewinnung	44
5.1.5.	Zirkadiane Rhythmik	45
5.1.6.	Altersabhängigkeit der sIgA-Sekretionsrate	46
5.1.7.	Geschlechtsabhängigkeit der sIgA-Sekretionsrate	49
5.1.8.	Sekretionsraten vs. Konzentrationsangaben	49
5.1.9.	Gesamt-sIgA vs. spezifisches sIgA	50
5.2.	Diskussion der Ergebnisse	51
5.2.1.	Altersabhängigkeit von sIgA	51
5.2.2.	Geschlechtsabhängigkeit von sIgA	55
5.3.	Abschließendes Fazit	56
6.	Zusammenfassung	57
7.	Literatur	60
8.	Abkürzungsverzeichnis	76
9.	Eidesstattliche Erklärung	I
10.	Lebenslauf	II
11.	Danksagung	III

1. Einleitung

1.1. Einführung

Die Funktion des menschlichen Immunsystems besteht in der Abwehr insbesondere äußerer biologischer Einflüsse. Diese Abwehr findet sowohl in Bereichen des Körperinneren wie im Blut, als auch auf Schleimhautniveau statt.

Die Speicheldrüsen sind integriert in einem sogenannten "common mucosal immune system" (CMIS, gemeinsames Schleimhautimmunsystem), welches spezielle Abwehrmechanismen auf Schleimhautoberflächen (Konjunktiven, Nasopharynx, oberer Respirationstrakt, Lunge, Brustdrüsen, Gastrointestinal- und Urogenitaltrakt) zur Verfügung stellt (Mestecky 1993, Hein 1999).

Sekretorisches Immunglobulin A (sIgA) ist ein Antikörper (Ak), der aktiv durch Schleimhautepithelien hindurch sezerniert werden kann und deshalb in hohen Konzentrationen auf allen Schleimhautoberflächen des menschlichen Körpers zu finden ist. Aus diesem Grunde spielt sIgA eine wichtige Rolle bei der Abwehr respiratorischer und intestinaler, pathogener Keime (Abbas et al. 1996, Mestecky & Russell 1997, Lamm 1998).

1.1.1. Antikörper/Immunglobuline

Die humoralen Antikörper wandern bei der Plasmaelektrophorese mit der Fraktion der γ -Globuline und werden deshalb auch als Immunglobuline (Ig) bezeichnet. Die Biosynthese dieser Glykoproteine verläuft am endoplasmatischen Retikulum von Plasmazellen. Am Golgi-Apparat werden die Kohlenhydratanteile vervollständigt.

Anschließend wird der komplettierte Antikörper in Vesikeln gespeichert (Petrides & Ansorge 2003).

1.1.2. Antikörperstruktur

Die Grundstruktur der Immunglobuline besteht aus 4 Polypeptidketten mit jeweils 2 schweren H(heavy)-Ketten und 2 leichten L(light)-Ketten. Diese sind über Disulfidbrücken miteinander verbunden und bilden eine Y-artige Struktur. Die beiden Gabelenden des Y werden durch die N-terminalen Enden der H- und L-Ketten gebildet und stellen die spezifische bivalente Antigen-Bindungsstelle dar. Immunglobuline zerfallen durch Spaltung mit der pflanzlichen Protease Papain in 3 Proteinfragmente: die beiden Antikörperbindenden Fab-Fragmente (fragment antigen binding) sowie das Fc-Fragment (fragment crystalline), das den Stamm des Y bildet und an jedem seiner Schwereketten-Stücke ein verzweigtes Oligosaccharid trägt (Janeway et al. 2002).

1.1.3. Biologische Funktionen der Immunglobuline

Die von Plasmazellen gebildeten Antikörper tragen auf verschiedene Weise zur Immunität bei. Zum einen binden sie Krankheitserreger und verhindern dadurch deren Eintritt in Gewebe und Zellen (Neutralisierung). Zum anderen verändern sie deren Oberfläche durch Bindung an Oberflächenproteine. Dieser auch als Opsonierung bezeichnete Vorgang macht Krankheitserreger für phagozytierende Zellen kenntlich, welche die Pathogene über ihre Fc-Rezeptoren aufnehmen. Weiterhin kann durch die Antikörperbindung die Aktivierung des Komplementsystems und der antikörperabhängigen zellulären Zytotoxizität (ADCC, antibody dependent cellular cytotoxicity) induziert werden. Welcher Effektormechanismus letzt-

endlich zum Tragen kommt, wird durch die Immunglobulinklassen bzw. -Isotypen bestimmt (Petrides & Ansorge 2003).

1.1.4. Immunglobulinklassen

Die humoralen Antikörper lassen sich in 5 Klassen einteilen und werden entsprechend ihrer 2 charakteristischen H-Ketten (α -, δ -, ϵ -, γ - bzw. μ -Typ) als IgA, IgD, IgE, IgG bzw. IgM bezeichnet. In jeder der fünf Immunglobulinklassen kommen außerdem noch 2 unterschiedliche L-Ketten (κ - bzw. λ -Typ) vor. Die individuellen Strukturen in den variablen Regionen der Immunglobulinketten ergeben somit unterschiedliche Idiotypen. Insgesamt besitzt damit jedes einzelne Individuum einen eigenen spezifischen Satz an Immunglobulinen.

Immunglobuline der Klasse G werden in vier Subklassen mit jeweils unterschiedlichen Funktionen unterteilt (IgG₁-IgG₄). Ihre Halbwertszeit beträgt ca. 20 Tage. Sie neutralisieren vor allem von Bakterien gebildete Toxine und binden Mikroorganismen, so dass diese besser phagozytiert werden können. IgG ist plazentagängig, wodurch das Neugeborene während der ersten Lebenswochen geschützt ist (Leihimmunität).

Immunglobulin E (IgE) kommt in nur geringen Mengen im Blut vor. Es ist an der Abwehr von Parasiten, insbesondere Würmern beteiligt. Seine spezielle Bedeutung liegt in der Beteiligung bei Allergien vom Soforttyp (Typ I) wie Asthma bronchiale oder Heuschnupfen. Es wird gegen spezielle Allergene wie Pollen oder Hausstaub vermehrt gebildet und kann von einem spezifischen IgE-Rezeptor auf Mastzellen gebunden werden. Nach Bindung der entsprechenden Antigene an Mastzell-gebundene IgE-Moleküle kommt es zur Degranulierung der Mastzelle und damit zur Freisetzung von vasoaktiven Aminen, Prostaglandinen und Leukotrienen. Eine starke Mastzelldegranulierung kann zum anaphylaktischen Schock führen.

Immunglobulin M (IgM) liegt im Plasma als Pentamer vor. Seine Halbwertszeit beträgt 5-6 Tage. IgM ist der stärkste Aktivator des Komplementsystems. IgM agglutiniert sehr stark, bindet bevorzugt polymere Antigene und ist diejenige Immunglobulinklasse, die nach Primärkontakt mit einem Antigen als erste gebildet wird.

Über die Funktion des im Plasma in nur sehr geringer Konzentration nachweisbaren Immunglobulin D (IgD) ist im allgemeinen noch wenig bekannt.

Immunglobulin A (IgA) ist das mengenmäßig am häufigsten produzierte Immunglobulin. Es existieren zwei Subklassen, IgA₁ und IgA₂. Allerdings gelangt nur ein kleiner Teil, hauptsächlich als monomeres IgA, in das Blut. Im Speichel, in Tränen und Nasalflüssigkeit, im Schweiß, in der Kolostralmilch sowie in den Sekreten der Lungen und des Gastrointestinaltraktes ist es überwiegend als Dimer zu finden. Die Halbwertszeit beträgt 5-6 Tage (Janeway et al. 2002, Petrides & Ansorge 2003).

1.2 Sekretorisches Immunglobulin A

1.2.1 Funktionen von sIgA im Speichel

Das im Speichel vorherrschende Immunglobulin ist das sekretorische IgA, welches von Plasmazellen innerhalb der Lamina propria in den Speicheldrüsen produziert wird (Corthesy & Kraehenbuhl 1999). Dabei sind die Zellen in der Glandula parotis verantwortlich für die Mehrzahl der im Speichel zu findenden IgA-Antikörper (Nair & Schroeder 1986), obwohl auch die kleinen Speicheldrüsen zur sIgA-vermittelten Immunität in der Mundhöhle beitragen (Crawford et al. 1975, Smith et al. 1991). SIgA bildet den wichtigsten spezifischen Immunabwehrmechanismus im Speichel und trägt durch Behinderung der Adhärenz von Bakterien an die orale Mukosa und an die Zähne zur

Kontrolle der Mundflora bzw. zur Aufrechterhaltung der Homöostase in der Mundhöhle bei (Mandel 1989, Marcotte & Lavoie 1998).

Wie ein Schutzfilm überzieht sIgA in Form eines „antiseptic paint“ (antiseptischen Anstrichs) alle Schleimhautoberflächen. Das sezernierte sIgA bindet an die Schleimschicht über dem Darmepithel, wo es sich an Darmpathogene und deren toxische Produkte heften und diese neutralisieren kann. Es bildet Immunkomplexe mit Antigenen und verhindert somit deren Aufnahme in den Organismus. Damit wird die Kolonisation und Penetration von Bakterien und Viren unterbunden und deren Abtransport verbessert (Norhagen et al. 1990). Dadurch dass sIgA die Bindung von Mikroorganismen an die Schleimhautoberfläche behindert, macht es diese angreifbar für die ebenfalls zum antimikrobiellen Schutzsystem zählenden unspezifischen Abwehrmechanismen der Schleimhaut wie Lysozym, Speichel-Peroxidase, Lactoferrin und α -Lactalbumin (Rudney 1989, Mestecky & Russell 1997, Corthesy & Kraehenbuhl 1999).

Kaetzel et al. (1991) beschrieben einen Transport von sIgA-gebundenen Immunkomplexen, die in gleichem Maße über die Membranrezeptoren der Schleimhaut ausgeschleust werden wie das freie sIgA. Gauldie et al. (1983) und Fanger et al. (1983) konnten eine Rezeptorregion an peripheren und an Alveolarmakrophagen sowie an Lymphozyten und Neutrophilen nachweisen, die spezifisch für die Fc-Region des sIgA-Moleküls ist. Über diese Rezeptoren konnte in vitro eine ADCC der sIgA-sensibilisierten Zielzellen ausgelöst werden. Außerdem zeigt sIgA eine komplementunabhängige neutralisierende Aktivität gegen viele respiratorische Viren. Zur klassischen Komplementaktivierung ist es jedoch nicht befähigt. Die Konkurrenz mit IgG um ein Antigen führt eher zur indirekten Hemmung der Komplementaktivierung. Dies wiederum hat zur Folge, dass sIgA nur eine geringe phlogistische Potenz besitzt und somit keine entzündlichen Schleimhautläsionen bewirkt (Russell et al. 1989).

Das sekretorische IgA stellt somit eine erste Barriere im Rahmen der menschlichen Immunabwehr, die „Immunexklusion“, dar. Verstärkt wird diese Wirkung durch die hohe Proteaseresistenz, insbesondere von sIgA₂ (Kobayashi et al. 1987, Turner & Owen 1995).

1.2.2. Molekülstruktur von sIgA

Sekretorisches IgA hat ein Molekulargewicht von 390 kDa mit einer Sedimentationskonstante von 11S (Svedberg). Jedes Molekül besteht aus 2 Viererketten mit jeweils zwei schweren α - sowie zwei leichten κ - oder λ -Ketten mit wiederum zwei Antigenbindungsstellen, einer sekretorischen Komponente (secretory component, SC) und einer Verbindungskette (J-Kette / joining chain, JC) (*Abbildung 1.1.*).

Die SC hat ein Molekulargewicht von ca. 70 kDa und schlingt sich um das IgA-Dimer, wobei sie durch Disulfidbindungen an die C _{α} 2-Domäne der IgA-Monomere angeheftet ist. Sie ist für den Transport durch die Epithelzellen verantwortlich und schützt das Immunglobulin zusätzlich vor proteolytischen Angriffen in sekretorischen Flüssigkeiten (Turner & Owen 1995). Die JC besitzt ein Molekulargewicht von ca. 15 kDa. Diese verleiht dem Molekül seine dimere Struktur, indem sie die beiden Monomere über die C _{α} 3-Domäne verbindet (Koshland 1985).

IgA besitzt eine spezielle Verlängerung des C-Terminals, die ein zusätzliches Cystein beinhaltet. Diese kann die Verbindung der Monomere unterstützen. Als Endprodukt entsteht hauptsächlich dimeres IgA, selten entstehen auch Trimere und Tetramere (Radl et al. 1974). Die Polymerisation ist für den Transport über die Schleimhaut wichtig. Sie steigert die Bindungsstärke zum Antigen und erhöht ebenfalls die Resistenz gegenüber dem proteolytischen Abbau (Underdown & Dorrington 1974).

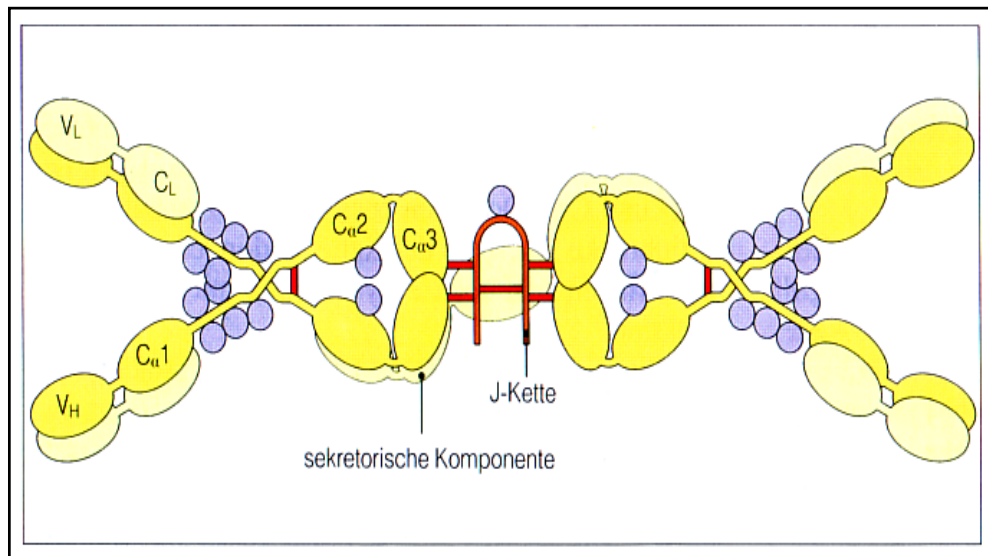


Abbildung 1.1.: Struktur des sekretorischen IgA (aus Turner & Owen 1995)

1.2.3. Sekretionsmechanismus von sIgA

Die Epithelzellen der Mukosa bilden eine Barriere zwischen der Lamina propria und der luminalen Schleimhautoberfläche. Deshalb ist ein spezieller Transportmechanismus nötig, durch den das dimere Immunglobulin A (dIgA) selektiv diese Barriere überwinden kann (Abbildung 1.2.).

Die von Plasmazellen der Lamina propria gebildeten dimeren IgA-Antikörper diffundieren durch die Basalmembran und bilden zunächst einen kovalenten Komplex mit dem Rezeptor für polymere Immunglobuline (pIgR), der auf der basolateralen Seite der Mukosaepithelzelle exprimiert wird (Mostov & Blobel 1982). Der pIgR ist ein etwa 100 kDa schweres Glykoprotein mit fünf extrazellulären Domänen und gehört zur Ig-Superfamilie.

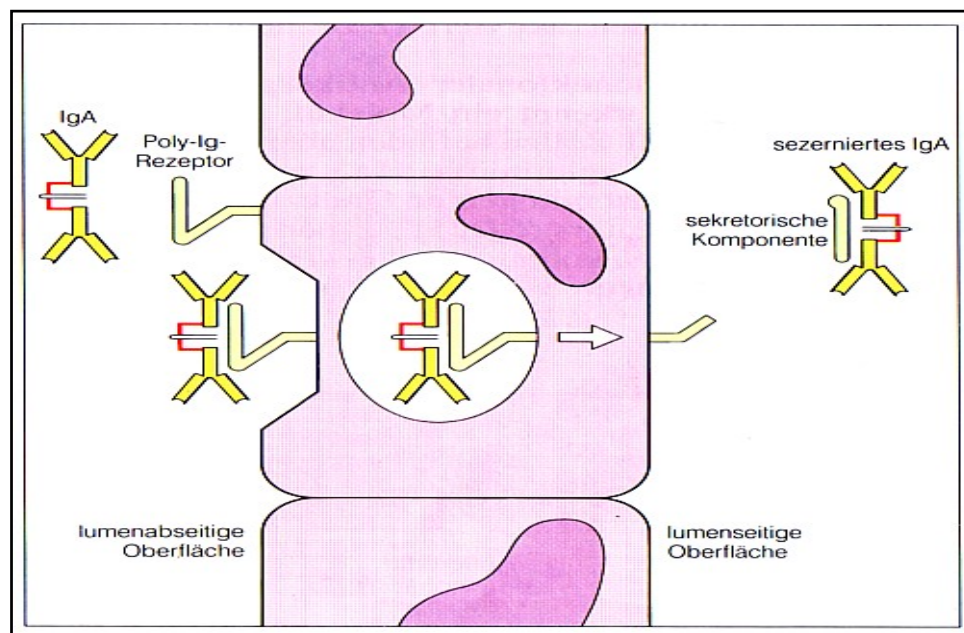


Abbildung 1.2.: Transport von sIgA durch das Schleimhautepithel (aus Lydyard & Grossi 1995)

Nach Internalisierung des dIgA/pIgR-Komplexes und Bildung eines Endosoms wird dieser per Transzytose zur apikalen Seite der Epithelzelle befördert (Mostov et al. 1984). Durch eine ausreichend hohe Affinität zwischen dIgA und dem pIgR ist gewährleistet, dass die Verbindung während des Transportes durch die Schleimhaut nicht getrennt wird (Lindh & Bjork 1977). Sobald der Komplex die luminaire Oberfläche der Enterozyten bzw. der duktafen und azinären Speicheldrüsenepithelzellen erreicht hat, wird er proteolytisch gespalten. Dabei verbleiben die transmembranäre und die zytoplasmatische Domäne des pIgR an den Epithelzellen. Die extrazelluläre Domäne des pIgR wird als sekretorische Komponente, nun verbunden mit dem dIgA-Molekül als sekretorisches IgA (Mostov 1994) oder aber als freie SC (Brandtzaeg 1995) in die Sekrete abgegeben. Der genaue Mechanismus der Abspaltung und der Verbleib der transmembranären und zytoplasmatischen Domäne sind gegenwärtig noch ungeklärt. Bei der Abspaltung des SC-Fragmentes vom pIgR erfolgt gleichzeitig eine terminale Glykosylierung, wobei

die Quartärstruktur des sIgA-Moleküls entsteht. Diese wird vor allem durch sekundäre nichtkovalente Interaktionen stabilisiert (Seyfarth & Herbst 1996).

Dieser Transportmechanismus ist verantwortlich für die Sekretion des sIgA in den Gastrointestinaltrakt, den Respirationstrakt, die Galle, den Urogenitaltrakt, die Muttermilch, die Tränenflüssigkeit und in den Speichel (Brandtzaeg 1995).

1.2.4. Verhältnis IgA₁ zu IgA₂

Beim Menschen existieren die beiden Subklassen IgA₁ und IgA₂ (Tabelle 1.1.). Im Blut kommt IgA vor allem als Monomer vor, das Verhältnis von IgA₁ zu IgA₂ beträgt hier etwa 4:1. In den Schleimhautsekreten ist fast ausschließlich dimeres sIgA zu finden, das Verhältnis sIgA₁ zu sIgA₂ beträgt dort etwa 3:2. Im Speichel liegt der relative Anteil des sIgA₂ höher als in anderen Sekreten (Mestecky & Russell 1986, Lenander-Lumikari & Loimaranta 2000).

	IgA₁	IgA₂
Serumkonzentration (IgA)	1,8 g/l (75-95%)	0,2 g/l (5-25%)
Sekretkonzentration (sIgA)	50-70%	30-50%
Vorwiegende Produktionsorte	Knochenmark, BALT, Milz, Kopfspeicheldrüsen, Lymphknoten, etc.	Peyer-Plaques, GALT, Mammae, Kopfspeicheldrüsen, etc.
Protease-Resistenz	gering	hoch

Tabelle 1.1.: Vergleich IgA₁ und IgA₂ (nach Mestecky & Russell 1986)

1.2.5. Biliäres sIgA

Ein Teil des auf der Darmschleimhaut befindlichen sIgA wird rückresorbiert und gelangt über den enterohepatischen Kreislauf in die Gallenflüssigkeit. Jedoch können außer den Schleimhautepithelien

auch die Hepatozyten SC bilden und an der sinusoidalen Plasmamembran exprimieren. Dimeres IgA aus dem Serum dient hier als Ligand. Der Transportmechanismus für dieses biliäre sIgA verläuft nach den gleichen Prozessen wie in der Schleimhaut, und die Abgabe des sIgA erfolgt in die Gallengänge. Obstruktive Gallenwegsveränderungen können zwar zu einem Anstieg der sIgA Konzentration im Serum führen, dennoch hat beim Menschen diese biliäre sIgA-Bildung nur eine untergeordnete Bedeutung (Seyfarth & Herbst 1996).

1.2.6. Pathophysiologie bei sIgA-Mangel

Der selektive IgA-Mangel ist der am häufigsten auftretende humorale Immundefekt. Er ist charakterisiert durch ein sehr niedriges ($<0,3$ g/l) oder gar fehlendes Serum-IgA ($<0,1$ g/l) bei gleichzeitig nicht nachweisbarem sIgA. Die Konzentrationen von IgG und IgM liegen jedoch im Normbereich. Die meisten Fälle von selektivem IgA-Mangel treten sporadisch auf. Es gibt jedoch auch familiäre Häufungen, wobei in diesen Familien auch andere primäre Immundefekte vermehrt beobachtet werden. Meist ist die IgA₁-Subklasse betroffen. Bei der selektiven IgA-Defizienz ist die sekretorische Komponente in den Mukosazellen nachweisbar. Allerdings kann auch eine insuffiziente Produktion der SC zu vermindertem sIgA bei normalem Serum-IgA führen (Depreval et al. 1989).

Die häufigsten Manifestationen des sIgA-Mangels sind Infektionen des oberen Respirationstraktes (URTI, upper respiratory tract infection), gastrointestinale Beschwerden, allergische Erscheinungen, Neoplasien und andere Immundefektsyndrome. Eine kausale Therapie ist nicht bekannt. Bei gleichzeitigem IgG-Subklassendefekt kann eine Substitutionstherapie versucht werden. Beim selektiven IgA-Mangel ist sie wegen der Gefahr eines anaphylaktischen Schocks kontraindiziert (Peter 1996).

1.3. sIgA-Konzentrationen bei verschiedenen Krankheiten

Nachfolgend wird insbesondere auf Veränderungen der sIgA-Konzentrationen im Zusammenhang mit HIV-Infektionen sowie mit der in der Bevölkerung weit verbreiteten Karies eingegangen. Andere diverse Krankheitsbilder sollen hier nur tabellarisch aufgeführt werden (Tabelle 1.2.).

Krankheitsbild	[sIgA]	Literaturnachweis
Sjögren-Syndrom	↑ ↑	Levy et al. 1994 Elkon 1997
Zoeliakie, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa	↔	Warner et al. 1999
IgA-Nephropathie	↑	Yasumori 1990
Rezidivierende Infektionen des Mund- u. Rachenbereiches	↓ ↓	Calvo et al. 1988 Norrby 1993
Allergisches Bronchialasthma	↓	Calvo et al. 1988
Nach Tonsillektomie	↔	Childers et al. 2001
Diabetes mellitus Typ 2 Diabetes mellitus Typ 1 & 2 Diabetes mellitus Typ 2	↑ ↑ ↑	Anil et al. 1995 Yavuzylmaz et al. 1996 Dodds et al. 2000
Mukoviszidose	↓	Wallwork & McFarlane 1976
Psoriasis	↔	Gasior-Chrzan & Falk 1992
Orales Plattenepithelkarzinom	↑	Sato 1991
HIV – Infektion	↓ ↑ ↑	Sweet et al. 1995 Raux et al. 1999 Wu & Jackson 2002

Tabelle 1.2.: Verschiedene Krankheitsbilder und Veränderungen sIgA-Konzentrationen (↑ = erhöht, ↓ = erniedrigt)

- HIV und sIgA

Insbesondere bei HIV-Patienten werden häufig orale Infektionen diagnostiziert, was auf Defekte in der mukosalen Immunabwehr hinweist. Die Mechanismen, die zu dieser Beeinträchtigung der oralen Schleimhautimmunität bei HIV-Infektionen führen, sind weiterhin nur unvollständig aufgeklärt, und es gibt konträre Angaben über Veränderungen der sIgA-Konzentrationen. Wiederholt wurde über reduzierte unspezifische sIgA-Spiegel im Speichel berichtet (Müller et al. 1991, Sweet et al. 1995). Müller et al. (1992) ermittelten parallel zu den deutlich reduzierten sIgA-Werten zusätzlich signifikant verminderte Lactoferrinspiegel im Parotisspeichel HIV-positiver Personen.

Neuere Studien berichten über ansteigende Konzentrationen beider sIgA-Subklassen im Speichel von HIV-infizierten Personen (Grimoud et al. 1998, Raux et al. 1999). Wu & Jackson (2002) ermittelten signifikant erhöhte Gesamt-sIgA-Spiegel im Vergleich zu nichtinfizierten Personen. Bei Patienten mit oraler Manifestation der HIV-Infektion lagen die Werte am höchsten. Bei ungefähr zwei Drittel der HIV-1-Infizierten konnte HIV-spezifisches sIgA im Speichel nachgewiesen werden. Das Ausmaß dieser HIV-spezifischen Antikörper korrelierte jedoch nicht mit den Gesamt-sIgA-Spiegeln.

- Karies und sIgA

Schon eine frühe Studie von Lehner et al. (1967) zeigte bei Patienten mit Karies signifikant geringere Gesamt-sIgA-Konzentrationen als bei Gesunden, während die Serumkonzentrationen von monomerem IgA eher erhöht waren. Diese Resultate werden mittlerweile konträr diskutiert, da über eine hohe, niedrige oder auch fehlende Korrelation zwischen IgA-Defizienz und Kariesempfindlichkeit berichtet wurde (Lenander-Lumikari & Loimaranta 2000). Es wurden auch kompensations-

torisch ansteigende Werte anderer antimikrobieller Faktoren wie Lysozym oder Speichel-Peroxidase beschrieben (Tenovuo 1998).

Als pathogenetischer Faktor der Kariesentstehung wird in erster Linie *Streptococcus mutans* herangezogen. Bei den meisten Kindern über drei Jahren kann im Speichel spezifisches sIgA gegen diesen Erreger nachgewiesen werden, wobei die Konzentration mit zunehmender Expositionsdauer steigt (Smith & Taubman 1992). Es sollen jedoch auch Teile des nachgewiesenen sIgA gegen *Streptococcus mutans* aufgrund einer Kreuzreaktivität mit Antigenen anderer Bakterien gebildet werden (Kirstilä et al. 1998).

1.4. Verschiedene Einflüsse auf die sIgA-Konzentration

Verschiedene Einflüsse auf die sIgA-Konzentration sind bereits in diversen Studien untersucht worden. Kauen zum Beispiel soll nicht nur den Speichelfluss fördern, sondern offensichtlich auch die Transzytose von dimerem IgA durch die Epithelzellen der Speicheldrüsen stimulieren und somit die Sekretion von sIgA erhöhen (Proctor & Carpenter 2001).

Rantonen & Meurman (2000) ermittelten eine positive Korrelation zwischen sIgA und dem Gesamtprotein im Ruhespeichel. Dies galt allerdings nicht für den Reizspeichel, da unter Stimulation zwar der sIgA-Spiegel sank, die Gesamtproteinkonzentration dagegen unverändert blieb oder sich erhöht zeigte.

Auch während der Schwangerschaft können die sIgA-Konzentrationen erhöht sein (Widerström & Bratthall 1984), allerdings wurden perinatal und während des Geburtsvorganges auch verringerte Werte beobachtet (Annie & Groer 1991).

Bei verschiedenen Tierstämmen stimulieren Androgene offensichtlich sowohl die Synthese der sekretorischen Komponente als

auch die Produktion von IgA. Im Tierversuch wurden bei Ratten nach Testosterongabe höhere IgA-Konzentrationen in der Tränenflüssigkeit und eine entsprechende Abnahme nach Kastration (Sullivan & Allansmith 1985) ermittelt. Es wurde darauf hingewiesen, dass nur Testosteron die sIgA-Konzentration stimulierte und andere nichtandrogene Steroidhormone keinen Effekt auslösten. Weitere getestete Hormone wie Prolaktin, Wachstumshormon und α -Melanozyten stimulierendes Hormon (α -MSH) hatten ebenfalls keinen Einfluß auf die sIgA-Konzentration. Sullivan & Allansmith (1987) konnten in einer weiteren Arbeit ihre Hypothese, dass die Gabe von Östradiol und Progesteron zur Inhibition der sIgA-Produktion führt, nicht aufrechterhalten. Andererseits stellten Stern et al. (1992) fest, dass bei Männern die sIgA-Konzentrationen im Genitaltrakt und in der Prostata nach Östrogengaben anstiegen.

Nach Gabe von Dexamethason wurden signifikante, dosisabhängige Anstiege von monomerem IgA im Blut, hingegen deutliche Abfälle von sIgA im Speichel und in Vaginalsekreten beobachtet (Wira & Rossoll 1991). Dagegen hatten Kugler et al. (1992) für Cortisol und sIgA keine statistischen Zusammenhänge ermittelt. Jasnoski & Kugler (1987) konnten eine negative Korrelation zwischen im Speichel gemessenen Noradrenalin- und sIgA-Konzentrationen aufzeigen. Martin & Dobbin (1988) zufolge sind auch die Serumspiegel von Adrenalin und Noradrenalin negativ mit sIgA-Werten korreliert.

Freier et al. (1987) hatten publiziert, dass nach Gabe von Substanz P ein Anstieg der Immunglobulinkonzentrationen in den Peyer Plaques um über 700% zu verzeichnen war, und dass VIP (vasoaktives intestinales Peptid) nur einen geringen Einfluss auf die IgA-Produktion hatte. Die Applikation von IFN- γ (Interferon-gamma) bei Ratten führte in einer Studie von Prabhala & Wira (1991) zu deutlichen Anstiegen von sIgA und SC.

Streckfus et al. (1991) ermittelten stark erniedrigte sIgA-Spiegel im Parotisspeichel von Patienten, die antihypertensive Medikamente einnahmen. Kelleher et al. (1991) konnten zeigen, dass das Anticholinergikum Carbachol über die Veränderung von intrazellulärem cAMP (cyclic adenosine monophosphate) die Sekretion von SC und sIgA reduziert.

1.5. Stress und sIgA

Einige der zur Verfügung stehenden Studien beschäftigten sich mit dem Einfluss von physischem und psychischem Stress auf die sIgA-Konzentration. Beispielsweise wurde aufgrund der Hypothese, dass Hochleistungssportler häufiger unter Infektionen des oberen Respirationstraktes (URTI) leiden, der Frage nachgegangen, welchen Einfluss die extreme physische Belastung auf die sekretorische Immunantwort ausübt. Bei acht getesteten Profi-Radrennfahrern fanden sich unmittelbar nach einer zweistündigen Belastungsphase signifikant erniedrigte sIgA-Konzentrationen im Speichel. Diese stiegen zwar eine Stunde später wieder an, erreichten aber erst nach 24 Stunden die Konzentrationen der Ausgangswerte (Mackinnon et al. 1987). Es könnte also gerade in dieser 24-stündigen Suppression der sIgA-Konzentrationen das Risiko einer Mund-, Rachenrauminfektion erhöht sein. Diese Angaben wurden durch Studien von Pedersen & Toft (2000) und Pyne et al. (2001) bestätigt. Diese Autoren berichteten ebenfalls, dass intensives Hochleistungstraining zu einer Suppression von sIgA im Speichel von jungen Elitesportlern führt.

Regelmäßige leichte Trainingseinheiten hingegen bieten bei gering bis signifikant erhöhten sIgA-Spiegeln in allen Altersgruppen einen gewissen Schutz gegen URTI. Akimoto et al. (2003) berichteten, dass die sIgA-Konzentrationen bei einer Probanden-

gruppe mit einem Durchschnittsalter von 65 Jahren nach einem 12-monatigen, moderaten Kraft- und Ausdauertraining von jeweils 60 Minuten pro Woche signifikant anstiegen gegenüber den Ausgangswerten vor Beginn der Übungen.

Auch starker beruflicher Leistungsdruck sowie psychosoziale Spannungssituationen wie Examensstress oder Partnerverlust können über die Reduktion der sIgA-Spiegel zur Schwächung des Schleimhautimmunsystems und zu erhöhter Infektionsneigung führen (Cohen et al. 1991, Deinzer & Schüller 1998, Bosch et al. 2002). Beispielsweise waren die psychische Anspannung bei Bundesliga-Fußballtrainern im Verlauf eines spannenden Fußballspieles (Kugler et al. 1996) und die mentale Belastung bei Fluglotsen während einer 100-minütigen Arbeitseinheit (Zeier et al. 1996) mit einem Anstieg der sIgA-Konzentrationen verbunden.

Während akute Stresssituationen wie z.B. schriftliche oder mündliche Examina (Spangler 1997, Bosch et al. 2002) oder die Präsentationen einer Seminararbeit (Bristow et al. 1997) zu einer Erhöhung des sIgA-Spiegels führen, ist der verzögerte Stresseffekt einige Tage nach der Stresssituation mit erniedrigten sIgA-Werten assoziiert (Tsujiita & Morimoto 1999). Niedrige sIgA-Spiegel finden sich auch im Verlauf von längeranhaltendem Examensstress bei Studenten (Jemmott et al. 1983, Jemmott & Magloire 1988, Deinzer et al. 2000, Lowe et al. 2000, Otsuki et al. 2004).

Dagegen resultieren tägliche Entspannungsübungen in einer Erhöhung der sIgA-Konzentration (Green & Green 1987, Hodel & Grob 1993, Van Rood et al. 1993). In Studien über den therapeutischen Effekt der progressiven Muskelrelaxation wurde über gestiegene sIgA-Werte bei Kindern (Hewson-Bower & Drummond 1996) und Studenten (Lowe et al. 2001), die zuvor häufig an Erkältungskrankheiten litten, sowie bei chemotherapierten Patientinnen mit Mammakarzinom (Walker et al. 1999) berichtet.

1.6. Das Immunsystem der Schleimhaut

1.6.1. Physiologische Bedeutung der Schleimhautimmunität

Schleimhäute bilden die inneren Grenzflächen des Individuums zu seiner Umwelt und stellen aus immunologischer Sicht eine wichtige erste Verteidigungslinie, „first line of defense“ dar (Abbas et al. 1996). Die Schleimhautareale, zu denen neben dem Verdauungstrakt auch die Atemwege, Teile des Urogenitaltraktes und die Bindehäute gehören, umfassen eine Gesamtfläche von rund 300 m², während die Hautoberfläche lediglich etwa 2 m² beträgt (Seyfarth & Herbst 1996).

Die spezifischen Abwehrleistungen sämtlicher Schleimhäute unterliegen einheitlichen Mechanismen, so dass unter immunologischen Gesichtspunkten alle Schleimhautbereiche zu einem gemeinsamen Schleimhautimmunsystem (CMIS) zusammengefasst werden können. Morphologisch wird dieses Immunsystem vom schleimhautassoziierten lymphatischen Gewebe (MALT, mucosa-associated lymphoid tissue) repräsentiert. Das MALT zählt zu den sekundären lymphatischen Organen. Es besitzt die Fähigkeit zur humoralen Immunabwehr mit Hilfe von sekretorischen Antikörpern, insbesondere von sIgA und schützt dadurch den Organismus vor Pathogenen bzw. Infektionen (Hein 1999).

Bezogen auf die gesamte Schleimhautoberfläche des Organismus stellt das Immunsystem des Darmtraktes (GALT, gut-associated lymphoid tissue) mit einer Gesamtfläche von über 200 m² den bedeutendsten Abschnitt des MALT dar, gefolgt vom respiratorischen Immunsystem (BALT, bronchus-associated lymphoid tissue) mit einer Oberfläche von etwa 80 m². Die Anzahl der Antikörper-produzierenden Zellen des mukosalen Immunsystems wird auf 70-80% der Gesamtzahl der Ig-bildenden Zellen eines Individuums geschätzt. Mit einer täglichen Menge von etwa 40 mg/kg Körpergewicht wird mehr IgA in das Darmlumen sezerniert als der

Gesamtproduktionsmenge von 30 mg/kg Körpergewicht IgG pro Tag entspricht (Brandtzaeg et al. 1989).

Obwohl die Luftwege die wichtigste Eintrittspforte für Antigene darstellen, beruhen doch wesentliche Erkenntnisse über die Funktion des MALT auf Untersuchungen des intestinalen Immunsystems. Sie können aber im allgemeinen auf die übrigen Schleimhautregionen, so auch auf die Mund- und Kopfspeicheldrüsen (DALM, duct-associated lymphoid tissue), übertragen werden (Nair & Schroeder 1986).

1.6.2. Regulation der humoralen Immunantwort

Die Immunantwort des GALT wird hauptsächlich im Bereich der Peyer-Plaques und der solitären Lymphfollikel initiiert. Das über diesen Peyer-Plaques liegende Follikel-assoziierte Epithel (FAE) ist darauf spezialisiert, Antigene in das lymphatische Gewebe hineinzulassen. Diese besondere Aufgabe wird von epithelialen Zellen übernommen, die in das FAE eingestreut sind und wegen der zahlreichen Mikroeinstülpungen auf ihrer luminalen Oberfläche als M-Zellen (Mikrofalt-Zellen / microfold cells) bezeichnet werden (Neutra et al. 1996). Diese M-Zellen sind zur Transzytose von Antigenen fähig. Intraepitheliale Lymphozyten können sich aufgrund basaler Einstülpungen des Zytoplasmas der M-Zellen, dem Darmlumen bis auf 0,3 μm nähern (Mowat & Viney 1997). Die aufgenommenen Antigene können in subepithelial gelegenen Makrophagen und dendritischen Zellen prozessiert und T-Zellen präsentiert werden (Hein 1999, Neutra 1999).

In den Lymphfollikeln der Peyer-Plaques kommt es nach Antigenkontakt zur Bildung von reifen B-Zellen, die überwiegend Oberflächen-IgA exprimieren. Die in den Peyer-Plaques stimulierten B-Zellen wandern im Sinne eines schleimhautspezifischen „Homing“ (s.u.) über Lymphbahnen und Blutzirkulation größtenteils wieder in den Intestinaltrakt, wo sie sich in der Lamina propria ansiedeln.

In die Lamina propria eingewanderte T-Zellen, die überwiegend der CD4⁺-T-Helferzellpopulation angehören, bewirken die Umschaltung der B-Zellen von der IgM- auf die IgA-Expression. Sie stellen bestimmte Zytokine bereit, welche die Differenzierung und Reifung der B-Zellen zu IgA-produzierenden Plasmazellen regulieren.

IL-4 (Interleukin-4) und TGF- β (transforming growth factor- β) sind am Immunglobulin-Switch von Oberflächen-IgM-positiven B-Zellen zur Expression von IgA beteiligt. TGF- β spielt hierbei eine zentrale Rolle (Defrance et al. 1992, van Vlasselaer et al. 1992). Er ist jedoch auch bei den Mechanismen der „oralen Toleranz“ (s.u.) von Bedeutung (Weiner 1997, Strobel & Mowat 1998, Czerkinsky et al. 1999). IL-2, IL-5, IL-6 und IL-10 sind in der darauf folgenden terminalen Differenzierung der IgA-positiven B-Zellen in IgA-sezernierende Plasmazellen involviert. Diese Zytokine werden wie oben erwähnt hauptsächlich durch die T-Helfer-Zellen bereitgestellt. Die Produktion von IL-6, TGF- β und anderen Zytokinen ist aber auch durch Schleimhautepithelien möglich. Folge von lokalen Infektionen ist die „Up-Regulation“ der IL-6-Synthese durch lokale Epithelzellen und weniger durch T-Zellen (Mestecky 1993).

Auch der Transportmechanismus polymerer Immunglobuline mit Hilfe der sekretorischen Komponente wird offensichtlich von der Wirkung aktivierender T-Zellen und Makrophagen beeinflusst, wobei IFN- γ und TNF- α (Tumornekrosefaktor-alpha) an der Regulation der SC-Expression und an der Produktion von IgA beteiligt sind (Brandtzaeg et al. 1998).

Um das Eindringen pathogener Erreger zu verhindern, wird die Antikörperproduktion nach dem Prinzip der Immunexklusion solange aufrechterhalten, bis alles Antigen gebunden ist (Buts et al. 1990). Das mukosale Immunsystem ruft somit eine lokal begrenzte Immunreaktion hervor, um eine belastendere systemische Reaktion zu verhindern. Wenn das Pathogen dennoch die Schleimhautschanke

durchdringt und das Schleimhautimmunsystem als „first line of defense“ versagt, wird im Rahmen der Immunelimination die systemische Immunantwort mit den üblichen Abwehrmechanismen wie IgG-Produktion oder NK-Zellaktivierung (Natürliche Killerzellen) in Gang gesetzt (Brandtzaeg et al. 1998).

Die Entscheidung, welche IgA-Subklasse gebildet wird, erfolgt lokal. Im GALT erfolgt die Umschaltung vor allem auf α_2 , im Bereich des BALT vorzugsweise auf α_1 . In Speichel- und Brustdrüsen kommen IgA₁- und IgA₂-produzierende Zellen annähernd gleich häufig vor (Bjerke & Brandtzaeg 1990).

1.6.3. „Homing“ der Lymphozyten

Die meisten der lokalen B-Lymphozyten verlassen ihren ursprünglichen Platz im MALT unmittelbar nach ihrer antigenen Stimulation und spezifischen Prägung (Bjerke & Brandtzaeg 1990). Sie wandern über das regionale Lymphsystem und durch den Ductus thoracicus in die großen sekundären lymphatischen Organe wie Milz und Tonsillen, wo sie ihre Signale zur weiteren Differenzierung erhalten. Danach kehren die meisten dieser B-Lymphozyten über den Blutstrom zurück an ihren Ursprungsort, einige wandern auch in andere Schleimhautregionen. Dieses schleimhautspezifische „Homing“ führt nachfolgend zur Bildung von spezifischen sekretorischen Antikörpern. Dies geschieht auch in Abschnitten des MALT, die vorher mit dem speziellen Antigen keinen Kontakt hatten, wie etwa Kopfspeicheldrüsen oder Brustdrüsen. Dadurch können z.B. bei einer stillenden Mutter spezifische Antikörper in den Mammae auftreten, was beim Neugeborenen zu einer Leihimmunität führt (Brandtzaeg et al. 1999).

Eine Vielzahl von Adhäsionsmolekülen (sog. Integrine), die den Kontakt zwischen Lymphozyten und ihren Zielzellen herstellen, sind an der Regulation des „Homing“ beteiligt (Madri & Graesser 2000).

1.6.4. Orale Toleranz

Das intakte Immunsystem der Schleimhaut gewährleistet, dass pathogene Erreger in Schranken gehalten bzw. eliminiert werden. Andererseits dringen über Schleimhautoberflächen inerte Proteine wie Nahrungsmittel- oder Pollenantigene in den Körper, bei denen beim Gesunden physiologischerweise die Immunantwort mit der entsprechenden Entzündungsreaktion ausbleibt. Dieses Phänomen wird als „orale Toleranz“ bezeichnet (Weiner 1997, Strobel & Mowat 1998, Czerkinsky et al. 1999). Es laufen unterschiedliche, sogenannte immunregulatorische Vorgänge ab, welche an T-Zell-vermittelte Prozesse geknüpft und von der Antigenose abhängig sind.

Einerseits beruht die Toleranz auf der Induktion von $CD4^+$ - TH_2 -Zellen im MALT. Diese Zellen wirken über die Expression von IL-4 und IL-10 suppressiv. Sie migrieren auch zu anderen lymphoiden Organen. Vermutlich werden über ihre Stimulation und die Freisetzung von IL-4 bzw. IL-10 auch andere antigenvermittelte Mechanismen supprimiert (sog. „Bystander“-Suppression).

Andererseits werden bei geringer Antigenbelastung, was der normalen Situation am ehesten entspricht, nach Antigenpräsentation durch klassische, mit dem lymphatischen Gewebe assoziierte antigenpräsentierende Zellen (APC, antigen-presenting cells) antigenspezifische regulatorische $CD8^+$ -T-Zellen stimuliert, die TGF- β freisetzen.

Dieses Zytokin nimmt eine zentrale Stellung hinsichtlich Schutz und Toleranz im mukosalen Immunsystem ein (*Abbildung 1.3.*). Neben seiner Aufgabe als „IgA-switch factor“ für mukosaassoziierte B-Zellen (Defrance et al. 1992, van Vlasselaer et al. 1992) verhindert TGF- β gleichzeitig eine überschießende antigenvermittelte Aktivierung von $CD4^+$ -T-Zellen in der Lamina propria (Seyfarth & Herbst 1996, Weiner 1997).

1.7. Mundspeichel und Speicheldrüsen

1.7.1. Physiologische Grundlagen

Der Mundspeichel wird in einer Tagesmenge von ca. 0,5-1,5 Liter durch die drei paarig angelegten großen Kopfspeicheldrüsen, Glandula parotis, Gl. submandibularis und Gl. sublingualis sowie zum geringeren Teil durch die zahlreichen kleinen Mundspeicheldrüsen abgegeben (Westhofen 2001). Die Durchblutung der Speicheldrüsen liegt in Ruhe bei ca. 0,5 ml/min/g und erhöht sich bei Stimulation bis um den Faktor 5. Im nicht stimulierten Zustand haben die einzelnen Drüsen am Speichelvolumen folgende Anteile: Gl. submandibularis 70%, Gl. parotis 25% und Gl. sublingualis 5%, nach Stimulation in derselben Reihenfolge: 63%, 34% und 3%. Auch ohne Nahrungsaufnahme findet eine geringe Basalsekretion von ca. 0,5 ml/min statt (sog. Ruhespeichel). Durch Geruchs- und Geschmacksreize kann sich die Sekretionleistung verdoppeln. Kauen steigert die Sekretion in etwa um den Faktor 3 und 0,5-molare Zitronensäure erzeugt sogar eine Speichelsekretion bis ca. 7 ml/min. Dehydratation, Angst und Stress senken das Sekretionsvolumen, im Schlaf und in Narkose versiegt die Speichelsekretion fast völlig (Vaupel 2000).

1.7.2. Funktion und Zusammensetzung des Speichels

Das dünnflüssige Sekret hält den Mund- und Rachenraum feucht, erleichtert das Sprechen, macht die gekaute Nahrung gleitfähig und fördert die Geschmacksentwicklung. Die Speichelzusammensetzung kann nahrungsabhängig schwanken zwischen wasserartigem Spülspeichel und amylasereichem Gleitspeichel. Die funktionell wichtigsten Substanzen sind die Muzine und die α -Amylase. Der Speichel hat eine Reinigungsfunktion und zeigt durch seinen Gehalt an sekretorischem Immunglobulin A, Lysozym, Speichel-Peroxidase und Laktoferrin eine antimikrobielle Wirkung (Rudney 1989). Bei

75% der Menschen, den sogenannten Sekretoren, können auch Blutgruppensubstanzen im Speichel nachgewiesen werden. Außerdem werden verschiedene Substanzen wie Alkohol, Morphin und Jodid teilweise mit ihm ausgeschieden (Vaupel 2000).

Der Wassergehalt des Mundspeichels beträgt 99,5%, sein Ruhe-pH-Wert liegt bei 5,5 - 6,5 und steigt nach Stimulation auf 7,5 an. Der Primärspeichel, der in den Azini der Speicheldrüsen sezerniert wird, ist plasmaisoton. Es sind aber in den nachgeschalteten Drüsengängen noch wesentliche Veränderungen hinsichtlich der Elektrolytzusammensetzung möglich. Dabei werden, bei relativ geringer Wasserpermeabilität, Na^+ und Cl^- aus dem Lumen resorbiert und K^+ sowie HCO_3^- sezerniert, wodurch der Mundspeichel hypoton wird. Die Osmolarität beträgt dann nur noch 2/3 der des Plasmas (Young et al. 1996).

1.7.3. Regulation der Speichelsekretion

Die Speichelsekretion durch Schleimhautepithelien wird gesteuert durch das vegetative Nervensystem. Azinäre Drüsenzellen besitzen α - und β -adrenerge sowie muskarinische, cholinerge Rezeptoren. Die Sekretion von Elektrolyten und Wasser wird besonders durch Acetylcholin und α -adrenerge Substanzen stimuliert. Die parasympathische Aktivierung fördert die Sekretion eines serösen, glykoproteinarmen Speichels sowie die Durchblutung der Speicheldrüsen, vermittelt durch die gefäßerweiternde Wirkung von VIP. Die parasympathische Innervation der Gl. parotis erfolgt durch den Nervus glossopharyngeus und für die Gl. submandibularis/sublingualis durch Fasern aus dem Nervus facialis. Eine Erregung des Sympathikus führt zur Abnahme der Durchblutung und liefert durch β -adrenerge Stimulation, vor allem der Gl. submandibularis und Gl. sublingualis, geringe Mengen eines viskösen, K^+ -, HCO_3^- - und glykoproteinreichen Speichels (Sabbadini & Berczi 1995, Young et al. 1996).

Die Sekretion der Speichelbestandteile ist somit das Resultat eines genau regulierten Prozesses. Nur wenig Material erreicht den Speichel aus dem Serum aufgrund erhöhter Durchlässigkeit der Blutgefäße als Folge von Entzündungen oder Verletzungen der Schleimhaut (Sabbadini & Berczi 1995).

1.7.4. Pathophysiologie der Speicheldrüsen

Störungen der Speichelsekretion, die bei Speicheldrüsenerkrankungen wie dem Sjögren-Syndrom oder bei der Einnahme bestimmter Psychopharmaka in Erscheinung treten, führen zur Xerostomie mit Schwierigkeiten beim Kauen, Schlucken und Sprechen sowie Neigung zur Geschwürbildung (Sreebny & Valadini 1987). Die fehlende HCO_3^- -Sekretion reduziert die Pufferkapazität und führt zur Senkung des lokalen pH-Wertes. Durch den Wegfall der bakteriziden Wirkung des Speichels wachsen vermehrt Milchsäure-produzierende Bakterien, was wiederum den Abfall des pH-Wertes verstärkt. Die H^+ -Ionen demineralisieren den Zahnschmelz und bei gleichzeitig reduziertem Proteinschutzfilm tritt nunmehr gehäuft Karies auf (Lagerlöf & Oliveby 1994).

2. Ziel der Arbeit

Im klinischen Forschungslabor der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten, Kopf- und Halschirurgie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald werden sialochemische Untersuchungen an gesunden und erkrankten Speicheldrüsen durchgeführt (Meyer & Werner 1994, Meyer et al. 1997 & 1998, Meyer & Zechel 2001). Die Untersuchungsergebnisse sollen zu einer verbesserten Erkennung und Behandlung von Speicheldrüsenenerkrankungen führen.

Um relevante ärztliche Aussagen treffen zu können, ist es zunächst erforderlich, verlässliche statistische Normalwerte für verschiedene Parameter im Speichel zu bestimmen. In verschiedenen Forschungsarbeiten wurden sIgA-Konzentrationen nach uneinheitlichen Messverfahren ermittelt sowie unterschiedliche Speichergewinnungs- und Stimulationsmethoden angewandt. Deshalb fällt die Aufstellung von Normalwerten anhand der bisherigen Literaturdaten äußerst schwer. Alter und Geschlecht fanden oftmals keine Berücksichtigung, die entsprechenden Studien hierzu waren methodisch schlecht vergleichbar und ergaben konträre Ergebnisse. Eine getrennte Bewertung von isoliertem Parotis- und Submandibularispeichel einerseits und dem Gesamtspeichel andererseits wurde selten oder gar nicht vorgenommen.

Ziel der vorliegenden Studie ist es, sekretorisches Immunglobulin A sowohl im isolierten Parotis- und Submandibularispeichel als auch im Mischspeichel auf eine eventuelle Alters- und Geschlechtsabhängigkeit hin zu analysieren. Es sollen statistische Normalwerte als Grundlage für relevante pathobiochemische Aussagen hinsichtlich Diagnostik und Therapie von Speicheldrüsenenerkrankungen zur Verfügung gestellt werden.

3. Material und Methoden

3.1. Probandenkollektiv und Gruppeneinteilung

Für die vorliegende klinische Studie zur Bestimmung von sIgA-Normalwerten nahmen insgesamt 363 Patientinnen und Patienten der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten, Kopf- und Halschirurgie sowie Studentinnen und Studenten der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald an der Untersuchung teil. Alle Probanden wurden vor der Speichelgewinnung über Art, Ziel und Ablauf der klinischen Prüfung aufgeklärt. Erkrankungen der Kopfspeicheldrüsen bzw. Krankheiten, welche deren Funktion beeinflussen, wurden anamnestisch ausgeschlossen. Das Einverständnis zur Speichelentnahme wurde von jedem Probanden schriftlich erklärt.

Die Einteilung der insgesamt 450 Speichelproben erfolgte nach Alter und Geschlecht der Probanden sowie nach der Art des gewonnenen Speichels (**PS** = Parotisspeichel, **SMS** = Submandibularis-/Sublingualisspeichel, **MS** = Mischspeichel). Für jede der 18 Gruppen wurden 25 Speichelproben untersucht (*Tabelle 3.1.*).

	Männer			Frauen		
	18-25 J.	26-50 J.	>50 J.	18-25 J.	26-50 J.	>50 J.
PS	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 10	Gruppe 11	Gruppe 12
SMS	Gruppe 4	Gruppe 5	Gruppe 6	Gruppe 13	Gruppe 14	Gruppe 15
MS	Gruppe 7	Gruppe 8	Gruppe 9	Gruppe 16	Gruppe 17	Gruppe 18

Tabelle 3.1.: Gruppeneinteilung der Probanden, jede Gruppe n=25

3.2. Altersverteilung in den Probandengruppen

Die Altersverteilung in den Probandengruppen zeigt in allen Altersstufen für Männer und Frauen vergleichbare arithmetische Mittelwerte (\bar{x}) mit Standardabweichungen (s) (*Tabelle 3.2.*). Das Altersmaximum betrug bei den Männern 80 Jahre, bei den Frauen 77 Jahre.

	18-25 J.		26-50 J.		>50 J.	
	m	w	m	w	m	w
PS	(Gr. 1)	(Gr. 10)	(Gr. 2)	(Gr. 11)	(Gr. 3)	(Gr. 12)
\bar{x}	22,4	21,3	35,7	36,5	61,6	59,9
$\pm s$	1,9	2,3	8,6	7,0	7,5	8,7
SMS	(Gr. 4)	(Gr. 13)	(Gr. 5)	(Gr. 14)	(Gr. 6)	(Gr. 15)
\bar{x}	22,7	21,5	35,8	38,4	61,2	60,0
$\pm s$	2,0	2,4	7,6	7,5	8,0	8,2
MS	(Gr. 7)	(Gr. 16)	(Gr. 8)	(Gr. 17)	(Gr. 9)	(Gr. 18)
\bar{x}	21,9	21,9	36,1	37,2	62,6	62,8
$\pm s$	2,1	2,7	7,7	7,0	8,0	8,3

Tabelle 3.2.: Altersverteilung in den Probandengruppen [Jahre]

3.3. Speichelentnahme

Um eventuelle Schwankungen unter Berücksichtigung der zirkadianen Rhythmik (Dawes & Ong 1973, Park & Tokura 1999) zu vermeiden und um vergleichbare Werte zwischen den einzelnen Speichelproben zu ermitteln, erfolgte die Speichelentnahme einheitlich zwischen 15 und 17 Uhr. Es wurde ausschließlich stimulierter Speichel, sog. Reizspeichel gesammelt.

Der Gewinnung des Parotisspeichels diente eine modifizierte Lashley-Saugkapsel (Schaefer et al. 1977). Deren innere Kammer

wurde über die rechte oder linke Papilla parotidea bzw. über den Stenon-Ausführungsgang platziert und über die äußere Kammer mittels leichtem Unterdruck an der bukkalen Schleimhaut gehalten. Nach gustatorischer Stimulation mit haushaltsüblichem Zitronensaft wurde durch den Sekretionsdruck der Drüse der isolierte Speichel über einen Polyethylen Schlauch, welcher auf den Saugkapselstutzen aufgesteckt war, in ein eisgekühltes Reagenzglas abgeleitet.

Eine weitere, speziell angefertigte Saugkapsel kam bei der Entnahme des Submandibularis-/Sublingualisspeichels zur Anwendung (Truelove et al. 1967). Hierbei wurde in einem ähnlichen Prinzip die innere Kammer über beiden Carunculae sublinguales bzw. über beiden Warthin-Gängen, ebenfalls mittels Unterdruck so fixiert, dass der stimulierte Speichel aus der rechten und linken Submandibularis-/Sublingualisdrüse gleichzeitig gewonnen werden konnte.

Bei beiden Entnahmetechniken wurde der jeweils erste Milliliter jeder Speichelprobe verworfen, um eine Kontamination mit eventuellen Rückständen in den Speicheldrüsen-Ausführungsgängen zu vermeiden. Daraufhin wurden in einem zweiten Reagenzglas jeweils 7 ml Speichel für die quantitative Untersuchung gesammelt.

Der Mischspeichel, d.h. eine Mischung aus den Sekreten der großen sowie der kleinen Kopfspeicheldrüsen, wurde wie folgt gewonnen: Zu Beginn spülte der Proband die Mundhöhle mit Leitungswasser aus, um grobe Verunreinigungen zu entfernen. Nach 10 Minuten Wartezeit, zur Wiederherstellung eines unverdünnten Speichels, kaute der Proband eine Spatelspitze Hartparaffin-Pellets (DAB 10, Universitäts-Apotheke Greifswald) und spuckte den stimulierten Mischspeichel über einen Trichter in ein ebenfalls eisgekühltes Reagenzglas.

Vom jeweils gesammelten Reizspeichel wurden 1,5 ml in ein Eppendorf-Gefäß abpipettiert und nach Zentrifugation (10 Min., 4° C,

3000 U/min) sowie Dekantierung bei -20°C bis zur quantitativen Bestimmung des sIgA gelagert.

Wurden in der vorliegenden Studie bei einem Teilnehmer Proben von mehr als einer Speichelart gewonnen, so wurde zwischen den Entnahmen eine Pause von mindestens 24 Stunden eingehalten, um einer Erschöpfung der Speicheldrüsenfunktion vorzubeugen.

3.4. Quantitative Bestimmung der sIgA-Konzentration

3.4.1. ELISA-Testprinzip

Zur Anwendung kam ein ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) - Test-Kit der Fa. Immundiagnostik, Bensheim, BRD, zur quantitativen Bestimmung des sekretorischen IgA im Speichel.

In diesem ELISA wird das sIgA aus den Proben an polyklonale, auf Mikrotiterplatten fixierte Antikörper (Kaninchen-anti-human-IgA) gebunden. Während eines Waschvorganges werden ungebundene Komponenten entfernt. Gebundenes sIgA wird mit Hilfe eines Peroxidase (POD)-markierten Antikörpers (Kaninchen-anti-sIgA) detektiert. Dieser erkennt spezifisch das gebundene sekretorische IgA. Über ein Antikörper-POD / TMB (Tetramethylbenzidin) - System wird das sIgA schließlich detektiert. Nach Zugabe einer Stopplösung wechselt die Farbe von blau nach gelb. Die Farbentwicklung ist dabei zur nachgewiesenen Analytmenge (Probe bzw. Standard) proportional. Eine Standardkurve wird erstellt, aus der die Konzentrationen ermittelt werden.

Die computergestützte quantitative Bestimmung von sIgA im Speichel wurde auf einem Photometer (Mikrotiterplatten-Reader MPRA-4) adaptiert. Zu dieser Anlage der Firma IBL, Hamburg, BRD, gehören ein Personal Computer der Marke Amstrad PC 1640 sowie ein Drucker der Marke Epson LX 400.

3.4.2 Testvorbereitung

Das Waschpufferkonzentrat wird vor Gebrauch 1:10 in aqua dest. verdünnt (100 ml Konzentrat + 900 ml aqua dest.). Die lyophilisierten (gefriergetrockneten) Standards (0; 22,2; 66,6; 200; 600 ng/ml) und Kontrolle werden mit 500 µl aqua dest. rekonstituiert. Die Speichelproben werden 1:2000 in Waschpuffer verdünnt. Aus dieser Endverdünnung werden dann je 100 µl in die Vertiefung der Mikrotiterplatte eingesetzt.

3.4.3 Testdurchführung

Es wird nach folgendem Pipettierschema vorgegangen:

1. - 100 µl rekonstituierte Standards und vorverdünnte Patientenproben in die jeweilige Vertiefung pipettieren;
2. - 1 Stunde bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubieren;
3. - Inhalt der Platte verwerfen, anschließend Waschvorgang;
4. - 100 µl vorverdünnter POD-Antikörper in jede Vertiefung pipettieren;
5. - 1 Stunde bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubieren;
6. - Inhalt der Platte verwerfen, anschließend Waschvorgang;
7. - 100 µl gebrauchsfertige TMB-Substratlösung zugeben;
8. - 5–15 Min. bei Raumtemperatur inkubieren bis eine ausreichend große Farbdifferenz auftritt;
9. - 50 µl Stopplösung (H_2SO_4) zusetzen und kurz mischen;

Die Extinktion wird unverzüglich im vollautomatischen Mikrotiterplattenreader bei 405 nm gegen den Leerwert bestimmt. Aus den Doppelbestimmungen wird der Mittelwert in ng/ml errechnet.

4. Ergebnisse

4.1. Statistisches Verfahren

Die computergestützte statistische Datenauswertung der ermittelten sIgA-Konzentrationen erfolgte unter Benutzung des Statistikprogrammes SAS (Statistical Analysis System) im Institut für Biometrie und Medizinische Informatik der Universität Greifswald. Zur Anwendung kam der U-Test nach MANN-WITHNEY (WILCOXON-Rangsummentest für zwei Gruppen) für unverbundene Stichproben (Oerthel & Tuschl 1995).

Abkürzungen:

m	- männlich
w	- weiblich
x	- arithmetischer Mittelwert
s	- Standardabweichung
m	- Median (= 50. Perzentil)
max	- Maximalwert
Q3	- 3. Quartil (= 75. Perzentil)
Q1	- 1. Quartil (= 25. Perzentil)
min	- Minimalwert
Gr.	- Probandengruppe
GV	- Gruppenvergleich
p / S	- Prüfgröße / Signifikanzniveau
n.s.	- nicht signifikant
*	- $p < 0,05$ = signifikant
**	- $p < 0,005$ = hoch signifikant
***	- $p < 0,0005$ = höchst signifikant

4.2. Lage- & Streuungsmaße von sIgA

Nachfolgend sind die Werte für $\bar{x} \pm s$, m, max, Q3, Q1 und min nach Speichelarten getrennt graphisch dargestellt (Abbildungen 4.2.1. – 4.2.3.) bzw. tabellarisch aufgelistet (Tabellen 4.2.1. – 4.2.3.).

4.2.1. Parotisspeichel

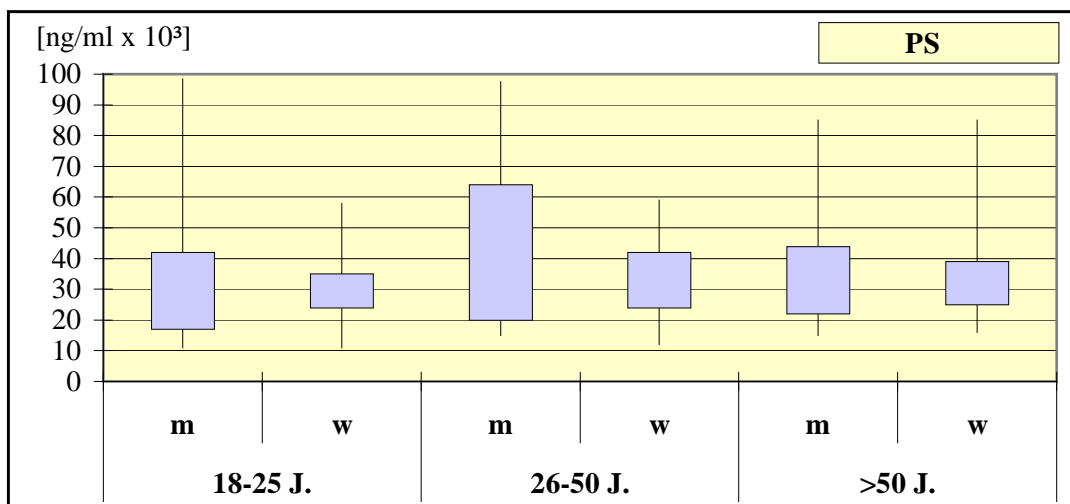


Abbildung 4.2.1.: Boxplot (max, Q3, Q1, min), sIgA, PS

PS	18-25 J.		26-50 J.		>50 J.	
	m	w	m	w	m	w
	(Gr. 1)	(Gr. 10)	(Gr. 2)	(Gr. 11)	(Gr. 3)	(Gr. 12)
\bar{x}	33.781,6	30.299,3	45.704,5	32.989,9	34.643,2	34.603,0
$\pm s$	21.754,8	11.468,1	26.884,7	13.591,1	15.362,6	15.486,7
m	28.789,2	28.786,3	38.856,0	30.365,5	33.399,8	31.133,0
max	98.683,4	57.749,5	97.654,7	59.209,6	84.662,0	84.754,1
Q3	41.510,2	35.142,9	63.490,3	42.143,3	43.542,7	39.258,3
Q1	17.354,8	23.451,8	20.208,2	24.055,2	22.426,4	25.282,8
min	10.582,6	11.180,4	14.743,6	11.589,7	15.225,2	15.585,3

Tabelle 4.2.1.: Lage- & Streuungsmaße, sIgA [ng/ml], PS

4.2.2. Submandibularisspeichel

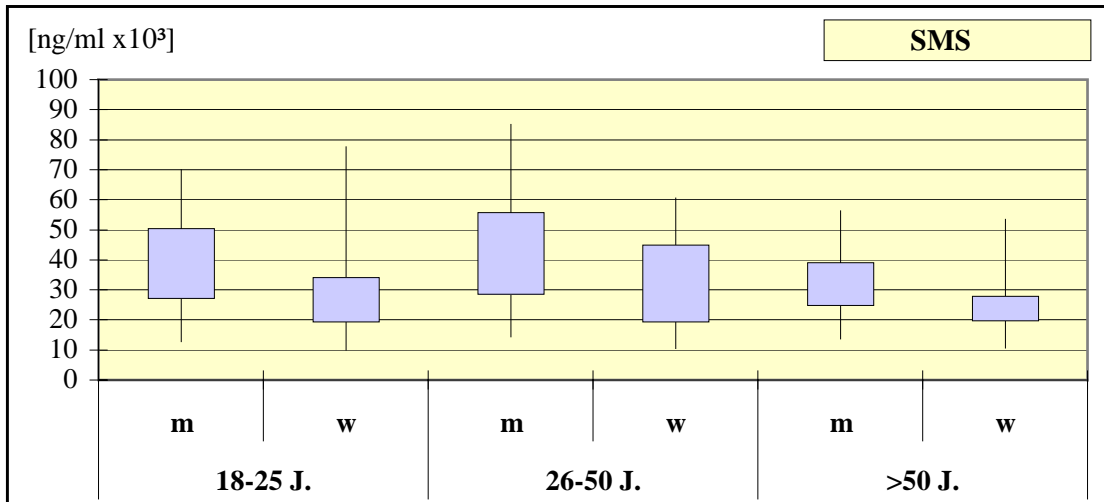


Abbildung 4.2.2.: Boxplot (max, Q3, Q1, min), sIgA, SMS

SMS	18-25 J.		26-50 J.		>50 J.	
	m	w	m	w	m	w
	(Gr. 4)	(Gr. 13)	(Gr. 5)	(Gr.14)	(Gr. 6)	(Gr. 15)
x	39.035,5	30.324,3	42.157,8	30.986,5	32.322,6	26.367,1
$\pm s$	16.613,3	17.077,1	19.131,2	14.825,6	10.911,7	10.995,1
m	34.396,2	24.900,3	37.453,0	24.714,3	29.411,5	24.496,2
max	69.990,2	77.643,5	85.063,2	60.613,3	56.270,6	53.485,0
Q3	50.526,1	34.052,5	55.657,9	44.925,9	39.038,6	27.897,7
Q1	27.084,4	19.253,5	28.568,2	19.410,9	24.772,4	19.813,8
min	12.770,1	10.042,0	14.275,7	10.494,1	13.635,1	10.689,1

Tabelle 4.2.2.: Lage- & Streuungsmaße, sIgA [ng/ml], SMS

4.2.3. Mischspeichel

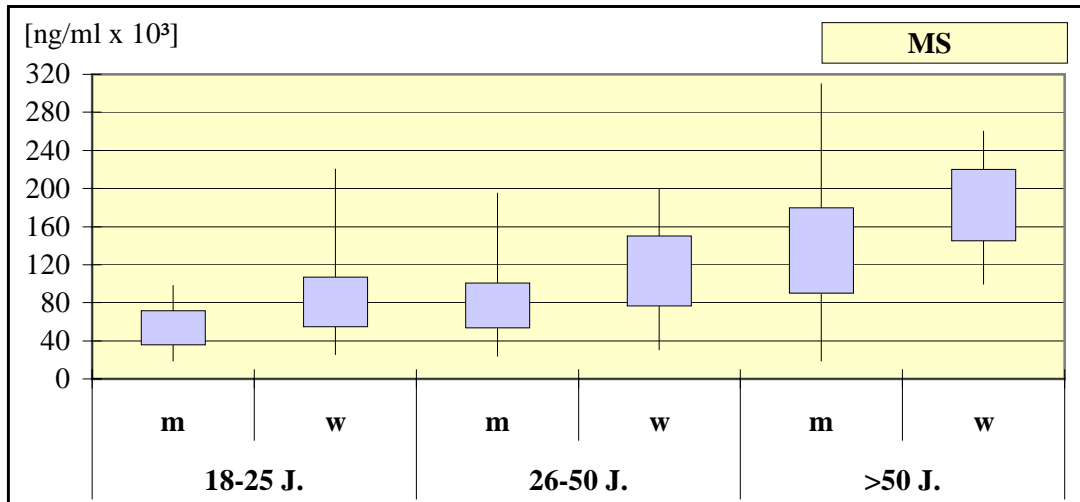


Abbildung. 4.2.3.: Boxplot (max, Q3, Q1, min), sIgA, MS

MS	18-25 J.		26-50 J.		>50 J.	
	m	w	m	w	m	w
	(Gr. 7)	(Gr. 16)	(Gr. 8)	(Gr. 17)	(Gr. 9)	(Gr. 18)
x	54.675,9	96.481,6	84.953,6	114.632,8	150.881,2	177.097,1
± s	22.755,5	53.255,5	42.932,9	49.344,5	97.950,5	47.145,4
m	59.228,6	92.384,9	66.865,4	99.772,4	117.448,7	170.976,3
max	97.120,7	218.625,4	192.258,6	199.471,1	309.793,2	259.199,3
Q3	71.698,4	107.077,5	100.817,0	150.343,3	179.797,2	221.375,0
Q1	36.004,5	54.768,4	53.782,4	76.806,2	90.507,5	145.691,2
min	18.524,7	25.952,9	23.479,5	30.983,3	18.996,2	101.296,4

Tabelle 4.2.3.: Lage- & Streuungsmaße, sIgA [ng/ml], MS

4.3. Altersabhängigkeit von sIgA

4.3.1. Altersabhängigkeit sIgA, Männer

Die arithmetischen Mittelwerte (\bar{x}) der sIgA-Konzentrationen für die männlichen Probandengruppen sowie die Ergebnisse der statistischen Gruppenvergleiche bezüglich der Altersabhängigkeit im PS, SMS und MS sind nachfolgend graphisch dargestellt (*Diagramm 4.3.1.*) bzw. tabellarisch aufgelistet (*Tabelle 4.3.1.*).

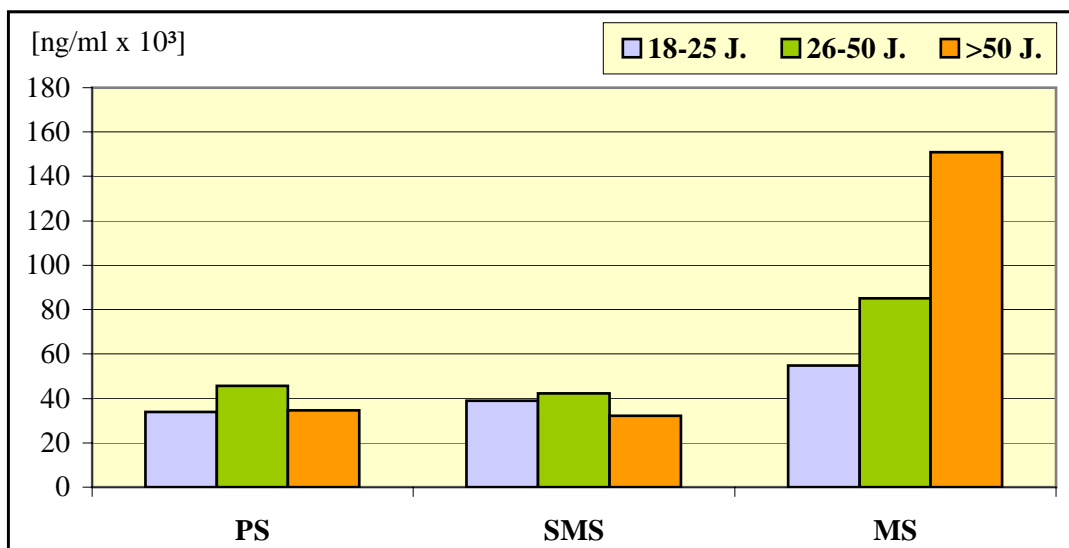


Diagramm 4.3.1.: Altersabhängigkeit sIgA, Mittelwerte (\bar{x}), Männer

- Parotis- & Submandibularisspeichel, Männer

Der Vergleich der sIgA-Konzentrationen im **PS** sowie im **SMS** bei Männern ergab **keine signifikanten** altersabhängigen Unterschiede.

- Mischspeichel, Männer

Für **MS** zeigte sich mit fortschreitendem Alter eine deutliche Zunahme der sIgA-Konzentrationen. Daraus resultierten **signifikant**

höhere Werte in der Gruppe der 26-50jährigen Männer im Vergleich zur Gruppe der 18-25jährigen (GV 7/8, **p=0,0219**). Ebenfalls **signifikant erhöht** waren die Werte der Männer über 50 Jahre verglichen mit der Gruppe der 26-50jährigen (GV 8/9, **p=0,0074**). Die über 50jährigen Männer zeigten annähernd dreifach höhere Werte und somit **höchst signifikant** ansteigende sIgA-Spiegel im Vergleich zur Gruppe der 18-25jährigen (GV 7/9, **p<0,0001**).

männl.	18-25 J.	26-50 J.	>50 J.
PS	(Gr. 1)	(Gr. 2)	(Gr. 3)
x ± s	33.781,6 ± 21.754,8	45.704,5 ± 26.884,7	34.643,2 ± 15.362,6
GV	(Gr. 1/2)	(Gr. 2/3)	(Gr. 1/3)
p / S	0,0941 / n.s.	0,1932 / n.s.	0,3463 / n.s.
SMS	(Gr. 4)	(Gr. 5)	(Gr. 6)
x ± s	39.035,5 ± 16.613,3	42.157,8 ± 19.131,2	32.322,6 ± 10.911,7
GV	(Gr. 4/5)	(Gr. 5/6)	(Gr. 4/6)
p / S	0,5503 / n.s.	0,0631 / n.s.	0,1687 / n.s.
MS	(Gr. 7)	(Gr. 8)	(Gr. 9)
x ± s	54.675,9 ± 22.755,5	84.953,6 ± 42.932,9	150.881,2 ± 97.950,4
GV	(Gr. 7/8)	(Gr. 8/9)	(Gr. 7/9)
p / S	0,0219 / *	0,0074 / *	< 0,0001 / ***

Tabelle 4.3.1.: Gruppenvergleich Altersabhängigkeit sIgA [ng/ml], **Männer**

4.3.2. Altersabhängigkeit sIgA, Frauen

Die arithmetischen Mittelwerte (\bar{x}) der sIgA-Konzentrationen für die weiblichen Probandengruppen sowie die Ergebnisse der statistischen Gruppenvergleiche bezüglich der Altersabhängigkeit im PS, SMS und MS sind nachfolgend graphisch dargestellt (*Diagramm 4.3.2.*) bzw. tabellarisch aufgelistet (*Tabelle 4.3.2.*).

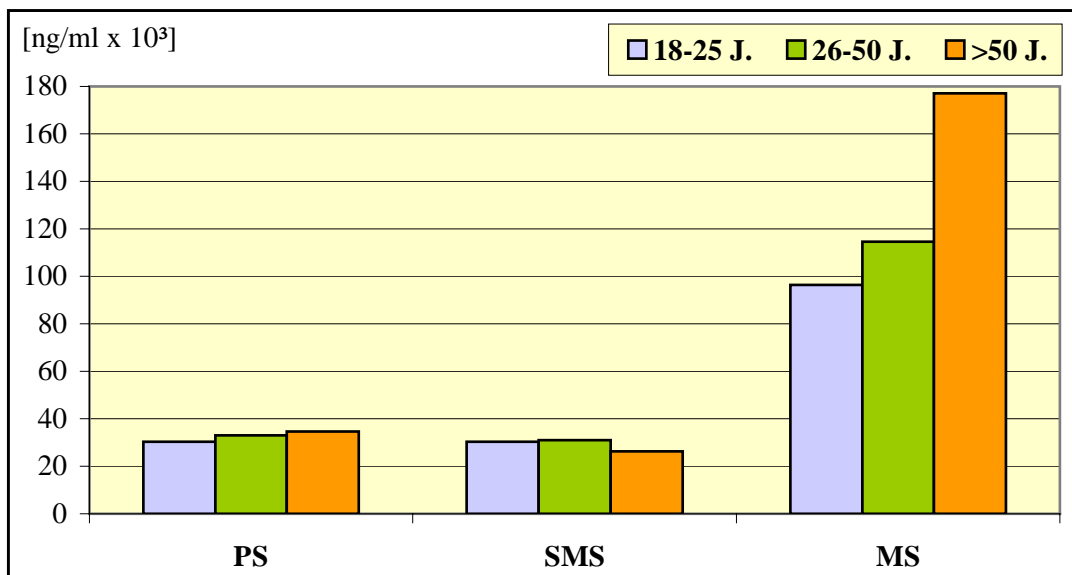


Diagramm 4.3.2.: Altersabhängigkeit sIgA, Mittelwerte (\bar{x}), Frauen

- Parotis- & Submandibularisspeichel

Der Vergleich der sIgA-Konzentrationen im **PS** sowie im **SMS** bei Frauen ergab **keine signifikanten** altersabhängigen Unterschiede.

- Mischspeichel

Für **MS** zeigte sich eine **höchst signifikante Zunahme** der sIgA-Konzentrationen in der Gruppe der Frauen über 50 Jahre im Vergleich zur Gruppe der 18-25jährigen (GV 16/18, $p < 0,0001$) wie auch im Vergleich zur Gruppe der 26-50jährigen (GV 17/18, $p = 0,0004$).

weibl.	18-25 J.	26-50 J.	>50 J.
PS	(Gr. 10)	(Gr. 11)	(Gr. 12)
x ± s	30.299,3 ± 11.468,1	32.989,9 ± 13.591,1	34.603,0 ± 15.486,7
GV	(Gr. 10/11)	(Gr. 11/12)	(Gr. 10/12)
p / S	0,4645 / n.s.	0,8925 / n.s.	0,3974 / n.s.
SMS	(Gr. 13)	(Gr. 14)	(Gr. 15)
x ± s	30.324,3 ± 17.077,1	30.986,5 ± 14.825,6	26.367,1 ± 10.995,1
GV	(Gr. 13/14)	(Gr. 14/15)	(Gr. 13/15)
p / S	0,7429 / n.s.	0,4882 / n.s.	0,7284 / n.s.
MS	(Gr. 16)	(Gr. 17)	(Gr. 18)
x ± s	96.481,6 ± 53.255,5	114.632,8 ± 49.344,5	177.097,1 ± 47.145,4
GV	(Gr. 16/17)	(Gr. 17/18)	(Gr. 16/18)
p / S	0,1837 / n.s.	0,0004 / ***	< 0,0001 / ***

Tabelle 4.3.2.: Gruppenvergleich Altersabhängigkeit sIgA [ng/ml], **Frauen**

4.4. Geschlechtsabhängigkeit von sIgA

Die arithmetischen Mittelwerte (x) der sIgA-Konzentrationen in den einzelnen Gruppen sowie die Ergebnisse der statistischen Gruppenvergleiche bezüglich der Geschlechtsabhängigkeit im PS, SMS und MS sind nachfolgend graphisch dargestellt (*Diagramm 4.4.*) bzw. tabellarisch aufgelistet (*Tabelle 4.4.*).

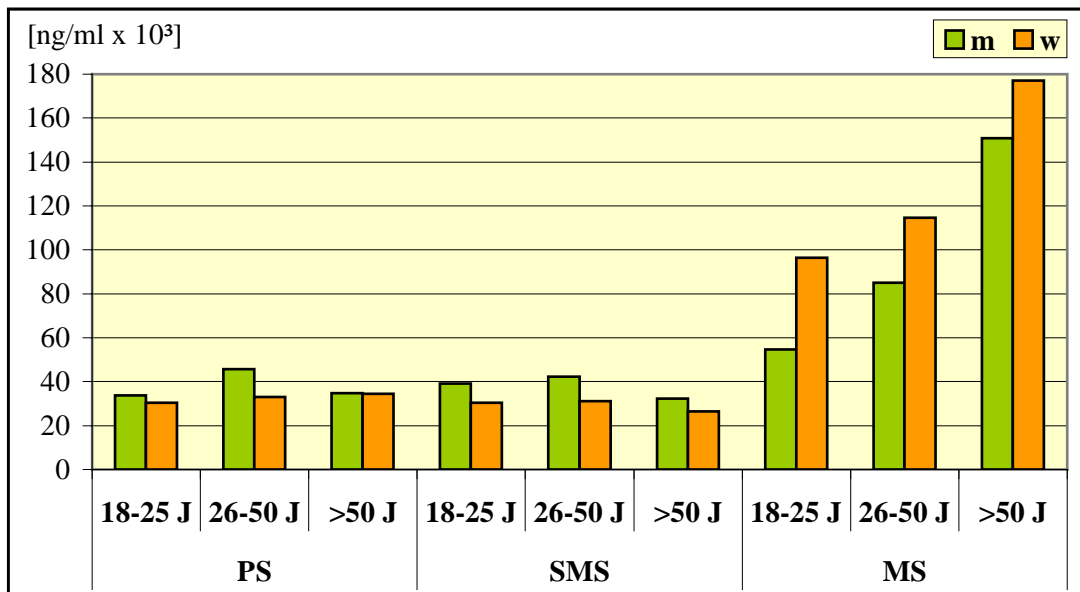


Diagramm 4.4.: Geschlechtsabhängigkeit sIgA, Mittelwerte (x)

- Parotisspeichel

Der Vergleich der sIgA-Konzentrationen im **PS** ergab in allen Altersstufen **keine signifikanten** geschlechtsabhängigen Unterschiede.

- Submandibularisspeichel

Für **SMS** sind bei Männern in allen Altersstufen **signifikant höhere** sIgA-Werte ermittelt worden, verglichen mit den Frauen der jeweiligen Gruppen (18-25 J.: GV 4/13, **p=0,0432**; 26-50 J.: GV 5/14, **p=0,0451**; >50 J.: GV 6/15, **p=0,0413**).

- Mischspeichel

Andererseits lagen die sIgA-Spiegel im **MS** bei Frauen der Altersklassen 26-50 J. (GV 8/17, **p=0,0331**) sowie >50 J. (GV 9/18, **p=0,0470**) **signifikant höher** im Vergleich zu den Werten der entsprechenden Altersklassen bei Männern. Für die Gruppe der 18-25jährigen Frauen zeigte sich sogar eine **hoch signifikante** Zunahme

der sIgA-Konzentrationen (GV 7/16, $p=0,0021$) gegenüber den Werten der gleichaltrigen Männer.

m/w	18-25 J.	26-50 J.	>50 J.
PS			
m	(Gr. 1)	(Gr. 2)	(Gr. 3)
x ± s	33.781,6 ± 21.754,8	45.704,5 ± 26.884,7	34.643,2 ± 15.362,6
w	(Gr. 10)	(Gr. 11)	(Gr. 12)
x ± s	30.299,3 ± 11.468,1	32.989,9 ± 13.591,1	34.603,0 ± 15.486,7
GV	(Gr. 1/10)	(Gr. 2/11)	(Gr. 3/12)
p / S	0,9538 / n.s.	0,1467 / n.s.	0,9078 / n.s.
SMS			
m	(Gr. 4)	(Gr. 5)	(Gr. 6)
x ± s	39.035,5 ± 16.613,3	42.157,8 ± 19.131,2	32.322,6 ± 10.911,7
w	(Gr. 13)	(Gr. 14)	(Gr. 15)
x ± s	30.324,3 ± 17.077,1	30.986,5 ± 14.825,6	26.367,1 ± 10.995,1
GV	(Gr. 4/13)	(Gr. 5/14)	(Gr. 6/15)
p / S	0,0432 / *	0,0451 / *	0,0413 / *
MS			
m	(Gr. 7)	(Gr. 8)	(Gr. 9)
x ± s	54.675,9 ± 22.755,5	84.953,6 ± 42.932,9	150.881,2 ± 97.950,4
w	(Gr. 16)	(Gr. 17)	(Gr. 18)
x ± s	96.481,6 ± 53.255,5	114.632,8 ± 49.344,5	177.097,1 ± 47.145,4
GV	(Gr. 7/16)	(Gr. 8/17)	(Gr. 9/18)
p / S	0,0021 / **	0,0331 / *	0,0470 / *

Tabelle 4.4.: Gruppenvergleich Geschlechtsabhängigkeit sIgA [ng/ml]

5. Diskussion

5.1. Diskussion der Methode

Das sekretorische Immunglobulin A als ein Hauptbestandteil des Schleimhautimmunsystems ist in physiologischer wie auch in pathophysiologischer Hinsicht gewissen Veränderungen unterworfen. Verschiedene Krankheiten sowie physische und psychische Belastungssituationen stellen wichtige Einflussfaktoren dar, welche die sIgA-Konzentrationen signifikant beeinflussen können.

Da Speichelproben leicht zu gewinnen sind, wurden in den letzten Jahren verstärkt Versuche unternommen, Speichelparameter für die Diagnostik und Beurteilung von Speicheldrüsen-affektierenden Krankheiten zu etablieren. Dabei wurde jedoch bezüglich des sIgA nur ungenügend Wert darauf gelegt, alters- und geschlechtsabhängige Veränderungen herauszustellen. Diejenigen Studien, die sich direkt mit eventuellen Alters- und Geschlechtsabhängigkeiten befassten, sind methodisch schlecht zu vergleichen und enthalten uneinheitliche und zum Teil konträre Aussagen.

Unseres Wissens ist die hier vorgelegte Studie die erste, welche differenzierte Daten zur Alters- und Geschlechtsabhängigkeit von sIgA sowohl im Parotis- sowie Submandibularisspeichel als auch im Mischspeichel liefert.

5.1.1. Probandenkollektiv

Um aussagekräftige Daten zur Erstellung von sIgA-Normalwerten für Erwachsene zu erhalten, waren in der hier vorgestellten Studie gewisse Ausschlusskriterien bei der Auswahl der Probanden für die klinische Prüfung zu beachten.

Zum Probandenkollektiv zählten bevorzugt Patienten mit Tinnitus, Hörsturz und Morbus Menière. Krankheiten, welche die Funktion der Speicheldrüsen beeinträchtigen, wurden anamnestisch sowie durch Einsicht in die Krankenakten ausgeschlossen. Da eine relativ durchschnittliche Bevölkerungsgruppe erfasst werden sollte, flossen verschiedene Faktoren wie Ernährungsweise, Alkohol- und Nikotingenuss, Mundhygiene (Tenovuo 1992), Zahnstatus (Grönblad & Lindholm 1987), Zyklusphase bei Frauen (Gómez et al. 1993) oder die Einnahme von Antihypertensiva (Streckfus et al. 1991) und anderen Medikamenten, welche die sIgA-Konzentrationen beeinflussen können, in die Arbeit mit ein. Es war nicht das Ziel dieser Studie, mögliche Einflussfaktoren hinsichtlich ihrer Wirkungen auf sIgA hin zu untersuchen. Diese Thematik bleibt zukünftigen, weiterführenden Studien überlassen.

Bei den teilnehmenden Studenten wurden anamnestisch akute Infektionen des oberen Respirationstraktes ausgeschlossen. Weiterhin wurde sichergestellt, dass diese Studenten in den Tagen vor und während der Speichelentnahme keine Examensprüfungen abzuleisten hatten, um stressbedingten Verfälschungen der Ergebnisse vorzubeugen.

5.1.2. Speichelart

Stone et al. (1987) vertraten die Auffassung, Mischspeichel führe aufgrund der Kontamination mit sIgA-proteolytischen Enzymen zu unreliablen Ergebnissen und sei deshalb ein ungeeignetes Untersuchungsmedium. Es wäre stattdessen besser, isolierten Speichel aus den großen Kopfspeicheldrüsen zu analysieren. Dieser Kritikpunkt wurde von Jemmot & McClelland (1989) zurecht mit der Begründung zurückgewiesen, dass gerade sIgA über die SC stärker vor proteolytischen Prozessen geschützt sei.

Bei der Wahl der Speichelart ist zu berücksichtigen, dass sIgA sowohl den großen Kopfspeicheldrüsen als auch den zahlreichen kleinen Mundspeicheldrüsen entstammt (Smith et al. 1991). Der Anteil dieser „minor salivary glands“ kann bis zu 30% des im Speichel vorhandenen sIgA betragen (Crawford et al. 1975).

Etliche Studien beschränkten sich auf die Analyse von Parotis- und Mischspeichel, meistens jedoch nur auf eine der beiden Speichelarten. Das Studiendesign der hier vorgelegten Arbeit berücksichtigte hingegen neben der Summe aller sIgA-Sekretionen im Mischspeichel und der isolierten sIgA-Konzentrationen der Gl. parotis auch die Syntheseleistungen der Gll. submandibularis/sublingualis.

5.1.3. Analytische Methode

Die sIgA-Konzentrationen variieren in Abhängigkeit von der analytischen Methode. Die sialochemischen Analysen für die vorgelegte Studie wurden mit einem allgemein gebräuchlichen ELISA-Test-Kit durchgeführt. Diese Methode führt zu reliablen Ergebnissen bei der Ermittlung von sIgA-Konzentrationen (Kemeny 1994).

5.1.4. Art der Speichelgewinnung

Die Anwendung verschiedener Saugkapselmodifikationen für die isolierte Speichelentnahme über den Ausführungsgängen der großen Kopfspeicheldrüsen sowie die Kanalisierung der Ausführungsgänge selbst, führen im allgemeinen zu vergleichbaren Ergebnissen (Schaefer et al. 1977).

Für den Mischspeichel ist jedoch zunächst die Art der Speichelgewinnung festzulegen, da dies die zu ermittelnden sIgA-Konzentrationen beeinflussen könnte. Aufricht et al. (1992) hatten beispielsweise festgestellt, dass im Vergleich zur Speichelabgabe mittels Spuckmethode in ein Sammelgefäß, die Verwendung von

Sarstedt-Salivetten zu insgesamt geringeren sIgA-Konzentrationen im Speichel führt. Bei dieser Speichelsammelmethode legt der Proband für einen definierten Zeitraum eine Baumwoll-Rolle in den Mund. Die Autoren begründeten die verringerten Konzentrationen mit einer Adsorption von sIgA-Molekülen an den Baumwollträger. Hennig (1994) wiederum berichtete, dass die Verwendung der Salivette die sIgA-Konzentrationen nicht beeinflusst. Weiterhin fand er heraus, dass sich in den mukösen Bestandteilen des Speichels keine nennenswerten sIgA-Anteile befinden.

Im Sinne einer einheitlichen Entnahmemethode wurde für die vorgelegte Studie der Speichel bei allen Probanden mittels freier Spuckmethode gewonnen.

5.1.5. Zirkadiane Rhythmik

Im Gegensatz zu Hennig (1994), der berichtete, dass sIgA im Speichel nicht einer Tageszeitrhythmik unterliegt, sondern unsystematisch über den Tagesverlauf fluktuiert, publizierten andere Autoren gegenteilige Ergebnisse. So scheint der zirkadiane Rhythmus die Speichelflussrate des Menschen zu beeinflussen. Dawes & Ong (1973) ermittelten für den Gesamtspeichelfluss einen Peak um ca. 17 Uhr, für den Parotisspeichel jedoch ein Flussmaximum schon gegen 11 Uhr. Die Flussrate ist somit tagsüber erhöht, sinkt am späten Abend und versiegt im Schlaf fast vollständig.

Stiller-Winkler et al. (1998) fanden heraus, dass die sIgA-Konzentrationen beim morgendlichen Erwachen einen Spitzenwert erreichen und in den darauffolgenden 4 Stunden durch einen stetigen Konzentrationsabfall gekennzeichnet sind. Im Anschluss daran bleiben die sIgA-Spiegel konstant. Dabei scheinen die Spitzenwerte weniger von der morgendlichen Tageszeit als vielmehr vom Zeitpunkt des Erwachens abhängig zu sein (Hucklebridge et al. 1998).

Eine Studie von Park & Tokura (1999) konnte aufzeigen, dass sIgA einen dem Melatonin ähnlichen 24-Stunden-Rhythmus besitzt. Bei beiden kommt es zu einem nächtlichen Konzentrationsanstieg. Waren die Probanden tagsüber einer Lichtintensität von 5000 lux ausgesetzt, wurden signifikant höhere nächtliche sIgA-Spiegel gemessen als bei 200 lux, was in etwa der normalen Tageslichtintensität entspricht. Diese Darstellungen lassen die höchsten sIgA-Werte am späten Abend erwarten.

Um letztendlich eventuelle Schwankungen unter Berücksichtigung einer zirkadianen Rhythmik zu vermeiden und um vergleichbare Werte zwischen den einzelnen Speichelproben zu ermitteln, erfolgte in der vorliegenden Studie die Speichelentnahme für alle Speichelarten ausschließlich zwischen 15 und 17 Uhr.

5.1.6. Altersabhängigkeit der sIgA-Sekretionsrate

Veränderungen im Speichelfluss können die sIgA-Konzentrationen signifikant beeinflussen (Brandtzaeg 1971, Kugler et al. 1992, Challacombe et al. 1995). Dabei gilt im allgemeinen: je höher die Flussrate, desto geringer die sIgA-Konzentration. Ein ausreichender Speichelfluss aus den großen und kleinen Speicheldrüsen ist entscheidend für die Gesunderhaltung aller oralen Gewebe. Gerade in Belastungssituationen kann die Flussrate verändert werden, die Beobachtung von „trockenem Mund“ unter Stress ist allgemein bekannt (Sreebny & Valdini 1987).

Der Alterungsvorgang an sich hat vermutlich einen relativ geringen Einfluss auf die Speichelflussrate (Baum 1986), jedoch führen Medikamente wie Psychopharmaka und Antihypertensiva (Streckfus et al. 1991), Autoimmunkrankheiten oder Bestrahlungstherapien im Kopf- und Halsbereich bei vielen älteren Menschen zu einer trockenen Mundschleimhaut (Tenovuo 1992).

- Parotisspeichel

Bereits frühere Studien hatten darauf hingewiesen, dass die Parotis-Flussrate durch das Alter nicht nennenswert beeinflusst wird (Baum 1981, Heft & Baum 1984). Auch Challacombe et al. (1995) und Percival et al. (1997) konnten im Parotisspeichel keine signifikanten altersbezogenen Veränderungen der Sekretionsraten ermitteln. Daraus folgt im Umkehrschluss, dass auch die sIgA-Konzentrationen keinen altersabhängigen Veränderungen unterliegen, was mit den Ergebnissen unserer eigenen Studie übereinstimmt. Diese Berichte deuten darauf hin, dass die Parotiskfunktion im Laufe des Lebens bei gesunden Männern und Frauen recht stabil bleibt.

- Submandibularisspeichel

Die Glandula submandibularis produziert einen Hauptanteil des Ruhespeichels (Baum 1986). Es ist bekannt, dass diese Unterkieferdrüsen altersbezogenen histologischen Veränderungen ausgesetzt sind (Scott 1977). Es wurde ein Verlust von 30-40% der azinären Zellen im Laufe des Lebens beschrieben, bei gleichzeitiger Zunahme von Fett- und Bindegewebe. Pedersen et al. (1985) ermittelten bei älteren, nicht medizierten, gesunden Probanden einen Rückgang des Speichelflusses um 60-80% im Vergleich zu jüngeren Erwachsenen, sowohl bei stimuliertem als auch bei nicht stimuliertem Submandibularisspeichel.

Vor allem diese altersabhängigen Funktionsänderungen in den Submandibularisdrüsen, sowie die Beobachtung, dass bei älteren Menschen häufiger Speichelsteine in den Ausführungsgängen zu finden sind, könnten erklären, wieso viele ältere Menschen unter Xerostomie leiden, auch wenn die Sekretionsraten des Gesamtspeichels normale Werte zeigen (Sreebny & Valdini 1987).

Allerdings wurden in der hier vorgelegten Studie bezüglich der sIgA-Konzentrationen im SMS weder für Männer noch für Frauen

statistisch relevante altersabhängige Veränderungen ermittelt. Somit können aus den oben genannten Aussagen und aus unseren eigenen Feststellungen keine einheitlichen Schlussfolgerungen gezogen werden. Zur Konkretisierung dieser Thematik sind deshalb weiterführende Studien erforderlich.

- Mischspeichel

Die Ergebnisse früherer Studien legten dar, dass die Flussrate von stimuliertem sowie unstimuliertem Mischspeichel bei nicht medizierten, gesunden Erwachsenen keinen wesentlichen Veränderungen durch den Alterungsprozess ausgesetzt ist (Heintze et al. 1983, Baum 1986). Percival et al. (1997) untersuchten mögliche Veränderungen der sIgA-Sekretionsraten im Mischspeichel von gesunden Erwachsenen im Alter zwischen 20 und über 80 Jahren. Die Autoren konnten für Mischspeichel keine signifikante Reduktion der sIgA-Sekretionsraten ermitteln. Im Gegensatz dazu publizierten Challacombe et al. (1995) bei einem ähnlichen Patientenkollektiv in der ältesten Gruppe über 80 Jahre für Mischspeichel signifikant verminderte sIgA-Sekretionsraten. Miletic et al. (1996) untersuchten Speichelfluß und sIgA-Sekretionsraten im Ruhe-Mischspeichel bei jüngeren (20-30 Jahre) und älteren Personen (60-80 Jahre). Sie berichteten ebenfalls über eine signifikante Reduzierung von Speichelfluss und Sekretionsraten bei den älteren Probanden im Vergleich zur jüngeren Probandengruppe. Die Autoren der beiden letztgenannten Studien halten ihre Ergebnisse insofern für wichtig, als dass dies konsequenterweise zu einer inadäquaten Protektion von Schleimhautoberflächen führt. Daraus wiederum resultiert bei älteren Menschen eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Infektionen des oberen Respirationstraktes.

5.1.7. Geschlechtsabhängigkeit der sIgA-Sekretionsrate

- Parotis- & Submandibularisspeichel

Über geschlechtsabhängige Veränderungen der Sekretionsrate beim PS sowie SMS konnten in der uns zugänglichen Literatur keine Daten ermittelt werden.

- Mischspeichel

Parvinen & Larmas (1982) untersuchten Paraffin-stimulierte Flussraten im Mischspeichel bei 642 nicht medizierten, gesunden Erwachsenen. In Übereinstimmung mit einer weiteren Studie (Baum 1986) war die Flussrate bei Männern geringfügig höher als bei Frauen, was die Autoren auf die im allgemeinen geringere Anzahl der kleinen Mundspeicheldrüsen beim weiblichen Geschlecht zurückführten. Die Tendenz zu verringerten Flussraten verstärkte sich bei postmenopausalen Frauen, was ebenfalls mit anderen Veröffentlichungen (Baum 1981, Heintze et al. 1983) in Einklang stand. Berücksichtigt man, dass Flussraten und sIgA-Konzentrationen negativ korreliert sind, so decken sich diese Berichte mit unseren eigenen Ergebnissen über höhere sIgA-Spiegel bei Frauen.

5.1.8. Sekretionsraten vs. Konzentrationsangaben

Von verschiedenen Autoren (Chandler et al. 1974, Stone et al. 1987) wurde postuliert, dass die sIgA-Sekretionsrate ein besseres Maß für die Darstellung der Speicheldrüsenfunktion sei als die Verwendung von sIgA-Konzentrationen, weil es die individuelle Speichelflussrate berücksichtige. Jemmott & McClelland (1989) entgegneten jedoch, dass die Ermittlung von sIgA-Konzentrationen in Stressituationen bei unterschiedlichen Studien zu allgemein homogenen Ergebnissen geführt hätten. Weiterhin argumentierten diese Autoren, dass in Belastungssituationen aufgrund der negativen Korrelation zwischen

Speichelflussrate und sIgA-Konzentration eine geringere Speichelproduktion und somit höhere sIgA-Konzentrationen zu erwarten seien. Dies aber hätten die Autoren in vielen Studien gerade nicht beobachten können.

Farnè et al. (1992) zogen aufgrund ihrer eigenen Studien über Beziehungen zwischen psychosozialen Variablen und sIgA-Konzentrationen die Schlussfolgerung, dass es keine empirische oder logische Begründung gibt, ein anderes Messverfahren als die Bestimmung von sIgA-Konzentrationen im Mischspeichel für die Beurteilung der Schleimhautimmunität anzuwenden.

Im Sinne der Vereinheitlichung und nicht zuletzt auch deshalb, weil Konzentrationsangaben gebräuchliche Parameter zur Erstellung von Normalwertetabellen sind, wurden für die vorliegende Studie die sIgA-Konzentrationen bestimmt.

5.1.9. Gesamt-sIgA vs. spezifisches sIgA

Stone et al. (1987) publizierten, dass die Messung von Gesamt-sIgA als solches kein gutes Maß für die Immunkompetenz darstellt. Die Autoren schlugen hingegen ein Verfahren zur Stimulation von sIgA mittels Gabe eines oral applizierten Antigens (Kaninchen-Albumin) vor. Abhängiges Maß ist demnach die spezifische Antikörperproduktion. Jemmott & McClelland (1989) entgegneten, dass die Ermittlung von Gesamt-sIgA bevorzugt werden sollte, da hierbei alle spezifischen Antikörper enthalten wären. Außerdem könne man aus der Konzentration eines von tausenden spezifischen sIgA-Antikörpern nicht notwendigerweise auf die Konzentration eines anderen spezifischen Antikörpers schließen.

In der hier vorgelegten Arbeit wurden die Konzentrationen des Gesamt-sIgA verwendet, da dies eine bessere Beurteilung der allgemeinen lokalen Immunkompetenz erlaubt.

5.2. Diskussion der Ergebnisse

5.2.1. Altersabhängigkeit von sIgA

Es besteht die weit verbreitete Ansicht, dass die nachlassende humorale Immunabwehr bei älteren Menschen Ausdruck des Alterungsprozesses ist (Tenovuo 1992). Damit verbunden ist eine zunehmende Empfindlichkeit gegenüber Infektionskrankheiten sowie eine erhöhte Krebsinzidenz bei älteren Personen (Challacombe et al. 1995). Es ist jedoch schwierig, aufgrund anderer Einflussfaktoren wie die Einnahme von Medikamenten, natürliche altersspezifische Effekte festzulegen. Die auffallend hohe Streubreite der sIgA-Konzentrationen in der hier vorgelegten Studie, vor allem im Mischspeichel, könnte auf pathologischen, umweltbedingten, ernährungsspezifischen und anatomischen Faktoren (Tenovuo 1992) oder auf dem Zahnstatus (Grönblad & Lindholm 1987) basieren. Etliche Probanden waren Zigarettenraucher oder zeigten aus anderen Gründen eine allgemein schlechte Mundhygiene. Die älteren Teilnehmer trugen oft eine Zahnteil- oder -vollprothese.

- Parotis- & Submandibularisspeichel

Aguirre et al. (1987) verzeichneten für drei Altersgruppen zwischen 20 und 85 Jahren in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Smith et al. (1987) und Challacombe et al. (1995) keine statistisch signifikanten Unterschiede der sIgA-Konzentrationen im PS.

Die Ergebnisse unserer eigenen Studie zeigen ebenfalls eine fehlende Altersabhängigkeit im PS, darüber hinaus auch im SMS. Dies lässt vermuten, dass sowohl die Gl. parotis als auch die Gll. submandibularis/sublingualis, trotz deren Involution von ca. 30-40% im Laufe des Lebens, ihre Funktion bei gesunden älteren Menschen in gewissem Maße aufrechterhalten.

- Mischspeichel

Bereits in einer frühen Arbeit von Wagner et al. (1978) wurde postuliert, dass sIgA im Mischspeichel im Gegensatz zu Serum-IgA nicht altersabhängig ist. Allerdings wurden in dieser Studie nur Probanden bis einschließlich 55 Jahre untersucht. Über ältere Personen wurden keine Aussagen gemacht. Auch Grönblad & Lindholm (1987) kamen zu dem Ergebnis, dass es keinen altersbedingten Rückgang der sIgA-Konzentrationen im Speichel gibt. Miletic et al. (1996) untersuchten Ruhe-Mischspeichel bei jüngeren (20-30 Jahre) und älteren Personen (60-80 Jahre), konnten jedoch ebenfalls keine wesentlichen Veränderungen beobachten. Diese Befunde sind deshalb überraschend, weil im allgemeinen die Immunkompetenz mit zunehmendem Alter abnimmt. Erwähnenswert ist hierbei auch, dass bei älteren Menschen generell eine geringere Anzahl an Peyer-Plaques sowie an Lymphfollikeln zu finden ist. Außerdem ergibt sich bei dieser Bevölkerungsschicht eine stärkere Bakterienbesiedlung im Mund- und Rachenbereich, die Schleimhäute imponieren oft blass und trocken (Tenovuo 1992).

Schließlich lassen alle diese Phänomene mit zunehmendem Alter verringerte sIgA-Konzentrationen vermuten. Einige Autoren veröffentlichten jedoch signifikant höhere sIgA-Konzentrationen bei älteren Menschen im Vergleich zu jüngeren Erwachsenen. Challacombe et al. (1995) untersuchten insgesamt 116 gesunde Probanden in vier Altersgruppen von 20 bis über 80 Jahren, die keinerlei Medikamente einnahmen. Für Mischspeichel waren signifikant gestiegene sIgA-Werte in der ältesten Gruppe über 80 Jahre zu verzeichnen. Übereinstimmend berichteten frühere Studien (Finkelstein et al. 1984, Russell et al. 1990), dass relativ gesunde, geriatrische Probanden einen größeren sIgA-Gehalt im Speichel aufwiesen als jüngere Erwachsene. Diese Veröffentlichungen stehen in Einklang mit unseren eigenen Ergebnissen, wonach sowohl Männer

als auch Frauen im Speichel eine mit fortschreitendem Alter signifikante Zunahme der sIgA-Konzentrationen zeigen. Personen über 80 Jahre konnten in der vorliegenden Arbeit allerdings nicht in die Untersuchungen miteinbezogen werden.

Aufgrund dieser Feststellungen könnte man zu der Annahme verleitet werden, dass die sIgA-Antwort im Schleimhaut-assoziierten Immunsystem durch zunehmendes Alter eben keiner Schwächung unterliegt, sondern gerade bei bestimmten Abwehrleistungen von besonderer kompensatorischer Bedeutung für den Schutz der mukosalen Oberflächen bei älteren Menschen sein kann. Jedoch muss hierbei ebenfalls berücksichtigt werden, dass Aberrationen in der Immunglobulin-Synthese im Alter zunehmen und ineffektive IgA-Bruch-Fragmente vermehrt beobachtet werden. Dies kann dazu führen, dass fälschlicherweise zu hohe sIgA-Spiegel ermittelt werden (Challacombe et al. 1995). Folglich bedeuten ansteigende sIgA-Konzentrationen nicht notwendigerweise, dass diese Altersgruppe auch eine suffiziente allgemeine Immunfunktion besitzt.

- Altersabhängigkeit von spezifischem sIgA

Die Tatsache, dass die sIgA-Konzentrationen bei älteren Personen erhöht sind, hat nicht konsequenterweise auch eine ausreichende Antikörperreaktion gegenüber spezifischen Pathogenen zur Folge. Smith et al. (1987) konnten zeigen, dass die Fähigkeit zur effektiven spezifischen sIgA-Produktion gegenüber Streptococcus mutans- oder Poliovirus-Antigenen bei den über 65-jährigen signifikant vermindert war. Die Fähigkeit zur Opsonierung gegen Candida albicans war bei Personen über 70 Jahren ebenfalls beträchtlich vermindert im Vergleich zu jungen Erwachsenen mit ähnlichen Gesamt-sIgA-Konzentrationen (Tenovuo 1992). Dies könnte zumindest teilweise die erhöhte Prävalenz oraler Candidiasis unter der älteren Bevölkerung erklären.

Da aber das gesamte Gebiet der sIgA-Forschung durch konträre Aussagen gekennzeichnet ist, verwundert es nicht, dass auch hierzu gegenteilige Ergebnisse vorliegen. Percival et al. (1997) untersuchten mögliche Veränderungen der sIgA-Konzentrationen im Parotis- und Mischspeichel bei gesunden Erwachsenen zwischen 20 und über 80 Jahren. Mit zunehmendem Alter zeigte sich eine Erhöhung der spezifischen sIgA-Werte gegen *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* und *Actinomyces viscosus*, sowohl für Parotis- als auch für Mischspeichel, bei signifikant erhöhten Werten in der höchsten Altersgruppe über 80 Jahre. Es ist deshalb erforderlich, diese widersprüchlichen Aussagen in weiteren Studien zu konkretisieren.

- Altersveränderungen in den Subklassen sIgA₁ & sIgA₂

Ein weiterer, wichtiger Aspekt bezüglich der erhöhten sIgA-Werte im Alter ist die Unterscheidung von sIgA₁ und sIgA₂. Ventura (1991) untersuchte die Verteilung von sIgA₁ und sIgA₂ bei jüngeren (25-38 Jahre) und älteren (61-78 Jahre) Probanden. Bei letzteren lag das sIgA vorwiegend als sIgA₁ vor. Dagegen waren die Spiegel von sIgA₂, welches sich durch seine besondere Resistenz gegenüber Protease-bildenden Bakterien auszeichnet, niedriger im Vergleich zu den jüngeren Erwachsenen, bei insgesamt normalen Gesamt-sIgA-Spiegeln. Diese Resultate deuten darauf hin, dass die verminderte sIgA₂-Sekretion eine nicht zu unterschätzende Auswirkung der Altersdegeneration von Schleimhautgewebe bei älteren Menschen darstellt. Zumindest teilweise könnte dieser Umstand die verschlechterte mukosale Immunabwehr und die damit verbundene erhöhte Inzidenz von URTI während des Alterungsprozesses erklären.

Allerdings beziehen sich diese Befunde lediglich auf die Verhältnisse im Mischspeichel. Weiterführende Untersuchungen zur Altersabhängigkeit von sIgA sollten deshalb auch für Parotis- und Submandibularisspeichel die sIgA-Konzentrationen nach Subklassen

getrennt analysieren. Dadurch könnten auch bei diesen Speichelarten eventuelle altersabhängige Veränderungen im Verhältnis beider Subklassen zueinander aufgedeckt werden. Dies war in der vorliegenden Arbeit nicht möglich, da dies den Umfang der Studie überschritten hätte.

5.2.2. Geschlechtsabhängigkeit von sIgA

- PS

Bezüglich des Parotisspeichels konnten Gómez et al. (1993) nachweisen, dass die sIgA-Konzentrationen bei jungen Frauen während des gesamten Menstruationszyklus signifikant höher waren als bei gleichaltrigen Männern. Innerhalb des Zyklus lagen die Werte in der Follikelphase höher als in der Lutealphase, was offensichtlich auf den Einfluss von Östrogen auf die sIgA-Spiegel hindeutet. Unsere eigenen Ergebnisse ergaben jedoch für PS in keiner Altersgruppe geschlechtsabhängige Unterschiede der sIgA-Konzentrationen. Allerdings konnte die individuelle Zyklusphase zum Zeitpunkt der Speichelgewinnung in der vorliegenden Studie aufgrund des Studiendesigns keine Berücksichtigung finden.

- SMS

Für Submandibularisspeichel konnten in der uns zugänglichen Literatur keine Angaben eruiert werden. Die von uns ermittelten Ergebnisse, dass im SMS bei Männern in allen Altersstufen signifikant höhere sIgA-Werte als bei Frauen zu finden sind, könnten eventuell anatomisch bedingt sein.

- MS

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie demonstrieren signifikant erhöhte sIgA-Spiegel im MS bei Frauen aller drei Altersklassen gegenüber gleichaltrigen Männern. Sie widersprechen somit

bisherigen Veröffentlichungen, die keine signifikanten geschlechtsabhängigen Veränderungen von sIgA im Mischspeichel aufzeigen konnten (Sato 1991, Kugler et al. 1992, Hennig 1994). Allerdings ist bei diesen Studien zu kritisieren, dass die Anzahl der Probanden eher gering war und ältere Versuchsteilnehmer nicht oder nur in geringer Anzahl involviert waren. So nahmen bei Hennig (1994) insgesamt 22 Männer und 22 Frauen an der Prüfung teil, was jedoch für die Repräsentation der gesamten Altersspanne von jungen bis älteren Erwachsenen nicht ausreichen dürfte. Außerdem betrug das Höchstalter der Probanden 40 Jahre. Dadurch wurde gerade die wichtige Altersgruppe der über 50jährigen nicht in die Untersuchungen miteinbezogen.

5.3. Abschließendes Fazit

Die hier vorgelegte Studie liefert konkrete Hinweise zur Altersabhängigkeit von sIgA im Mischspeichel sowie zu dessen Geschlechtsabhängigkeit im Submandibularis- und Mischspeichel. Unsere Daten dienen als Basis zur Erstellung von Normalwertetabellen des sekretorischen Immunglobulin A. Die ermittelten Konzentrationsunterschiede bezüglich Alter und Geschlecht sollten bei zukünftigen sialochemischen Untersuchungen hinsichtlich physiologischer und pathophysiologischer Fragestellungen ihre Berücksichtigung finden. Zur Ergänzung und Konkretisierung unserer Ergebnisse sind jedoch weiterführende Studien erforderlich.

6. Zusammenfassung

Die Funktion des menschlichen Immunsystems besteht in der Abwehr insbesondere äußerer biologischer Einflüsse. Das Immunsystem der Schleimhaut stellt eine Abwehrschranke zwischen den inneren Oberflächen des Individuums und seiner äußeren Umgebung dar. Es stellt eine erste Verteidigungslinie, „first line of defense“ dar. Der auf Schleimhautoberflächen am häufigsten vorkommende Antikörper, das sekretorische Immunglobulin A (sIgA), bildet einen sogenannten „antiseptischen Anstrich“ der Schleimhaut und spielt somit eine entscheidende Rolle bei der Abwehr respiratorischer sowie intestinaler pathogener Keime.

Die unterschiedlichen Ergebnisse einer Vielzahl von Studien über sIgA-Konzentrationsänderungen in Abhängigkeit von verschiedenen Krankheiten oder im Zusammenhang mit Stress lassen keine einheitlichen Schlussfolgerungen zu. Dies hängt vor allem auf methodischer Seite zusammen mit der unterschiedlichen Art der Speichelgewinnung und der oftmals zu niedrigen Probandenanzahl. Die Probandengruppen waren schlecht vergleichbar, Alter und Geschlecht fanden nur ungenügend Berücksichtigung.

Aufgrund dieses uneinheitlichen Bildes in der Literatur über eventuelle Alters- und Geschlechtsabhängigkeiten ist es zunächst erforderlich, statistische Normalwerte für sIgA zu erarbeiten, um dann mit diesen Basiswerten relevante Daten zur verbesserten Erkennung, Bewertung und Behandlung von Speicheldrüsenerkrankungen zur Verfügung zu stellen.

In der hier vorgelegten Studie wurden die Probanden unter Berücksichtigung der Speichelart (Parotis-, Submandibularis- und Mischspeichel), des Alters (Erwachsene in drei Altersklassen) sowie

des Geschlechts in 18 Gruppen eingeteilt. Für jede Gruppe wurden jeweils 25 Speichelproben gesammelt. Die Entnahme des isolierten Parotis- bzw. Submandibularisspeichels erfolgte mit Hilfe spezieller Saugkapseln, während der Mischspeichel nach der sogenannten Spuckmethode gewonnen wurde. Diese Arten der Speichelgewinnung sind einfach durchzuführen und stellen für die Probanden keine Belastung dar.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten in Übereinstimmung mit früheren Studien für Männer und Frauen im Parotis- wie auch im Submandibularisspeichel keine signifikanten altersabhängigen Unterschiede.

Bei den Männern ergab sich für Mischspeichel eine mit fortschreitendem Alter deutliche Zunahme der sIgA-Konzentrationen. Daraus resultierten signifikant höhere Werte in der Gruppe der 26-50jährigen Männer im Vergleich zur Gruppe der 18-25jährigen. Ebenfalls signifikant erhöht waren die Werte der Männer über 50 Jahre verglichen mit der Gruppe der 26-50jährigen. Die über 50jährigen Männer zeigten annähernd dreifach höhere Werte und somit höchst signifikant ansteigende sIgA-Spiegel im Vergleich zur Gruppe der 18-25jährigen.

Für die Frauen ergab sich im Mischspeichel eine höchst signifikante Zunahme der sIgA-Konzentrationen in der Gruppe der Frauen über 50 Jahre sowohl im Vergleich zur Gruppe der 18-25jährigen als auch im Vergleich zur Gruppe der 26-50jährigen.

Bezüglich der Geschlechtsabhängigkeit konnte der Vergleich der sIgA-Konzentrationen im Parotisspeichel in keiner Altersstufe signifikante Unterschiede aufdecken.

Für Submandibularisspeichel wurden bei Männern in allen Altersstufen signifikant höhere sIgA-Werte ermittelt, verglichen mit

den jeweils gleichaltrigen Frauen. Andererseits lagen die sIgA-Spiegel im Mischspeichel bei Frauen der Altersklassen 26-50 J. sowie >50 J. signifikant höher im Vergleich zu den Werten der entsprechenden männlichen Altersklassen. Für die Gruppe der 18-25jährigen Frauen zeigte sich eine hoch signifikante Zunahme der sIgA-Konzentrationen gegenüber den Werten der gleichaltrigen Männer.

Die in dieser Studie vorgelegten Daten dienen als Basis zur Erstellung von Normalwertetabellen des sIgA. Die ermittelten alters- und geschlechtsabhängigen Konzentrationsunterschiede sollten bei zukünftigen sialochemischen Untersuchungen hinsichtlich physiologischer und pathophysiologischer Fragestellungen ihre Berücksichtigung finden. Zur Ergänzung und Konkretisierung unserer Ergebnisse sind jedoch weiterführende Studien erforderlich.

7. Literatur

Abbas A.K., Lichtman A.H. & Pober J.S. (1996) *Immunologie* (Hrsg.: Abbas A.K.; dtsh. Übers.: Stadler B.M. & Hess M.) **2. Aufl.**, Verlag Hans Huber, Bern-Göttingen-Toronto-Seattle, 282-286.

Aguirre A., Levine M.J., Cohen R.E. & Tabak L.A. (1987) Immunochemical quantitation of alpha-amylase and secretory IgA in parotid saliva from people of various ages. *Arch Oral Biol* **32**, 297-301.

Akimoto T., Kumai Y., Akama T., Hayashi E., Murakami H., Soma R., Kuno S. & Kono I. (2003) Effects of 12 months of exercise training on salivary secretory IgA levels in elderly subjects. *Br J Sports Med* **37**, 76-79.

Anil S., Remani P., Beena V.T., Nair R.G. & Vijayakumar T. (1995) Immunoglobulins in the saliva of diabetic patients with periodontitis. *Ann Dent* **54**, 30-33.

Annie C.L. & Groer M. (1991) Childbirth stress. An immunologic study. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* **20**, 391-397.

Aufricht C., Tenner W., Salzer H.R., Khoss A.E., Wurst E. & Herkner K. (1992) Salivary IgA concentration is influenced by saliva collection method. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* **30**, 81-83.

Baum B.J. (1981) Evaluation of stimulated parotid saliva flow rate in different age groups. *J Dent Res* **60**, 1292-1296.

Baum B.J. (1986) Salivary gland function during aging. *Gerodontology* **2**, 61-64.

Bjerke K. & Brandtzaeg P. (1990) Terminally differentiated human intestinal B cells. IgA and IgG subclass-producing immunocytes in the distal ileum, including peyer's patches, compared with lymph nodes and palatine tonsils. *Scand J Immunol* **32**, 61-67.

Bosch J.A., Ring C., de Geus E.J.C., Veerman E.C.I. & Amerongen A.V.N. (2002) Stress and secretory immunity. *Int Rev Neurobiol* **52**, 213-253.

Brandtzaeg P. (1971) Human secretory immunoglobulins-VII: Concentrations of parotid IgA and other secretory proteins in relation to the rate of flow and duration of secretory stimulus. *Arch Oral Biol* **16**, 1295-1310.

Brandtzaeg P., Halstensen P.S., Kett K., Krajci P., Kvale D., Rognum T.O., Scott H. & Sollid L.M. (1989) Immunobiology and immunopathology of human gut mucosa: humoral immunity and intraepithelial lymphocytes. *Gastroenterology* **97**, 1562-1584.

Brandtzaeg P. (1995) Molecular and cellular aspects of the secretory immunoglobulin system. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [C]* **103**, 1-19.

Brandtzaeg P., Farstad I.N., Haraldsen G. & Jahnsen F.L. (1998) Cellular and molecular mechanisms for induction of mucosal immunity. *Dev Biol Stand* **92**, 93-108.

Brandtzaeg P., Farstad I.N. & Haraldsen G. (1999) Regional specialization in the mucosal immune system: primed cells do not always home along the same track. *Immunol Today* **20**, 267-277.

Bristow M., Hucklebridge F.H., Clow A. & Evans P.D. (1997) Modulation of secretory immunoglobulin A in saliva in relation to an acute episode of stress and arousal. *J Psychophysiol* **11**, 248-255.

Buts J.-P., Bernasconi P., Dive C. & Vaerman J.-P. (1990) Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. *Dig Dis Sci* **35**, 251-256.

Calvo M., Grob K., Martin F., Bertoglio J., Neira J., Arellano P. & Anido M. (1988) Evaluation of secretory IgA in childhood respiratory diseases. *Allergol Immunopathol (Madr)* **16**, 157-161.

Challacombe S.J., Percival R.S. & Marsh P.D. (1995) Age-related changes in immunoglobulin isotypes in whole and parotid saliva and serum in healthy individuals. *Oral Microbiol Immunol* **10**, 202-207.

Chandler D.C., Silverman M.S., Lundbland R.L. & McFall W.T. (1974) Human parotid IgA and periodontal disease. *Arch Oral Biol* **19**, 733-735.

Childers N.K., Powell W.D., Tong G., Kirk K., Wiatrak B. & Michalek S.M. (2001) Human salivary immunoglobulin and antigen-specific antibody activity after tonsillectomy. *Oral Microbiol Immunol* **16**, 265-269.

Cohen S., Tyrrell D.A.J. & Smith A.P. (1991) Psychological stress and susceptibility to the common cold. *N Engl J Med* **325**, 606-612.

Corthesy B. & Kraehenbuhl J.-P. (1999) Antibody-mediated protection of mucosal surfaces. *Curr Top Microbiol Immunol* **236**, 93-111.

Crawford J.M., Taubman M.A. & Smith D.J. (1975) Minor salivary glands as a major source of secretory immunoglobulin A in the human oral cavity. *Science* **190**, 1206-1209.

Czerkinsky C., Sun J.-B. & Holmgren J. (1999) Oral tolerance and anti-pathological vaccines. *Curr Top Microbiol Immunol* **236**, 79-91.

Dawes C. & Ong B.Y. (1973) Circadian rhythms in the flow rate and proportional contribution of parotid to whole saliva volume in man. *Arch Oral Biol* **18**, 1145-1153.

Defrance T., Vanberoliet B., Brière F., Durand I., Rousset F. & Banchereau J. (1992) Interleukin 10 and transforming growth factor β cooperate to induce anti-CD40-activated naive human B cells to secrete immunoglobulin A. *J Exp Med* **175**, 671-682.

Deinzer R. & Schüller N. (1998) Dynamics of stress-related decrease of salivary immunoglobulin A (sIgA): relationship to symptoms of the common cold and studying behavior. *Behav Med* **23**, 161-169.

Deinzer R., Kleineidam C., Stiller-Winkler R., Idel H. & Bachg D. (2000) Prolonged reduction of salivary immunoglobulin A (sIgA) after a major academic exam. *Int J Psychophysiol* **37**, 219-232.

Depreval C., Hadam M.R. & Mach B. (1989) Regulation of genes for HLA class II antigens in cell lines from patients with severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* **318**, 1295-1300.

Dodds M.W.J., Yeh C.-K. & Johnson D.A. (2000) Salivary alterations in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and hypertension. *Community Dent Oral Epidemiol* **28**, 373-381.

Elkon K.B. (1997) Apoptosis and autoimmunity. *J Rheumatol* **24**, 6-7.

Fanger M.W., Goldstine S.N. & Shen L. (1983) The properties and role of receptors for IgA on human leukocytes. *Ann NY Acad Sci* **409**, 552-562.

Farnè M., Boni P., Gnugnoli D. & Corallo A. (1992) The effect of daily hassles on salivary IgA: Experimental evidence. *Boll Soc It Biol Sper* **68**, 409-412.

Finkelstein M.S., Tanner M. & Freedman M.L. (1984) Salivary and serum IgA levels in a geriatric outpatient population. *J Clin Immunol* **4**, 85-91.

Freier S., Eran M. & Faber J. (1987) Effect of cholecystokinin and of its antagonists, of atropine and of food on the release of immunoglobulin A and immunoglobulin G specific antibodies in the rat intestine. *Gastroenterology* **93**, 1242-1246.

Gasior-Chrzan B. & Falk E. (1992) Lysozyme and IgA concentrations in serum and saliva from psoriasis patients. *Acta Derm Venerol* **72**, 138-140.

Gauldie J., Richards C. & Lamontagne L. (1983) Fc receptors for IgA and other immunoglobulins on resident and activated alveolar macrophages. *Mol Immunol* **20**, 1029-1037.

Gómez E., Ortiz V., Saint-Martin B., Boeck L., Díaz-Sánchez V. & Bourges H. (1993) Hormonal regulation of the secretory IgA (sIgA)

system: estradiol and progesterone-induced changes in sIgA in parotid saliva along the menstrual cycle. *Am J Reprod Immunol* **29**, 219-223.

Green R.G. & Green M.L. (1987) Relaxation increases salivary immunoglobulin A. *Psychol Rep* **61**, 623-629.

Grimoud A.M., Arnaud C., Dellamonica P. & Lodter J.P. (1998) Salivary defence factor concentrations in relation to oral and general parameters in HIV positive patients. *Eur J Oral Sci* **106**, 979-985.

Grönblad E.A. & Lindholm K. (1987) Salivary immunoglobulin concentrations in predentate and edentulous mouths. *Scand J Dent Res* **95**, 27-31.

Heft M.W. & Baum B.J. (1984) Unstimulated and stimulated parotid salivary flow rate in individuals of different ages. *J Dent Res* **63**, 1182-1186.

Hein W.R. (1999) Organization of mucosal lymphoid tissue. *Curr Top Microbiol Immunol* **236**, 1-15.

Heintze U., Birkhed D. & Björn H. (1983) Secretion rate and buffer effect of resting and stimulating whole saliva as a function of age and sex. *Swed Dent J* **7**, 227-238.

Hennig J. (1994) *Die psychobiologische Bedeutung des sekretorischen Immunglobulin A im Speichel* (Hrsg.: Hennig J.) Waxmann Verlag GmbH, Münster-New York, 24-45 & 153-155.

Hewson-Bower B. & Drummond P.D. (1996) Secretory immunoglobulin A increases with and without upper respiratory tract infections. *J Dev Behav Pediatrics* **17**, 311-316.

Hodel L. & Grob P.J. (1993) Psyche und Immunität. *Schweiz Med Wochenschr* **123**, 2323-2341.

Hucklebridge F., Clow A.E. & Evans P. (1998) The relationship between salivary secretory immunoglobulin A and cortisol. Neuroendocrine response to awakening and the diurnal cycle. *Int J Psychophysiol* **31**, 69-76.

Janeway C.A. Jr., Travers P., Walport M. & Shlomchik M. (2002) *Immunologie* (Hrsg.: Janeway C.A.; dtsh. Übers.: Beginnen K., Seidler L. & Haüßer-Siller I.) **5. Aufl.**, Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg-Berlin, 437-454.

Janoski M.L. & Kugler J. (1987) Relaxation, imagery, and neuro-immunomodulation. *Ann NY Acad Sci* **496**, 722-730.

Jemmott J.B. 3rd, Borysenko J.Z., Borysenko M., McClelland D.C., Chapman R., Meyer D. & Benson H. (1983) Academic stress, power motivation, and decrease in secretion rate of salivary secretory immunoglobulin A. *Lancet* **1**, 1400-1402.

Jemmott J.B. 3rd & Magloire K. (1988) Academic stress, social support, and secretory immunoglobulin A. *J Pers Soc Psychol* **55**, 803-810.

Jemmott J.B. 3rd & McClelland D.C. (1989) Secretory IgA as a measure of resistance to infectious disease: comments on Stone, Cox, Valdimarsdottir, and Neale. *Behav Med* **15**, 63-71.

Kaetzel C.S., Robinson J.K., Chintalacharuvu K.R., Vaerman J.P. & Lamm M.E. (1991) The polymeric immunoglobulin receptor (secretory component) mediates transport of immune complexes across epithelial cells: A local defense function for IgA. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**, 8796-8800.

Kelleher R.S., Hann L.E., Edwards J.A. & Sullivan D.A. (1991) Endocrine, neural, and immune control of secretory component output by lacrimal gland acinar cells. *J Immunol* **146**, 3405-3412.

Kemeny D.M. (1994) *ELISA: Anwendung des enzyme linked immunosorbent assay im biologisch/medizinischen Labor.* (Hrsg.: Kemeny D.M.; dtsh. Übers.: Luppä H.) **1.Aufl.**, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-Jena-New York, 87-88.

Kirstilä V., Häkkinen P., Jentsch H., Vilja P. & Tenovuo J. (1998) Longitudinal analysis of the association of human salivary antimicrobial agents with caries increment and cariogenic micro-organisms: a two-year cohort study. *J Dent Res* **77**, 73-80.

Kobayashi K., Fujiama Y., Hagiwara K. & Kondoh H. (1987) Resistance of normal serum IgA and secretory IgA to bacterial IgA proteases: evidence for the presence of enzyme-neutralizing antibodies in both serum and secretory IgA, and also in serum IgG. *Microbiol Immunol* **31**, 1097-1106.

Koshland M.E. (1985) The coming of age of the immunoglobulin J-chain. *Ann Rev Immunol* **3**, 425-453.

Kugler J., Hess M. & Haake D. (1992) Secretion of salivary immunoglobulin A in relation to age, saliva flow, mood states, secretion of albumin, cortisol, and catecholamines in saliva. *J Clin Immunol* **12**, 45-49.

Kugler J., Reintjes K.F., Tewes V. & Schedlowski M. (1996) Competition stress in soccer coaches increases salivary immunoglobulin A and salivary cortisol concentrations. *J Sports Med Phys Fitness* **36**, 117-120.

Lagerlöf F. & Oliveby A. (1994) Caries-protective factors in saliva. *Adv Dent Res* **8**, 229-238.

Lamm M.E. (1998) Current concepts in mucosal immunity IV. How epithelial transport of IgA antibodies relates to host defense. *Am J Physiol* **274**, 614-617.

Lehner T., Cardwell J.E. & Clarry E.D (1967) Immunoglobulins in saliva and serum in dental caries. *Lancet* **1**, 1294-1297.

Lenander-Lumikari M. & Loimaranta V. (2000) Saliva and Dental Caries. *Adv Dent Res* **14**, 40-47.

Levy Y., Dueymes M., Pennec Y.L., Shoenfeld Y. & Youinou P. (1994) IgA in Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol* **12**, 543-551.

Lindh E. & Bjork I. (1977) Relative rates of the non-covalent and covalent binding of secretory component to an IgA dimer. *Acta Pathol Microbiol Scand [C]* **85**, 449-452.

Lowe G., Urquhart J., Greenman J. & Lowe G. (2000) Academic stress and secretory immunoglobulin A. *Psychol Rep* **87**, 721-722.

Lowe G., Bland R., Greenman J., Kirkpatrick N. & Lowe G. (2001) Progressive muscle relaxation and secretory immunoglobulin A. *Psychol Rep* **88**, 912-914.

Lydyard P. & Grossi C. (1995) Das lymphatische System. In: Roitt I.M., Brostoff J. & Male D.K (Hrsg.) *Kurzes Lehrbuch der Immunologie* (dtsh. Übers.: Harabacz I.) **3. Aufl.**, Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York, 32-42.

Mackinnon L.T., Chick T.W., van As A. & Tomasi T.B. (1987) The effect of exercise on secretory and natural immunity. *Adv Exp Med Biol* **216A**, 869-876.

Madri J.A. & Graesser D. (2000) Cell migration in the immune system: the evolving inter-related roles of adhesion molecules and proteinases. *Dev Immunol* **7**, 103-116.

Mandel I.D. (1989) The role of saliva in maintainig oral homeostasis. *J Am Dent Assoc* **119**, 298-304.

Marcotte H. & Lavoie M.C. (1998) Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol Mol Biol Rev* **62**, 71-109.

Martin R.A. & Dobbin J.P. (1988) Sense of humor, hassles, and immunoglobulin A: Evidence for a stress-moderating effect of humor. *Int J Psychiatry Med* **18**, 93-105.

Mestecky J. & Russell M.W. (1986) IgA-Subclasses. *Monogr Allergy* **19**, 277-301.

Mestecky J. (1993) Saliva as a manifestation of the common mucosal immune system. *Ann NY Acad Sci* **694**, 184-194.

Mestecky J. & Russell M.W. (1997) Immunoglobulins and mechanisms of mucosal immunity. *Biochem Soc Trans* **25**, 457-462.

Meyer P. & Werner E. (1994) Sialochemische Untersuchungen an den isolierten Sekreten der großen Kopfspeicheldrüsen. *Laryngorhinootologie* **73**, 472-477.

Meyer P., Werner E. & Bankau A. (1997) Quantitative Untersuchungen am Kallikrein-Prokallikrein-System im Mischspeichel beim oralen Plattenepithelkarzinom. *HNO* **45**, 7-10.

Meyer P., Werner E. & Polzin A. (1998) Zur Kallikreinkonzentration im Vollspeichel nach Kontrazeptivgabe oder postmenopausaler Hormonsubstitution. *Laryngorhinootologie* **77**, 21-24.

Meyer P. & Zechel T. (2001) Quantitative Untersuchungen an den Enzymen Lysozym und Phosphohexoseisomerase im Mischspeichel beim oralen Plattenepithelkarzinom. *HNO* **49**, 626-629.

Miletic I.D., Schiffman S.S., Miletic V.D. & Sattely-Miller E.A. (1996) Salivary IgA secretion rate in young and elderly persons. *Physiol Behav* **60**, 243-248.

Mostov K.E. & Blobel G. (1982) A transmembrane precursor of secretory component, the receptor for transcellular transport of polymeric immunoglobulins. *J Biol Chem* **257**, 11816-11819.

Mostov K.E., Friedlander M. & Blobel G. (1984) The receptor for transepithelial transport of IgA and IgM contains multiple immunoglobulin-like domains. *Nature* **308**, 37-43.

Mostov K.E. (1994) Transepithelial transport of immunoglobulins. *Annu Rev Immunol* **12**, 63-84.

Mowat A.M. (1987) The regulation of immune responses to dietary protein antigens. *Immunol Today* **8**, 95-98.

Mowat A.M. & Viney J.L. (1997) The anatomical basis of intestinal immunity. *Immunol Rev* **156**, 145-166.

Müller F., Froland S.S., Hvatum M., Radl J. & Brandtzaeg P. (1991) Both IgA subclasses are reduced in parotid saliva from patients with AIDS. *Clin Exp Immunol* **83**, 203-209.

Müller F., Holberg-Petersen M., Rollag H., Degré M., Brandtzaeg P. & Froland S.S. (1992) Nonspecific oral immunity in individuals with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* **5**, 46-51.

Nair P.N.R. & Schroeder H.E. (1986) Duct-associated lymphoid tissue (DALT) of minor salivary glands and mucosal immunity. *Immunology* **57**, 171-180.

Neutra M.R., Frey A. & Kraehenbuhl J.-P. (1996) Epithelial M cells: gateways for mucosal infection and immunization. *Cell* **86**, 345-348.

Neutra M.R. (1999) M cells in antigen sampling in mucosal tissues. *Curr Top Microbiol Immunol* **236**, 17-32.

Norhagen G., Engström P.E., Hammarström L., Smith C.I.E. & Nord C.E. (1990) The microbial flora of saliva and faeces in individuals with selective IgA deficiency and common variable immunodeficiency. *Microb Ecol* **3**, 269-275.

Norrby R. (1993) Clinical aspects on bacterial infections in the upper respiratory tract. *Scand J Infect Dis Suppl* **39**, 14-18.

Oerthel F. & Tuschl S. (1995) *Statistische Datenanalyse mit dem Programmpaket SAS* (Hrsg.: Schlittgen R.), Oldenbourg Verlag, München-Wien, 10-12 & 133-141.

Otsuki T., Sakaguchi H., Hatayama T., Takata A., Hyodoh F., Tsujita S., Ueki A. & Morimoto K. (2004) Secretory IgA in saliva and academic stress. *Int J Immunopathol Pharmacol* **17**, 45-48.

Park S.J. & Tokura H. (1999) Bright light exposure during the day-time affects circadian rhythms of urinary melatonin and salivary immunoglobulin A. *Chronobiol Int* **16**, 359-371.

Parvinen T. & Larmas M. (1982) Age dependency of stimulated salivary flow rate, pH, and lactobacillus and yeast concentrations. *J Dent Res* **61**, 1052-1055.

Pedersen W., Schubert M., Izutsu K., Mersai T. & Truelove E. (1985) Age-dependent decreases in human submandibular gland flow rates as measured under resting and post-stimulation conditions. *J Dent Res* **64**, 822-825.

Pedersen B.K. & Toft A.D. (2000) Effects of exercise on lymphocytes and cytokines. *Br J Sports Med* **34**, 246-251.

Percival R.S., Marsh P.D. & Challacombe S.J. (1997) Age-related changes in salivary antibodies to commensal oral and gut biota. *Oral Microbiol Immunol* **12**, 57-63.

Peter H.-H. (1996) Primäre Immundefekte. In: Peter H.-H. & Pichler W.J. (Hrsg.) *Klinische Immunologie 2.Aufl.*, Urban & Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore, 195-218.

Petrides P.E. & Ansorge S. (2003) Aufbau und Vorkommen von Antikörpern. In: Löffler G. & Petrides P.E. (Hrsg.) *Biochemie und Pathobiochemie 7. Aufl.*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1135-1139.

Prabhala R.H. & Wira C.R. (1991) Cytokine regulation of the mucosal immune system: in vivo stimulation by interferon-gamma of secretory component and immunoglobulin A in uterine secretions and proliferation of lymphocytes from spleen. *Endocrinology* **129**, 2915-2923.

Proctor G.B. & Carpenter G.H. (2001) Chewing stimulates secretion of human salivary secretory immunoglobulin A. *J Dent Res* **80**, 909-913.

Pyne D.B., McDonald W.A., Gleeson M., Flanagan A., Clancy R.L. & Fricker P.A. (2001) Mucosal immunity, respiratory illness, and competitive performance in elite swimmers. *Med Sci Sports Exerc* **33**, 348-353.

Radl J., Schuit H.R.E., Mestecky J. & Hijmans W. (1974) The origin of monomeric and polymeric forms of IgA in man. *Adv Exp Med Biol* **45**, 57-65.

Rantonen P.J.F. & Meurman J.H. (2000) Correlation between total protein, lysozyme, immunoglobulins, amylase, and albumin in stimulated whole saliva during daytime. *Acta Odontol Scand* **58**, 160-165.

Raux M., Finkielsztejn L., Salmon-Céron D., Bouchez H., Excler J.L., Dulioust E., Grouin J.M., Sicard D. & Blondeau C. (1999)

Comparison of the distribution of IgG and IgA antibodies in serum and various mucosal fluids of HIV type 1-infected subjects. *AIDS Res Hum Retroviruses* **15**, 1365-1376.

Rudney J.D. (1989) Relationships between human parotid saliva lysozyme, lactoferrin, salivary peroxidase and secretory immunoglobulin A in a large sample population. *Arch Oral Biol* **34**, 499-506.

Russell M.W., Reinholdt J. & Kilian M. (1989) Anti-inflammatory activity of human IgA antibodies and their Fab alpha fragments: inhibition of IgG-mediated complement activation. *Eur J Immunol* **19**, 2243-2249.

Russell M., Prince S., Lighthart G., Mestecky J. & Radl J. (1990) Comparison of salivary and serum antibodies to common environmental antigens in elderly, edentulous and normal adult subjects. *Aging Immunol Infect Dis* **2**, 275-286.

Sabbadini E. & Berczi I. (1995) The submandibular gland: A key organ in the neuro-immuno-regulatory network? *Neuroimmunomodulation* **2**, 184-202.

Sato K. (1991) Enzyme-linked immunosorbent assay of sIgA in whole saliva of healthy subjects and patients with oral diseases. *Bull Tokyo Med Dent Univ* **38**, 9-18.

Schaefer M.E., Rhodes M., Prince S., Michalek S.M. & McGhee J.R. (1977) A plastic intraoral device for the collection of human parotid saliva. *J Dent Res* **56**, 728-733.

Scott J. (1977) Quantitative age changes in the histological structure of human submandibular salivary glands. *Arch Oral Biol* **22**, 221-227.

Seyfarth M. & Herbst E.W. (1996) Schleimhautimmunität. In: Peter H.-H. & Pichler W.J. (Hrsg.) *Klinische Immunologie* **2. Aufl.**, Urban & Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore, 75-81.

Smith D.J., Taubman M.A. & Ebersole J.L. (1987) Ontogeny and senescence of salivary immunity. *J Dent Res* **66**, 451-456.

Smith D.J., Taubman M.A. & Ali-Salaam P. (1991) Immunoglobulin isotypes in human minor gland saliva. *J Dent Res* **70**, 167-170.

Smith D.J. & Taubman M.A. (1992) Ontogeny of immunity to oral microbiota in humans. *Crit Rev Oral Biol Med* **3**, 109-133.

Spangler (1997) Psychological and physiological responses during an exam and their relation to personality characteristics. *Psychoneuroendocrinology* **22**, 423-441.

Sreebny L.M. & Valdini A. (1987) Xerostomia. A neglected symptom. *Arch Intern Med* **147**, 1333-1337.

Stern J.E., Gardner S., Quirk D. & Wira C.R. (1992) Secretory immune system of the male reproductive tract: effects of dihydrotestosterone and estradiol on IgA and secretory component levels. *J Reprod Immunol* **22**, 73-85.

Stiller-Winkler R., Hadnagy W. & Kubica T. (1998) Speichel als alternatives Untersuchungsmaterial zur Bestimmung immunologischer Parameter in epidemiologischen Studien? *Hyg Umweltmed* **201**, 63-64.

Stone A.A., Cox D.S., Valdimarsdottir H. & Neale J.M. (1987) Secretory IgA as a measure of immunocompetence. *J Hum Stress* **13**, 136-140.

Streckfus C.F., Welsh S. & Strahl R.C. (1991) Diminution of parotid IgA secretion in an elderly black population taking antihypertensive medications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* **71**, 50-54.

Strobel S. & Mowat A.M. (1998) Immune responses to dietary antigens: oral tolerance. *Immunol Today* **19**, 173-181.

Sullivan D.A. & Allansmith M.R. (1985) Hormonal influence on the secretory immune system of the eye: androgen modulation of IgA levels in tears of rats. *J Immunol* **134**, 2978-2982.

Sullivan D.A. & Allansmith M.R. (1987) Hormonal influence on the secretory immune system of the eye: endocrine interactions in the

control of IgA and secretory component levels in tears of rats. *Immunology* **60**, 3337-3343.

Sweet S.P., Rahman D. & Challacombe S.J. (1995) IgA subclasses in HIV disease: dichotomy between raised levels in serum and decreased secretion rates in saliva. *Immunology* **86**, 556-559.

Tenovuo J. (1992) Oral defense factors in the elderly. *Endod Dent Traumatol* **8**, 93-98.

Tenovuo J. (1998) Antimicrobial function of human saliva - how important is it for oral health? *Acta Odontol Scand* **56**, 250-256.

Truelove E.L., Bixler D. & Merritt A.D. (1967) Simplified method for collection of pure submandibular saliva in large volumes. *J Dent Res* **46**, 1400-1403.

Tsujita S. & Morimoto K. (1999) Secretory IgA in saliva can be a useful stress marker. *Environ Health Prev Med* **4**, 1-8.

Turner M. & Owen M. (1995) Struktur der Antikörper. In: Roitt I.M., Brostoff J. & Male D.K (Hrsg.) *Kurzes Lehrbuch der Immunologie* (dtsh. Übers.: Harabacz I.) **3. Aufl.**, Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York, 45-48.

Underdown B.J. & Dorrington K.J. (1974) Studies on the structural and conformational basis for the relative resistance of serum and secretory immunoglobulin A to proteolysis. *J Immunol* **112**, 949-959.

Van Rood Y.R., Bogaards M., Goulmy E. & Houwelingen H.C. (1993) The effects of stress and relaxation on the in vitro immune response in man: A meta-analytic study. *J Behav Med* **16**, 163-181.

van Vlasselaer P., Punnonen J. & de Vries J.E. (1992) Transforming growth factor- β directs IgA switching in human B cells. *J Immunol* **148**, 2062-2067.

Vaupel P. (2000) Funktionen des Magen-Darm-Trakts. In: Schmidt R.F., Thews G. & Lang F. (Hrsg.) *Physiologie des Menschen* **28. Aufl.**, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 814-815.

Ventura M.T. (1991) Evaluation of IgA1-IgA2 levels in serum and saliva of young and elderly people. *Allergol Immunopathol (Madr)* **19**, 183-185.

Wagner V., Wagnerova M. & Kriz J. (1978) Levels of secretory immunoglobulin A, lysozyme (muramidase), and albumin in healthy adults of different ages. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* **22**, 354-360.

Walker L.G., Walker M.B., Heys S.D., Ogston K., Miller I., Hutcheon A.W., Sarkar T.K. & Eremin O. (1999) The psychological, clinical and pathological effects of relaxation training and guided imagery during primary chemotherapy. *Br J Cancer* **80**, 262-268.

Wallwork J.C. & McFarlane H. (1976) The sIgA system and hypersensitivity in patients with cystic fibrosis. *Clin Allergy* **6**, 349-358.

Warner R.H., Stevens F.M. & McCarthy C.F. (1999) Salivary sIgA and sIgA₁ in coeliac disease, inflammatory bowel disease and controls. *Ir J Med Sc* **168**, 33-35.

Weiner H.L. (1997) Oral tolerance: immune mechanisms and treatment of autoimmune disease. *Immunol Today* **19**, 335-343.

Westhofen M. (2001) Speicheldrüsen - anatomische und physiologische Grundlagen. In: Westhofen M. (Hrsg.) *Hals-Nasen-Ohrenheilkunde systematisch 1. Aufl.*, UNI-MED Verlag AG, Bremen-London-Boston, 416-418.

Widerström L. & Bratthall D. (1984) Increased IgA levels in saliva during pregnancy. *Scand J Dent Res* **92**, 33-37.

Wira C.R. & Rossoll R.M. (1991) Glucocorticoid regulation of the humoral immune system. Dexamethasone stimulation of secretory component in serum, saliva, and bile. *Endocrinology* **128**, 835-842.

Wu X. & Jackson S. (2002) Plasma and salivary IgA subclasses and IgM in HIV-1-infected individuals. *J Clin Immunol* **22**, 106-115.

Yasumori R. (1990) Measurement of secretory IgA in salivary juice and the localization of secretory IgA in duodenal mucosa in the patients with IgA nephropathy. *Jap J Nephrol* **32**, 171-181.

Yavuzylmaz E., Yumak Ö., Akdoganli T., Yamalik N., Özer N., Ersoy F. & Yeniay I. (1996) The alterations of whole saliva constituents in patients with diabetes mellitus. *Aust Dent J* **41**, 193-197.

Young J.A., Cook D.I., Lingard J.M., Van Lennep E.W. & Wegman E. (1996) Funktionen des Magen-Darm-Trakts. In: Klinker R. & Silbernagel S. (Hrsg.) *Lehrbuch der Physiologie* **2. Aufl.**, Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York, 387-433.

Zeier H., Brauchli P. & Joller-Jemelka H.I. (1996) Effects of work on immunoglobulin A and cortisol in air traffic controllers. *Biol Psychol* **42**, 413-423.

8. Abkürzungsverzeichnis

α -MSH	- alpha-Melanozyten stimulierendes Hormon
ADCC	- antibody dependent cellular cytotoxicity
Ak	- Antikörper
APC	- antigen-presenting cells
BALT	- bronchus-associated lymphoid tissue
cAMP	- cyclic adenosine monophosphate
CD	- clusters of differentiation
CMIS	- common mucosal immune system
DAB	- Deutsches Arzneibuch
DALT	- duct-associated lymphoid tissue
dIgA	- dimeres Immunglobulin A
ELISA	- enzyme-linked immunosorbent assay
Fab	- fragment antigen binding
FAE	- Follikel-assoziiertes Epithel
Fc	- fragment crystalline (frz.)
GALT	- gut-associated lymphoid tissue
Gl.	- Glandula
HIV	- human immunodeficiency virus
IFN- γ	- Interferon-gamma
Ig	- Immunglobulin
IL	- Interleukin
JC	- joining chain
kDa	- Kilo-Dalton
MALT	- mucosa-associated lymphoid tissue
M-Zellen	- Mikrofalten-Zellen (microfold cells)
MS	- Speicheldrüse
NK-Zellen	- Natürliche Killer-Zellen (natural killer cells)

pIgR	- polymeric immunoglobulin receptor
POD	- Peroxidase
PS	- Parotisspeichel
S	- Svedberg (Sedimentationsgeschwindigkeit)
SAS	- Statistical Analysis System
SC	- secretory component
sIgA	- sekretorisches Immunglobulin A
SMS	- Submandibularis-/Sublingualisspeichel
TGF- β	- transforming growth factor-beta
TH-Zellen	- T-Helferzellen
TMB	- Tetramethylbenzidin
TNF- α	- Tumornekrosefaktor-alpha
URTI	- upper respiratory tract infection
VIP	- Vasoaktives Intestinales Peptid

9. Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

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

Greifswald, 05.09.2005

Martin Roland Zimmermann

10. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Martin Roland Zimmermann
Geburtsdatum: 11. Juli 1963
Geburtsort: Orsingen, Baden-Württemberg
Familienstand: geschieden seit 03. Aug. 1988
Eltern: Paul & Rita Zimmermann
Geschwister: Margot, Günther, Veronika, Klemens & Monika

Schulische Ausbildung

1969 – 1973 Grundschule Orsingen
1973 – 1979 Realschule Stockach
1994 – 1997 Berufl. Abendgymnasium Radolfzell

Beruflicher Werdegang

1979 – 1986 Bundesbahnbeamter, Bf Radolfzell
1986 – 1987 Wehrdienst, Stetten am kalten Markt
1987 – 1992 Fensterbauer, Fa Martin, Eigeltingen
1992 – 1997 Schilder- und Lichtreklamehersteller, Fa. Reichelt, Orsingen

Medizinstudium

ab Okt.1997 Ernst–Moritz–Arndt-Univ. Greifswald
14.Mrz.2001 Physikum
21.Mrz.2002 1. Staatsexamen
23.Mrz.2004 2. Staatsexamen
Apr.2004 – Mrz.2005 Praktisches Jahr, Univ. Greifswald
16.Jun.2005 3.Staatsexamen, Gesamtnote: gut

Ärztliche Weiterbildung

seit 01.Aug.2005 Assistenzarzt am Krankenhaus Radolfzell/Bodensee, Chirurgische Abteilung

Greifswald. 05.09.2005 Martin Roland Zimmermann

11. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen herzlich danken, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein Dank gilt insbesondere:

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. habil. W. Hosemann, der mir als Direktor der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten, Kopf- und Halschirurgie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald die Durchführung dieser Arbeit ermöglicht hat.

Herrn Doz. Dr. rer. nat. habil. P. Meyer für die Überlassung des Themas sowie für die umfassende Betreuung und fachliche Beratung während der wissenschaftlichen Ausarbeitung.

Frau MTA S. Wolter für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der labortechnischen Analysen.

Herrn Dr. rer. nat. B. Jäger vom Institut für Biometrie und Medizinische Informatik der Universität Greifswald für wertvolle Hinweise bei der Anwendung des Statistikprogrammes.