

Klinische Kooperationsgruppe Umweltdermatologie und Allergologie
HelmholtzZentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und
Umwelt (GmbH)/TUM

ZAUM - Zentrum Allergie und Umwelt an der
Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie
der Technischen Universität München

(Leitung: Univ.-Prof. Dr. H. Behrendt)

**Wirkung von Umweltschadstoffen auf die Freisetzung von
Pollen-assoziierten Lipidmediatoren (PALMs) und Allergenen aus Birkenpollen
in verschiedenen Regionen Deutschlands**

Sabrina Klaus

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. H. Behrendt
2. Priv.-Doz. Dr. M. W. Mempel

Die Dissertation wurde am 13.08.2008 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 24.09.2008 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|----|
| 1 | Einleitung | 8 |
| 1.1 | Allergie: Geschichte und Definition | 8 |
| 1.2 | Hypothesen zur Erklärung der zunehmenden Prävalenz von Allergien | 10 |
| 1.3 | Wirkung von Umweltschadstoffen auf Allergenträger und das menschliche Immunsystem | 12 |
| 1.3.1 | Einfluss von Schadstoffbelastung auf die Entwicklung von Allergien | 12 |
| 1.3.2 | Epidemiologie von Allergie und Atopie | 14 |
| 1.3.3 | Effekte von Umweltschadstoffen auf das menschliche Immunsystem..... | 16 |
| 1.3.4 | Schadstoffe als aggravierende Faktoren für das Immunsystem | 16 |
| 1.3.5 | Effekte von Schadstoffen auf den Allergenträger | 17 |
| 1.4 | Palynologie | 18 |
| 1.4.1 | Pollen als Allergenträger..... | 18 |
| 1.4.2 | Physiologische Vorgänge der Pflanzenbefruchtung | 23 |
| 1.5 | Beeinflussung der Allergenfreisetzung durch Umweltfaktoren..... | 24 |
| 1.6 | Bioverfügbarkeit von Allergenen | 25 |
| 1.7 | Birkenpollenflug | 26 |
| 1.8 | Pollenmessung mit Hilfe der Burkard-Falle..... | 27 |
| 1.9 | Das Hauptallergen aus Birkenpollen: Bet v 1 | 28 |
| 1.10 | Leukotrien B ₄ | 30 |
| 1.11 | Prostaglandin E ₂ | 32 |
| 1.12 | Pollen-assoziierte Lipidmediatoren (PALMs)..... | 33 |
| 2 | Zielsetzung der Arbeit | 35 |
| 3 | Material und Methoden | 37 |
| 3.1 | Probanden | 37 |
| 3.2 | Methoden..... | 37 |
| 3.2.1 | Pollenflugmessung | 37 |
| 3.2.2 | Sammlung von Birkenkätzchen und Standortcharakterisierung | 38 |
| 3.2.3 | Pollengewinnung aus Birkenkätzchen | 42 |
| 3.2.4 | Bestimmung von Gesamtprotein und Majorallergen Bet v 1 aus Birkenpollenüberständen | 44 |
| 3.2.4.1 | Herstellung von Pollenextrakten | 44 |
| 3.2.4.2 | Bestimmung von Gesamtprotein | 44 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 3.2.4.3 | Bestimmung des Hauptallergens der Birke - Bet v 1 | 45 |
| 3.2.5 | Bestimmung von PALM in Pollenüberständen..... | 45 |
| 3.2.6 | Qualifizierung und Quantifizierung des Hauptallergens der Birke Bet v 1 mit Hilfe der Elektrophorese | 46 |
| 3.3 | Rasterelektronenmikroskopie | 47 |
| 3.4 | Prick-Test | 48 |
| 3.5 | Statistische Auswertung | 48 |
| 3.6 | Studienplanung (Chemikalien, Verbrauchsmaterial und Geräte)..... | 49 |
| 3.6.1 | Chemikalien..... | 49 |
| 3.6.2 | Käufliche Enzymimmunoassay-KITs | 50 |
| 3.6.3 | Verbrauchsmaterial..... | 50 |
| 3.6.4 | Geräte..... | 50 |
| 4 | Ergebnisse | 53 |
| 4.1 | Vergleich des Pollenfluges in Nordrhein-Westfalen (Bocholt, Bochum, Borken, Duisburg, Wesel), München und Leipzig..... | 53 |
| 4.2 | Birkenpollensammlung, Standortcharakterisierung und Weiterverarbeitung | 61 |
| 4.3 | Bioverfügbarkeit von Majorallergen der Birke Bet v 1 | 64 |
| 4.4 | Bioverfügbarkeit von PALM _{LTB4} | 67 |
| 4.5 | Bioverfügbarkeit von PALM _{PGE2} | 70 |
| 4.6 | Bioverfügbarkeit von Gesamtprotein..... | 73 |
| 4.7 | Vergleich zwischen Bet v 1- und PALM _{LTB4} -Konzentrationen 2002/2003 | 75 |
| 4.8 | Korrelation von PALM _{LTB4} -Freisetzung und Verkehrsbelastung | 78 |
| 4.9 | Korrelation zwischen NO ₂ und PALM _{LTB4} | 79 |
| 4.10 | Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen | 81 |
| 4.11 | Immunoblot-Untersuchungen | 87 |
| 4.12 | Prick-Test | 94 |
| 5 | Diskussion | 98 |
| 6 | Zusammenfassung | 110 |
| 7 | Literaturverzeichnis | 113 |
| 8 | Danksagung | 146 |
| 9 | Lebenslauf | 147 |

Abkürzungen

| | |
|--------------------------------|---|
| BLT1 | hoch-affiner Rezeptor für LTB ₄ |
| BLT2 | niedrig-affiner Rezeptor für LTB ₄ |
| BSA | Bovines Serumalbumin |
| °C | Grad Celsius |
| C | Kohlenstoff |
| CO | Kohlenstoffmonoxid |
| CO ₂ | Kohlenstoffdioxid |
| Dtt | Dithiothreitol |
| ELISA | Enzyme Linked Immunosorbent Assay |
| H ₂ SO ₄ | Schwefelsäure |
| HPETE | Hydroperoxyeicosatetraensäure |
| HETE | Hydroxyeicosatetraensäure |
| HMDS | Hexamethyldisilazan |
| IFN-γ | Interferon gamma |
| Ig | Immunglobulin |
| IL-2 | Interleukin-2 |
| IL-4 | Interleukin-4 |
| IL-10 | Interleukin-10 |
| IL-12 | Interleukin-12 |
| kD | Kilodalton |
| kV | Kilovolt |
| LTA ₄ | Leukotrien A ₄ |
| LTB ₄ | Leukotrien B ₄ |
| LTC ₄ | Leukotrien C ₄ |
| m ³ | Kubikmeter |
| NaCl | Natriumchlorid |
| NaHCO ₃ | Natriumbikarbonat |
| NO | Stickstoffoxid |
| NO ₂ | Stickstoffdioxid |
| NRW | Nordrhein-Westfalen |
| O ₃ | Ozon |
| PALMs | Pollen-assoziierte Lipidmediatoren |

| | |
|------------------|------------------------------------|
| PBS | “Phosphate buffered saline” |
| PGE ₂ | Prostaglandin E ₂ |
| PHA | Phytohemagglutinin |
| PID | Pollenfluginformationsdienst |
| PM | “Particulate Matter” |
| PMN | Polymorphonukleäre Leukozyten |
| PRP | Pathogenesis-related Protein |
| RAST | Radio-Allergo-Sorbent-Test |
| SDS | Natriumdodecylsulfat |
| SDS-Page | SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese |
| SO ₂ | Schwefeldioxid |
| TEMED | Tetramethylethylen-diamin |
| TRIS | Tri-(hydroxymethyl)-aminomethan |
| TSP | Total Suspended Particulate |
| VOC | Volatile organic compounds |

Folgende Ergebnisse dieser Dissertation sind bereits publiziert, in Vorbereitung bzw. als Vortrag/Poster vorgestellt:

Kasche A., Klaus S., Thiel M., Buters J., Weichenmeier I., Kuhlbusch T., Behrendt H., Krämer U., Traidl-Hoffmann C.

Impact of natural and anthropogenetic factors on the bioavailability of PALMs, total protein and Bet v 1 from birch pollen

Environ Health Perspect, Manuskript in progress

Buters J., Kasche A., Weichenmeier I., Schober W., Klaus S., Traidl-Hoffmann C., Menzel A., Huss-Marp J., Krämer U., Behrendt H.

Year-to-Year Variation in release of Bet v 1 Allergen from birch pollen: evidence for geographical differences between West and South Germany

Int Arch Allergy Immunol 2008; 145:122-130

und auf nationalen und internationalen Kongressen vorgestellt worden:

Kasche A., Krämer U., Klaus S., Buters J., Thiel M., Weichenmeier I., Traidl-Hoffmann C., Ring J., Behrendt H.

Gibt es Unterschiede in der proinflammatorischen Potenz von Birkenpollen in West- und Süddeutschland?

Allergo J Jan. 2003; 40 (Abstract)

Kasche A., Krämer U., Klaus S., Buters J., Kuhlbusch T., Weichenmeier I., Thiel M., Traidl-Hoffmann C., Ring J., Behrendt H.

Do pollen associated lipid mediators (PALMs) explain prevalence rates of allergy in different German regions: Results from the GINI-Plus study?

XXII. Congress Academy of Allergology and Clinical Immunology, 2003, Paris, (Posterabstract)

Kasche A., Klaus S., Thiel M., Buters J., Weichenmeier I., Ring J., Traidl-Hoffmann C., Behrendt H., Krämer U.

Charakterisierung von standort- und umweltspezifischen Einflussfaktoren auf die Bioverfügbarkeit von Pollen-assoziierten Lipidmediatoren (PALMs) und Allergen aus Birkenpollen

Allergo J Jan. 2004; 54 (Abstract)

Kasche A., Klaus S., Thiel M., Buters J., Weichenmeier I., Krämer U., Behrendt H.,
Traidl-Hoffmann C.

Release of LTB₄-like pollen associated lipid mediators (PALM_{LTB4}) from birch pollen
in different air polluted areas in West and Southern Germany

Allergo J Feb. 2005 ; 35 (Abstract)

1 Einleitung

1.1 Allergie: Geschichte und Definition

Allergien sind wahrscheinlich nicht neu, sondern schon seit Jahrtausenden existent. In der antiken Literatur sind entsprechende Symptome, wie allergisches Asthma bronchiale, Urtikaria, Ekzem und Rhinokonjunktivitis beschrieben.

Der erste dokumentierte Fall einer Allergie könnte der von Pharao Menes gewesen sein, der in der ersten Dynastie, etwa 2600 vor Chr. an einem Wespenstich verstorben sein soll [Müller 1988]. Neueste Studien zeigen jedoch Zweifel auf und diskutieren, dass die als tödlicher Wespenstich interpretierten Hieroglyphen auch auf den Tod durch ein Nilpferd oder ein Krokodil hinweisen könnten [Krombach 2004, Vetter 2000].

1819 beschrieb Bostock (1773-1846), der selbst Allergiker war, eine „periodisch auftretende Affektion der Augen und der Brust“ und nannte diese Beobachtung *Catarhus aestivus* oder *Sommerkatarrh*. Er bezeichnete ihn als Heufieber, da er durch „die Ausdünstung von Heu“ ausgelöst würde.

1873 wies Blackley (1820-1900) in einem Selbstversuch nach, dass Pollenkörner Heuschnupfensymptomatik auslösen können, indem er Pollen in die Haut seines Armes ritzte bzw. in Nase und Augen gab, worauf er mit Konjunktivitis, Rhinitis und Asthma reagierte. Mit klebrigen Objektträgern konnte er Pollen fixieren, zählen und mit Hilfe eines Heißluftballons Pollen noch in einer Höhe von 500 Metern nachweisen [Blackley 1873, Gioulekas 2004, Subiza 2001].

In einem Experiment entdeckten Paul Portier und Charles Richet die Anaphylaxie, als der Hund „Neptun“, den sie gegen Quallengift immunisieren wollten, nach wiederholter Gabe des Quallengiftes mit 1/10 der Initialdosis verstarb. Sie bezeichneten diese Reaktion als Gegenteil der Prophylaxe, als Anaphylaxie [May 1985, Rojido 2001].

Maurice Arthus (1862-1945) zeigte 1902, dass anaphylaktische Reaktionen per se nicht durch toxische Substanzen ausgelöst werden. Er injizierte Pferdeserum in Kaninchen, woraufhin sich keine Reaktion zeigte. Nach erneuter Injektion kam es dann zu einer starken lokalen Reaktion. Das Gewebe wurde entzündet und teilweise nekrotisch. Diese lokale Anaphylaxie wurde deswegen „Arthus-Reaktion“ genannt [Rojido 2001].

Die beiden Wiener Pädiater Clemens von Pirquet (1874-1929) und Bela Schick (1877-1967) beschrieben bei Kindern, denen wiederholt Streptokokken-Antitoxin-Serum aus Pferden injiziert wurde, die sogenannte Serumkrankheit mit „Fieber, geschwollenen Drüsen und Nesselsucht“ [Rojido 2001].

1919 berichtete Maximilian Ramirez von einem Mann, der bei einer Kutschfahrt im Central Park in New York zum ersten Mal in seinem Leben einen Asthmaanfall bekommen hatte. Zwei Tage zuvor hatte er eine Bluttransfusion erhalten. Das Blut stammte von einem Spender, der eine positive Hautreaktion auf Pferdeepithelien gezeigt hatte. Dies war die erste schriftlich festgehaltene Beobachtung, wonach Asthma durch Serumfaktoren ausgelöst werden konnte.

1921 experimentierten Carl Prausnitz (1876-1963) und Heinz Küstner (1897-1963) in einem Selbstversuch. Prausnitz injizierte sich Serum seines Fisch-allergischen Kollegen Küstner in den Arm. Am folgenden Tag wurde an dieser Stelle ein Fischextrakt injiziert. Prausnitz zeigte daraufhin das erste Mal in seinem Leben eine Hautreaktion auf Fisch [Gleich 1997, Prausnitz 1921].

1963 wurden Immunreaktionen von Coombs und Gell in vier Typen eingeteilt, die bis heute einen festen Bestandteil in der Allergologie haben.

Typ I umfasst die IgE-vermittelten Reaktionen, die z.B. die allergische Rhinokonjunktivitis, das allergische Asthma bronchiale, die Urtikaria und die Nahrungsmittelallergie beinhalten. Unter Vermittlung zellständiger IgE-Antikörper kommt es zur Freisetzung von verschiedenen Mediatoren wie Histamin und Leukotrienen aus Basophilen und Mastzellen.

Die Typ II-Reaktion entsteht durch Reaktion von zellwandständigen Antigenen mit zirkulierenden IgG-Antikörpern und daraus folgender Zytolyse (z.B. allergische Agranulozytose, Thrombozytopenie).

Die Typ III-Reaktion löst durch Bildung von zirkulierenden oder gewebsständigen Immunkomplexen die Serumkrankheit und allergische Vaskulitis aus.

Die Typ IV-Reaktion wird durch sensibilisierte T-Lymphozyten mit Aktivierung von Makrophagen und mononukleären Zellen, sowie deren Wanderung an den Ort der Antigenbelastung bzw. zu unspezifischen Organen, wie z.B. der Haut, was eine Entzündungsreaktion hervorruft, vermittelt. Diese Entzündungsreaktion kann sich klinisch im Bild eines Kontaktekzems oder eines Arzneimittelexanthems zeigen, die 12-72 Stunden nach Antigenkontakt auftreten.

Die neu vorgeschlagenen Reaktionstypen V und VI beschreiben eine granulomatöse Reaktion z.B. nach Injektion von Fremdsubstanzen und eine stimulierende oder neutralisierende Reaktion spezifischer Antikörperwirkung, wie z.B. bei Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse [Ring 2004, Roitt 1997].

1967 wurde das lange gesuchte Reagin als Immunglobulin E vom japanischen Forscherehepaar K. und T. Ishizaka aufgedeckt. Im gleichen Jahr entdeckten in Uppsala H. Bennich und SGO Johansson unabhängig von den Ishizakas Immunglobulin E [Ishizaka 1966, Johansson 1967].

Bei einem Treffen zusammen mit D. Stanworth (UK) stellten die beiden Forscherteams 1968 fest, dass sie dieselbe Immunglobulinklasse untersucht hatten und gaben ihr den Namen „IgE“ [Gleich 1997].

Der Begriff „Allergie“ wurde 1906 von Clemens von Pirquet geprägt. Er bezeichnete Allergie als eine „veränderte Reaktionsfähigkeit des Organismus“ [von Pirquet 1906]. Aber nicht nur Überempfindlichkeitsreaktionen, sondern auch abgeschwächte immunologische Reaktionslagen fasste er unter diesem Begriff zusammen [Silverstein 2000]. Das Wort „Allergie“ nahm er aus dem griechischen („allos“ = „anders, verändert“ und „ergos“ = „Arbeit, Mühe“).

Heutzutage wird Allergie definiert als angeborene oder erworbene spezifische Änderung des Immunsystems gegenüber körperfremden, eigentlich unschädlichen Substanzen und nach Ring als „spezifische Änderung der Immunitätslage im Sinne einer krankmachenden Überempfindlichkeit“ [Ring 2004].

In den letzten Jahrzehnten hat die Prävalenz von allergischen Krankheiten auf der ganzen Welt zugenommen. So hat die Allergiesymptomatik auch im naturwissenschaftlichen Bereich immer mehr an Bedeutung gewonnen.

1923 beschrieben Coca und Cooke das familiär gehäufte Auftreten von allergischem Asthma und allergischer Rhinitis zusammen mit positiven Hauttestreaktionen auf Allergene, wie z.B. Pollen. Sie bezeichneten dieses Phänomen als Atopie [Coca und Cooke 1923, Gleich 1997].

1.2 Hypothesen zur Erklärung der zunehmenden Prävalenz von Allergien

In Deutschland leiden 12 Millionen an allergischem Schnupfen und 4 Millionen an Bronchialasthma. 24 bis 32 Millionen Deutsche sind allergisch vorbelastet [Rehbinder

1999]. Dies macht einen Anteil von etwa 21-38% der deutschen Bevölkerung aus [Herrmann-Kunz 2001]. Europaweit sind es 5-54% der Bevölkerung [D'Amato 1998]. In den letzten Jahren hat die Prävalenz von Erkrankungen, die dem atopischen Formenkreis zugeschrieben werden, zugenommen. Der Grund für den Anstieg von atopischen Erkrankungen ist nicht bekannt, es gibt aber Hypothesen [Behrendt 2002], die soziale, immunologische und umweltbezogene Gesichtspunkte umfassen [Behrendt 1997].

So können Faktoren wie steigendes Alter der Mutter, höherer sozialer Status [Ring 1999], kleinere Familien [Schäfer 1999], die wachsende soziale Mobilität [D'Amato 1998], sowie vermehrtes und verändertes Auftreten neuer Allergene [Holgate 1999], genetische Disposition [Küster 1990] und eine vermehrte Beobachtung, sowie eine verbesserte Diagnostik eine Rolle spielen [Ring 2001, Ring 2004].

Ein weiterer Gesichtspunkt für die stetig steigende Allergieprävalenz stellt auch die Exposition von Kindern gegenüber Tabakrauch dar. So konnte in einer epidemiologischen Studie von Krämer et al. gezeigt werden, dass Kinder, die Tabakrauch ausgesetzt sind, ein höheres Risiko haben, an einem atopischen Ekzem zu erkranken und dass genetisch prädisponierte Kinder auch ein höheres Risiko besitzen, eine Sensibilität gegenüber Hausstaubmilben zu entwickeln [Krämer 2004].

Große Attraktivität erlangte in den letzten Jahren die sogenannte Urwald- oder Hygienehypothese. Danach hat die Stimulierung des Immunsystems durch verbesserte Hygiene mit immer weniger Infektionen stark abgenommen. Kinder, die auf dem Bauernhof aufwachsen, leiden seltener an atopischen Erkrankungen [Braun-Fahrländer 2002, Radon 2004, Riedler 2000, Strachan 1999].

Bakterielle Infektionen scheinen präventiv gegenüber atopischen Erkrankungen zu wirken, während virale Infektionen positiv mit Atopie korrelieren [Resch 2004], wobei eine epidemiologische Studie von Shaheen et al. protektive Effekte einer Maserninfektion gegenüber Atopien beschrieb [Shaheen 1996]. Außerdem wird vermutet, dass der Besuch einer Kindertagesstätte zu einer signifikanten Reduzierung von Atopie und Asthma führt [Krämer 1999] und eine hohe Geschwisterzahl die Entwicklung atopischer Erkrankungen hemmt [Strachan 1989].

1.3 Wirkung von Umweltschadstoffen auf Allergenträger und das menschliche Immunsystem

1.3.1 Einfluss von Schadstoffbelastung auf die Entwicklung von Allergien

Ein weiterer Grund für die steigende Prävalenz von atopischen Erkrankungen könnte die Umweltverschmutzung sein. So fand sich bei der Stadtbevölkerung eine höhere Sensibilisierungsrate als bei der Landbevölkerung [Schäfer 2005].

Umweltschadstoffe werden in zwei Kategorien eingeteilt. Zu den primären Schadstoffen zählt man diejenigen, die in die Atmosphäre ausgestoßen werden, wie SO₂, NO, NO₂, flüchtige organische Verbindungen (VOC), große Partikel und CO. Als sekundäre Schadstoffe bezeichnet man Stoffe, die in der Atmosphäre durch chemische oder physikalische Prozesse entstehen, wie Ozon oder feine Partikel < 1 µm [Elstner 1995].

Weiterhin lässt sich „Umweltverschmutzung“ in eine Typ I- und eine Typ II- Klassifikation einteilen.

Typ I – Verschmutzung (klassischer Smog „London-type“)

Die Typ I - Verschmutzung ist charakterisiert durch primäre Umweltschadstoffe wie SO₂, Partikel TSP (Total Suspended Particulate) und atmosphärischen Schwebestaub, die überwiegend in der Außenluft emittiert werden, wie man sie in Ländern Osteuropas häufig findet [Behrendt 1995, Behrendt 1997].

Typ II – Verschmutzung („moderner Smog“)

Die Typ II -Verschmutzung ist charakterisiert durch primäre und sekundäre Umweltschadstoffe wie Stickstoffoxid (NO_x), flüchtige organische Verbindungen (VOC), Ozon (O₃) und Particulate Matter (PM 2,5).

Charakteristisch für die Typ II-Verschmutzung ist die gleichzeitige Anwesenheit von primären und sekundären Schadstoffen, beide jeweils entstanden in Außen- und Innenraumlufte. Diese Art der Luftverschmutzung findet man vor allem in dicht besiedelten Regionen und industrialisierten Gebieten in westlichen Ländern.

Schwefeldioxid

SO₂ ordnet man in die Familie der Schwefelgase, die entstehen, wenn Brennstoff, hauptsächlich Kohle oder Öl, während des Vorgangs des Metallschmelzens und anderen industriellen Prozessen verbrannt werden, ein [Umwelt Stickstoffoxid].

Der Grenzwert liegt hierbei in Deutschland bei 350 µg/m³ innerhalb eines Mittelungszeitraumes einer Stunde bzw. bei 125 µg/m³ innerhalb eines Mittelungszeitraumes von 24 Stunden und 20 µg/m³ pro Kalenderjahr [<http://www.env-it.de/umweltbundesamt/luftdaten/pollutant.fwd?comp=SO2>]. Im Gegensatz zu NO₂ – belasteten Gebieten findet man in Regionen, die besonders viel SO₂ in der Luft aufweisen, eine geringere Prävalenz allergischer Erkrankungen [Braback 1996, von Mutius 1994].

Stickstoffdioxid

Stickstoffdioxide (NO₂) gehören zur Familie der hochreaktiven Gase, die man als Stickstoffoxide (NO_x) bezeichnet. Sie entstehen aus nichtmobilen Quellen, wie elektrischen Versorgungsbetrieben und industriellen Anlagen oder der Kraftstoffverbrennung.

Bei NO₂ handelt es sich um einen stark oxidierenden Wirkstoff, der sich in der Luft sowohl zu Salpetersäure, als auch zu toxischen organischen Nitraten entwickelt. Zusätzlich spielt er eine große Rolle bei atmosphärischen Reaktionen, die zu Smog führen [Air Trends 1995].

In Deutschland liegt der mittlere Grenzwert für NO₂ bei 200µg/m³ innerhalb eines Mittelungszeitraumes von einer Stunde bzw. bei 40µg/m³ eines Mittelungszeitraumes von einem Kalenderjahr [<http://www.env-it.de/umweltbundesamt/luftdaten/Regulations.fwd?comp=NO2>]. In einer Studie wurde belegt, dass respiratorische nicht allergische Symptome, wie chronischer Husten, nächtlicher trockener Husten und Bronchitis mit NO₂ positiv assoziiert sind [Heinrich 2005].

Total Suspended Particulates

Zu den „Total Suspended Particulates“ gehören solide und flüssige Teilchen. Die Partikel variieren stark in ihrer Größe (bis zu 45 Mikrometern) und können in der Luft einige Sekunden, aber auch mehrere Monate verbleiben. Man hat sie weiter unterteilt in PM 10 und PM 2,5.

PM 10 bezeichnet solide oder flüssige Teilchen, die einen aerodynamischen Durchmesser unter 10 Mikrometer besitzen. Sie entstehen aus Rauch, Staub und fliegen-

der Asche und können sich über längere Zeit in der Luft aufhalten. Der Grenzwert von PM 10 liegt bei $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ innerhalb eines Mittelungszeitraumes von 24 Stunden bzw. bei $40 \mu\text{g}/\text{m}^3$ in einem Mittelungszeitraum von einem Kalenderjahr [<http://www.env-it.de/umweltbundesamt/luftdaten/pollutant.fwd?comp=PM1>]. Es besteht eine sehr starke Assoziation zwischen PM 10 – Belastung und den sogenannten respiratorischen Erkrankungen [Braun-Fahrländer 1997].

1.3.2 Epidemiologie von Allergie und Atopie

In den letzten Jahrzehnten hat die Prävalenz von allergischen Krankheiten auf der ganzen Welt zugenommen [Behrendt 1997, Behrendt 2002, Björkstén 1997, Nicolai 2003, Wüthrich 1989]. Prävalenzraten für atopische Erkrankungen liegen heutzutage weltweit zwischen 15 und 40% in der kindlichen Bevölkerung [ISAAC 1997]. In Mitteleuropa liegen die Prävalenzraten für allergisches Asthma bronchiale zwischen 7 und 10%, für allergische Rhinokonjunktivitis zwischen 15 und 20% und für das atopische Ekzem zwischen 15 und 20% [Eigenmann 2005]. 5-54% der Bevölkerung in Europa [D'Amato 1998] leiden an einer Pollenallergie, wobei in Nordeuropa der häufigste Grund für eine Pollinosis Birkenpollen und im übrigen Europa Gräserpollen sind [D'Amato 1998].

In Deutschland zeigen 22% und damit der größte Anteil aller Baumpollenallergiker allergische Reaktionen auf Birkenpollen. Die Symptomatik der allergischen Rhinokonjunktivitis zeigt sich in Niesreiz, Fließschnupfen und Tränenfluss.

Pollen können jedoch nicht nur allergische Symptome hervorrufen. In den Niederlanden zeigte eine Studie eine positive Korrelation zwischen täglichen Variationen von Pollenkonzentrationen und der Mortalität durch kardiovaskuläre oder respiratorische Erkrankungen [Brunekreef 2000].

Epidemiologische Studien haben gezeigt, dass Personen, die in verkehrsbelasteten Regionen wohnen, häufiger allergische Symptome zeigen und öfter sensibilisiert sind als solche, die nicht in diesen Gebieten leben [Behrendt 1995, Heinrich 2005, Krämer 2000]. Andere Studien belegen, dass in Regionen, die stark mit NO_2 belastet sind, die Prävalenz des Asthmas bronchiale besonders hoch ist [Hwang 2005, Timonen 1997]. In östlichen Ländern hingegen findet man überwiegend virale und bakterielle Infektionen des Respirationstraktes [Krämer 2000].

Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde eine Studie durchgeführt, die die unterschiedlichen Arten von Umweltverschmutzungen und deren Auswirkungen auf die Gesundheit von sechsjährigen Kindern in Ost- und Westdeutschland verglich.

Die Untersuchungen konzentrierten sich auf städtische und ländliche Gebiete in West- und Ostdeutschland zwischen 1991 und 1995. In der Studie, die 19.000 sechsjährige Kinder umfasste, wurden die Prävalenzen von Atemwegserkrankungen und Allergien in städtischen und ländlichen Arealen miteinander verglichen. Hierbei zeigte sich, dass Kinder aus städtischen Gebieten mehr Atemwegserkrankungen und –symptome aufzeigten, als Kinder aus ländlichen Gebieten. Sensibilisierungen gegen Pollen- sowie Hausstaubmilbenallergene waren in Westdeutschland häufiger. Die Stadt-/Landunterschiede bei infektiösen Erkrankungen und Irritationen der Atemwege in Ostdeutschland würden sich zum Teil durch die unterschiedliche Luftbelastung zwischen städtischen und ländlichen Gebieten erklären lassen. Die Luftschadstoffe, wie SO₂ und Schwebstaub waren in diesen Gebieten viel ausgeprägter als in Westdeutschland [Behrendt 1997, Krämer 1997, Krämer 1999, Krämer 2000, Krämer 2001].

Vorangegangene epidemiologische Studien haben gezeigt, dass die Prävalenz von allergischen Erkrankungen in den östlichen Ländern Europas vor 1996 geringer war als im Westen [Björkstén 1997, von Mutius 1998]. Es zeigten sich niedrigere Raten für die Prävalenz von allergischen Erkrankungen des Respirationstraktes und allergologischen Sensibilisierungen für Ostdeutschland im Gegensatz zu Westdeutschland. Die Prävalenz für Infektionen des oberen Respirationstraktes und allergische Hauterkrankungen waren hingegen in Ostdeutschland im Vergleich zu Westdeutschland deutlich erhöht.

Um die Assoziation zwischen verkehrsbedingter Luftverschmutzung und Parametern von atopischen Erkrankungen zu erkunden, untersuchte man 9-jährige Kinder, die nahe einer Hauptstraße in zwei städtischen und einem vorstädtischen Gebiet einer Stadt in Westdeutschland lebten. Es wurde eine positive Korrelation zwischen den Außenluft-NO₂-Werten und allergischer Rhinitis, Schnupfen und Sensibilisierungen gegen Pollen und Hausstaubmilben eruiert [Schäfer 1997].

Zusammenfassend kann man sagen, dass Verkehrsbelastung mit einer wachsenden Prävalenz von atopischen Erkrankungen assoziiert ist [Krämer 2000].

Mehrere Studien haben gezeigt, dass verkehrsbezogene Umweltverschmutzung in städtischen Regionen, insbesondere hohe Konzentrationen an partikulären Stoffen,

wie z.B. PM 2,5, außerdem einen adversen Effekt auf die Mortalität bei kardiovaskulären [Finkelstein 2005, Henneberger 2005] und respiratorischen Erkrankungen hat [Dockery 1993, Schencker 1993]. Bei Langzeitexposition mit starker Luftverschmutzung könnte es somit zu einer Lebensverkürzung kommen [Hoek 2005].

1.3.3 Effekte von Umweltschadstoffen auf das menschliche Immunsystem

Stickstoffdioxid (NO₂) und Dieselrußpartikel, beide von Kraftfahrzeugen emittiert, können einen Einfluss auf das Immunsystem des Menschen haben [Wüthrich 1991]. Zum einen können sie in der Sensibilisierungsphase die Allergieentwicklung fördern, auf der anderen Seite sind sie Triggerfaktoren von Symptomen bei schon bestehender Allergie [Wickman 1997].

Es konnte gezeigt werden, dass partikuläre und gasförmige Schadstoffe sowohl in den oberen, als auch den unteren Luftwegen eine zelluläre Entzündung hervorrufen können. So kann man bei Patienten mit allergischem Asthma bronchiale, aber auch bei gesunden Menschen, die Dieselabgasen ausgesetzt waren, in der Bronchiallavage eine Erhöhung von Neutrophilen, B-Zellen und Alveolarmakrophagen finden. Ähnlich hohes Ansteigen von inflammatorischen Zellen konnte auch nach Exposition mit Ozon (O₃), SO₂ und NO₂ beobachtet werden.

Es kommt hauptsächlich zu einer Vermehrung von proinflammatorischen Zytokinen, Chemokinen und Adhäsionsmolekülen.

Mäuse, die Dieselrußpartikel inhalierten, zeigten einen Anstieg der IgE – Produktion [Takafuji 1987].

Der Durchmesser von PM 2,5 beträgt weniger als 2,5 Mikrometer. Sowohl PM 10, als auch PM 2,5 können in das Lungensystem eindringen und dort respiratorische Symptome und Erkrankungen hervorrufen. Besonders betroffen sind Kinder, ältere Menschen und Patienten mit Asthma [Behrendt 1997].

1.3.4 Schadstoffe als aggravierende Faktoren für das Immunsystem

In vitro konnte ein direkter Effekt von Ozon und Schadstoffen, wie SO₂ und Dieselrußpartikeln, auf die Freisetzung von Adhäsionsmolekülen 1 und Zytokinen, wie GM-

CSF und Interleukin-8 (IL-8) aus bronchialen Epithelzellen, demonstriert werden. Außerdem konnte eine verstärkte Chemotaxis für Neutrophile und Eosinophile gezeigt werden [Saxon 2005].

In vitro konnte gezeigt werden, dass sowohl Ozon-, als auch NO₂-Exposition von Zellkulturen eine verstärkende Wirkung auf die Freisetzung von proinflammatorischen Mediatoren wie Leukotrien C₄ (LTC₄), Granulozyten, Makrophagen Kolonie (GM-CSF) und Interleukin-8 (IL-8) haben [Devalia 1997].

Bei Patienten mit atopischem Ekzem konnte nach einer vierstündigen Exposition mit Formaldehyd, einer Teilsubstanz von NO₂, eine verstärkte Dysfunktion der Hautbarriere, in Form von transepidermalem Wasserverlust, nachgewiesen werden [Eberlein-König 1998].

Es konnte gezeigt werden, dass ultrafeine Partikel in Mitochondrien größere Strukturen zerstören können, was zu oxidativem Stress führen kann [Li 2003].

Es konnte experimentell nachgewiesen werden, dass Substanzen, die Bestandteile, wie z.B. SO₂, NO₂ und O₃ von Luftverschmutzung darstellen, die IgE-Produktion aktivieren oder die Mediatorenfreisetzung modulieren können [Elstner 1995]. Schwebestäube sind fähig Mediatoren von menschlichen Basophilen und Neutrophilen freizusetzen [Behrendt 1997].

Miyamoto [Miyamoto 1997] stellte in Studien an Kaninchen und Meerschweinchen nach SO₂-Exposition einen erhöhten Antikörpertiter fest.

1.3.5 Effekte von Schadstoffen auf den Allergenträger

Umweltschadstoffe können nicht nur direkt krankmachend auf den Menschen einwirken, sondern auch indirekt auf der Ebene von Allergenträgern, wie z.B. den Pollen, Effekte mit potentieller klinischer Relevanz erzeugen. So weisen Pollen nach Kontakt mit NO₂ eine höhere Allergenität auf [Ruffin 1986]. Durch osmotischen Schock, z.B. durch Nässe, können Pollen aufbrechen. Die freigesetzten allergenen Proteine können sich dann wiederum an Schwebstäube binden [Steinsvik 1998]. Dieses Phänomen findet man vor allem in stark umweltbelasteten Gebieten [Behrendt 2001]. So können Graspollenfragmente, die an Schwebstaubpartikelfractionen gebunden und kleiner als 1 µm sind, in die unteren Atemwege gelangen [Spieksma 1990].

Andererseits können sich die Schwebstäube, genauso wie Schadstoffe, wie z.B. Cadmium, Quecksilber und Schwefel, auch an Pollen binden. Es kommt zu einer Agglomeration der Partikel an der Oberfläche der Pollen, vor allem an den Porenöffnungen [Behrendt 2001].

Die Exposition von Gräserpollen mit Extrakten aus atmosphärischen Schwebstäuben führt zu sichtbaren Veränderungen von Pollenoberfläche und Protoplasma und einer gesteigerten Proteinfreisetzung [Darsow 1992]. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Konzentration der Pollen in Gebieten mit hoher Umweltverschmutzung positiv mit SO_2 , NO, NO_2 und atmosphärischem Schwebstaub korreliert, was heißt, dass an Tagen mit hohen Emissionswerten auch hohe Pollenkonzentrationen gemessen werden konnten [Behrendt 1995, Behrendt 1997].

Eine Studie belegt, dass es bei Honiggraspollen nach Exposition mit SO_2 zu einer konzentrationsabhängigen Reduktion der Proteinfreisetzung und der negativen Korrelation zwischen relativer Luftfeuchte und dem extrahierbaren Protein kam [Huss-Marp 2000].

SO_2 , O_3 , NO_2 und NO stellen die wichtigsten pflanzentoxischen Schadstoffe in der Luft dar. Die Luftverschmutzung zeigt tagesperiodische Veränderungen, wobei morgens vor allem NO und Kohlenwasserstoffe bzw. flüchtige organische Verbindungen (VOC) freigesetzt werden, die dann mittags mit der höchsten Sonnenstrahlung zu den O_3 -Gipfeln führt [Elstner 1995].

Als primärer Angriffsort von Luftverunreinigung zählen vor allem die Lipiddoppelschicht in der Exine und die darin verankerten Proteine. Aus der Reaktion spezieller membranintegraler Proteine kommt es nicht nur zur Störung der Photosynthese, sondern auch zu Veränderungen in der Durchlässigkeit der Biomembran [Guderian 1994].

1.4 Palynologie

1.4.1 Pollen als Allergenträger

Pollen sind die häufigsten Allergenträger in der Außenluft; besonders wichtig sind Gras-, Birken- und Beifußpollen.

Die Gattung der Birke (*Betula*) umfasst etwa 48 Arten, die alle auf der Nordhalbkugel verbreitet sind. In Mitteleuropa sind vier Birkenarten beheimatet, die Hänge- oder Warzenbirke (*Betula pendula* oder *Betula verrucosa*), die Moor- oder Haarbirke (*Betula pubescens*), die Strauchbirke (*Betula humilis*) und die Zwergbirke (*Betula nana*). Die Hängebirke ist aufgrund ihrer extremen Frosthärte die am weitesten nördlich verbreitete Baumart Europas. Die Birke besiedelt Heiden, Moore, sowie lichte Laub- und Nadelwälder und ist noch auf einer Höhe von bis zu 2200 Metern zu finden. Aber auch in städtisch oder industriell geprägtem Raum wächst die Birke aufgrund ihrer hohen Resistenz gegenüber Immissionen und ihrer Fähigkeit sich selbst in kleinsten Ansammlungen von Rohboden, wie z.B. Gleisanlagen oder Schotterflächen, auszubreiten. Birken bevorzugen nährstoffarmen, sauren und feuchten Untergrund.

Hänge- und Moorbirken unterscheiden sich in Gestalt, Rinde, Zweigen und Blättern. Im Gegensatz zur Moorbirke wird die Hängebirke bis zu 35 Meter hoch. Die Moorbirke hingegen erreicht nur eine Höhe bis zu 20 Metern.

Die Rinde der Hängebirke ist weiß glänzend. Die weiße Farbe, die durch den Inhaltsstoff Betulin hervorgerufen wird, reflektiert die Strahlung und verhindert eine Überhitzung der Birken an sonnigen Standorten. Außerdem schützt das Betulin den Baum vor Tierfraß. Der Stamm der Moorbirke hat eine mattere weiße Farbe als die Hängebirke. Von der auffälligen Färbung des Stammes leitet sich auch der Name „Birke“ ab, der auf einen indogermanischen Wortstamm zurückzuführen ist, der „Hellschimmerer“ bedeutet. Die Hängebirke besitzt im Gegensatz zur Moorbirke, die spitze und keine bzw. nur wenig hängende Zweige und spitzwinklige bis waagerechte Äste hat, überhängende Zweigspitzen und meist spitzwinklig aufsteigende Äste. Die Blätter der Hängebirke sind rhombisch und lang zugespitzt geformt, die der Moorbirke rundlich-eiförmig und kurz zugespitzt. Die Wurzeln beider Birkenarten sind nur mäßig tief, aber intensiv verwurzelt. Für die Keimung ist Licht zwar nicht unbedingt notwendig, aber doch zumindest förderlich. Die Keimfähigkeit liegt bei großen Schwankungen von Baum zu Baum im Mittel bei nur etwa 10 bis 30% [Aas 2001, Schutzgemeinschaft Deutscher Wald 1999, Steinecke 2000].



Abbildung 1.: *Betula pendulans*
(Baum, Kätzchen, Stamm)



Abbildung 2.: *Betula pubescens*
(Baum, Kätzchen, Stamm)



Wichtige biologische Kennzeichen der Birken sind ihre winzigen Blüten. Männliche Blüten sind in dichten, hängenden Blütenständen, den sogenannten Kätzchen angeordnet. Die weiblichen Blüten bilden meist verholzende und aufrecht stehende Gebilde. Sie entfalten sich vor der Blattdenwicklung und stehen im Gegensatz zur männlichen Blüte in exponierter Lage.

Die Blüten bestehen aus einem zentralen Spross und zwei Sorten von Blütenblättern; in männlichen Blüten befinden sich zentral die Staubblätter, in denen die Pollen gebildet werden. In weiblichen Blüten umgeben sogenannte Fruchtblätter die Samenanlage. Die Samenanlage bildet den Fruchtknoten, der in der Narbe endet.

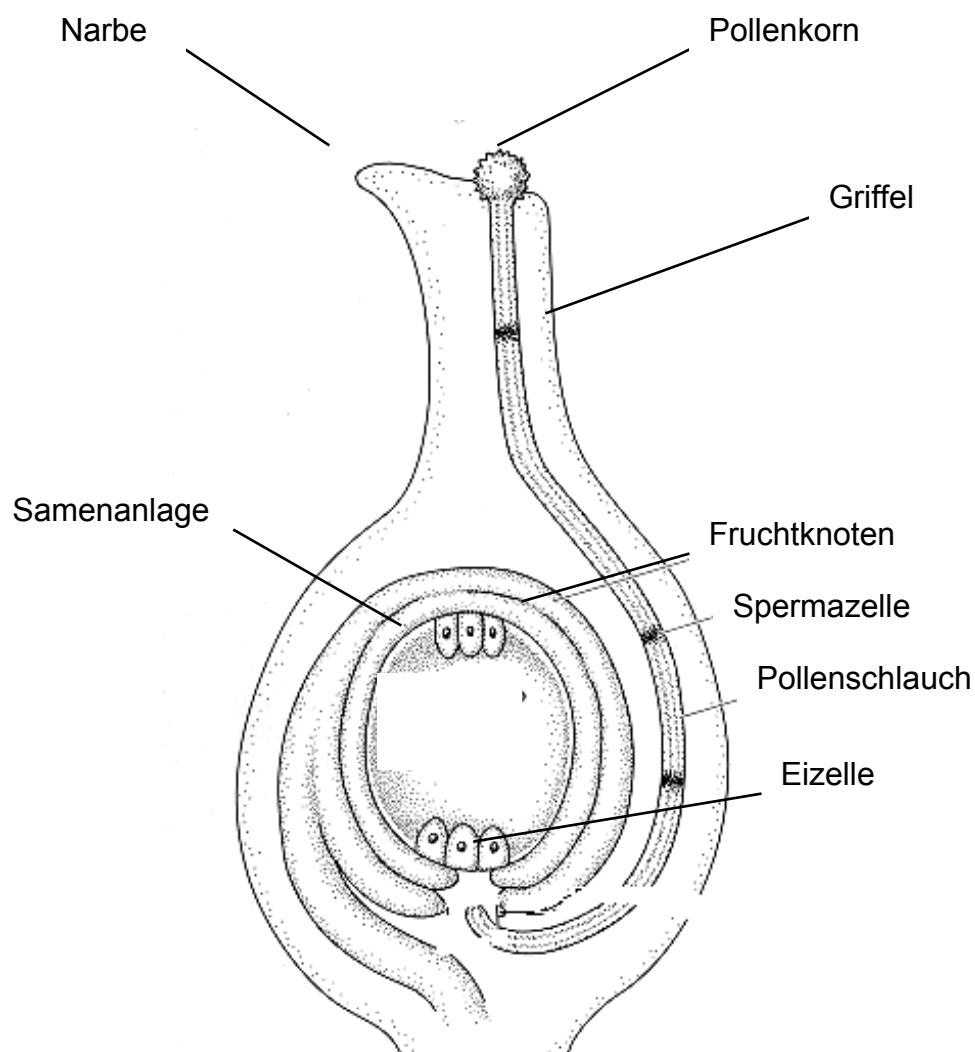


Abbildung 3: Pollenschlauchwachstum und Befruchtung bei angiospermen Pflanzen

Birken gehören zu den angiospermen (bedecktsamigen) Pflanzen, d.h. dass sich die Bäume über Pollen, die das männliche Erbgut enthalten, fortpflanzen. Sie werden durch den Wind zu den weiblichen Blüten getragen.

Die weiblichen Blüten sind zur Zeit des Pollenfluges noch nicht ganz reif. Allerdings sind Griffel und Narbe schon fertig ausgebildet, so dass sie die Pollen auffangen können.

Während die Samenanlagen heranreifen, werden die Pollen für mehrere Wochen im Griffelgewebe aufbewahrt.

Die Keimung wird vor allem durch Borat- und Calcium-Ionen stimuliert und gliedert sich in drei Stadien:

- 1) Quellungs- und Aktivierungsprozess durch Aufnahme von Wasser und Aktivierung vorhandener Enzymsysteme
- 2) Ausstülpung der inneren Pollenwand zum Pollenschlauch
- 3) Pollenschlauchwachstum

Nach der Keimung wächst ein Pollenschlauch von einer Porenöffnung der äußeren Schicht durch das Gewebe von Narbe, Griffel und Fruchtknoten bis zur Samenanlage [Bedinger 1992].

Dies wird durch das feuchte Milieu der Narbe stimuliert.

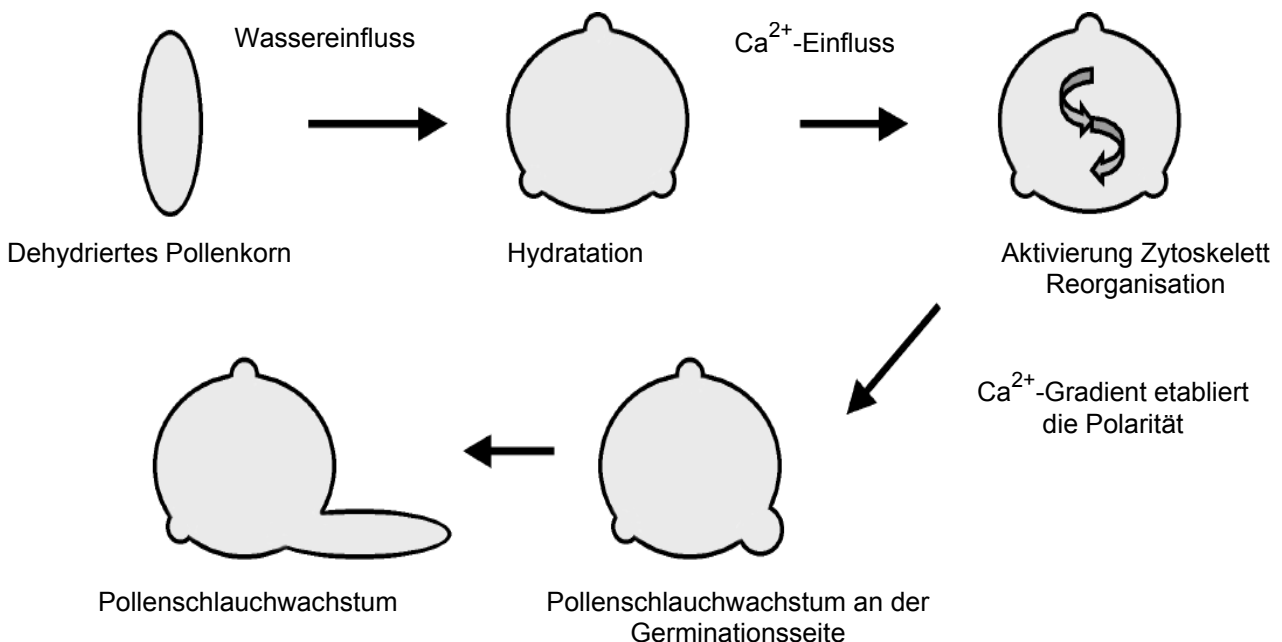


Abbildung 4: Keimungsprozess bei Pollen: Hydratation des Pollenkorns und Pollenschlauchwachstum

1.4.2 Physiologische Vorgänge der Pflanzenbefruchtung

Im feuchten Milieu wächst der Pollenschlauch so lange, bis er die Eizelle erreicht hat. Dann erfolgt nach Auflösung der Zellmembranen die Entlassung der beiden Spermazellen aus dem Pollenschlauch. Es erfolgt eine doppelte Befruchtung, bei der die eine Spermazelle mit der Eizelle zur Zygote und die andere mit dem sekundären Embryosackkern zum primären Embryosackkern verschmelzen [Drews 1998]. Aus der Zygote beginnt sich der Embryo zu entwickeln, dem der Embryosack als sekundäres Endosperm zur Ernährung dient.

Nach Auskeimung des Embryos zum fortpflanzungsfähigen Sporophyten ist der Entwicklungsprozess der Birke abgeschlossen und aus den Fruchtblättern entstehen die Früchte, die die Samen enthalten.

Es ist wissenschaftlich noch nicht erwiesen, warum ein Pollenschlauch wächst. Wahrscheinlich wirkt der weibliche Gametophyt, da er letztendlich auch das Ziel darstellt, chemotaktisch auf das Schlauchwachstum [Drews 1998]. Außerdem ist bei polarisiertem Pollenschlauchwachstum eine Calcium-vermittelte Signaltransduktion beteiligt [Wilhelmi 1999].

Das Austreten eines Pollenschlauches kann auch nach Einwirkung von Säure beobachtet werden; dann wird er als Pseudopollenschlauch bezeichnet. Der Mechanismus, bei dem anorganische Säure zum Aufplatzen der noch nicht gekeimten Pollenkörner führt, lässt sich auf die Absorption von Wasserstoffionen mit nachfolgendem Druckanstieg im Inneren oder auch auf das rasche Aufquellen der Membranbiokolloide in dem jeweiligen sauren Milieu zurückführen [Llyod und Ulehla 1926].



Abbildung 5: Weibliche und männliche Birkenkätzchen

1.5 Beeinflussung der Allergenfreisetzung durch Umweltfaktoren

Die Allergenfreisetzung ist temperatur-, zeit- und pH-abhängig und wird durch hohe Luftfeuchtigkeit, Gewitter und gasförmige oder partikelhaltige Luftverschmutzung begünstigt [Behrendt 1997, Behrendt 2001, Huss-Marp 2000, Perternal 2004].

Es konnte gezeigt werden, dass die Bet v 1 - Konzentrationen bei leichtem Regenfall steigen, wobei die Pollenkonzentrationen bei starkem Niederschlag und Temperaturabfall sinken [Peternel 2004, Schäppi 1997]. Wenn es nach Niederschlag zu trockenen Winden kommt, kann es zur Produktion von partikulären Aerosolen kommen, die Pollenallergene enthalten. Diese Partikel sind so klein, dass sie in die peripheren Luftwege gelangen und dort zu einer inflammatorischen Reaktion führen können [Taylor 2004].

Bei Kastanienpollen konnte nachgewiesen werden, dass die Pollenkonzentrationen positiv mit hohen Temperaturen und Stunden mit Sonnenschein und negativ mit Luftfeuchtigkeit und starkem Regenfall korrelierten [Jato 2001]. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch bei Graspollen. Hier fand sich eine positive Korrelation mit der Windgeschwindigkeit [Puc 2004].

In einer Studie konnte gezeigt werden, dass die Graspollenkonzentration bei Gewitter stark erhöht ist, möglicherweise durch Aufwirbeln von Partikeln über ca. einem Kilometer über dem Boden [Marks 2001]. Außerdem kommt es bei Gewittern oft zu plötzlichen Winden, die eine Freisetzung der Pollen begünstigen. Dabei ist bis jetzt noch nicht belegt, inwieweit der Luftdruck zur Freisetzung der Pollen beisteuert [Wardmann 2002].

SO₂ hemmt die Allergenfreisetzung, was das bekannte Phänomen der geringeren Allergieprävalenz in osteuropäischen Ländern, wo dieser Luftverschmutzungs-Typ vor allem verbreitet ist, zum Teil erklären könnte. Die Interaktion zwischen Pollen und Partikeln kann zu einer Präaktivierung und Agglomeration und einer Modulation der Allergenfreisetzung führen [Behrendt 2001].

Die Pollenausschüttung unterliegt einem zweijährigen Rhythmus [Atkinson 1990, Jäger 1991]. Gründe hierfür liegen unter anderem darin, dass eine hohe Pollenproduktion in einem Jahr so viel Energie kostet, dass der Baum im nächsten Jahr nicht mehr so viel Pollen produzieren kann [Hicks 1994]. Andere Hypothesen erklären diesen Rhythmus damit, dass es in einem Jahr mehr Blattwerk und weniger Blüten gibt und dafür im nächsten Jahr der Blütenstand größer ist, es weniger Blätter und es somit auch mehr Birkenkätzchen gibt [Dahl 1996].

Wieder andere Autoren berichten von einer Tendenz zu einem dreijährigen Muster der jährlichen Gesamtpollenzahl. Auf ein Jahr mit hoher Birkenpollenfreisetzung folgen zwei Jahre mit schwächerer Birkenpollenproduktion [Detand 2000].

Die Pollenflugzeit der Birken in Europa beginnt abhängig vom Wetter frühestens im März und endet im Mai [D'Amato 1998].

1.6 Bioverfügbarkeit von Allergenen

In vorausgegangenen Studien konnte gezeigt werden, dass physiologische Parameter, die temperatur-, zeit- und pH-abhängig sind, Einfluss auf die Freisetzung von Mediatoren aus Pollen, insbesondere Birkenpollen haben. Der steigende Luftfeuchtigkeitsgehalt führt beim Pollen zur Keimung desselben [Pieron 1992]. Vor allem die innere Schicht des Pollens enthält Allergene und andere Inhaltsstoffe, die besonders dann zum Tragen kommen, wenn die Pollen auf die Schleimhaut des Menschen treffen und Reaktionen wie allergische Rhinokonjunktivitis auslösen können [Behrendt 1997]. Im feuchten Milieu wächst der Pollenschlauch und setzt die Allergene aus der

inneren Schicht frei. Die Allergene befinden sich im Zytoplasma, in der Exine und der Intine [Behrendt 1999].

Es kommt bei zunehmender relativer Luftfeuchtigkeit zu einer Abnahme des Gesamtproteingehaltes aus wässrigen Birkenpollenextrakten. Trockene Luft hingegen führt zu einer verstärkten Freisetzung von Gesamtprotein [Huss-Marp 2000].

1.7 Birkenpollenflug

Je höher und je nördlicher der Standort, desto später beginnt auch die lokale Birkenpollenflugsaison, in der Spitzenwerte bis zu über 4500 Pollen pro Kubikmeter in 24 Stunden zu messen sind.

Die Kätzchen der Birken sind besonders gut beweglich und bei ausreichend starkem Wind werden die Pollen, die dort an exponierten Stellen deponiert sind, in die Luft befördert, wo sie über Hunderte von Kilometern in der Luft in einer Höhe von bis zu 1500 Metern zu den weiblichen Blüten transportiert werden. Die Birke setzt pro Blütenstand etwa 5,4 Millionen Pollenkörner frei. Die Pollenfreisetzung ist vor allem von der Wetterlage und der Tageszeit abhängig. D.h. optimale Bedingungen für einen starken Pollenflug sind an warmen, trockenen Tagen und morgens oder am späten Nachmittag zu finden [Knox 1979].

Auf dem Land sind in den frühen Morgenstunden die höchsten Pollenkonzentrationen messbar (Emissionspeak). In städtischen Gebieten findet man die höchsten Pollenkorngehalte, auch Sedimentationspeak genannt, am Abend oder nachts. Hierbei kann dieser häufig ein Vielfaches des Emissionspeaks betragen [Behrendt 1999].

Die Pollenanzahl variiert von Jahr zu Jahr, da sie vom Blühverhalten des Baumes abhängt. So hemmt starker Frost im Frühjahr die Pollenproduktion.

In den letzten Jahrzehnten hat die Birkenpollensaison an Dauer und Intensität zugenommen, wobei man annimmt, dass die Klimaerwärmung einen nicht unerheblichen Teil dazu beigetragen hat [Frei 2000, Menzel 2000].

Das könnte zur Erklärung der steigenden Prävalenz von Pollinosis beitragen [D'Amato 1998, ISAAC 1998, Spijksma 2003].

1.8 Pollenmessung mit Hilfe der Burkard-Falle

Die Pollenflugvoraussage ist vor allem für Pollenallergiker, aber auch für Ärzte für eine eventuelle prophylaktische Behandlung wichtig.

Die Pollenanzahl wird mit Hilfe von Pollenfallen bestimmt. *Blackley* entwickelte 1873 als erster eine Methode, mit der es möglich war die Pollenzahl in der Luft über 24 Stunden in einem bestimmten Gebiet festzustellen. Er benutzte einen einfachen mit Gelee beschmierten Glasobjektträger, den er 24 Stunden lang an einer Wetterfahne befestigte, und ein Lichtmikroskop, mit dem er die verschiedenen Pollen auszählte. Seit 1946 hat sich diese Methode bis heute mit einigen Verbesserungen weiterentwickelt. Heutzutage wird die in den späten siebziger Jahren des letzten Jahrhunderts entwickelte „Burkard – Falle“ eingesetzt [Subiza 2001].

Über eine Vakuumpumpe saugt die Pollenfalle durch eine Einsaugöffnung von 28 Quadratmillimetern 10 Liter Luft pro Minute an. Hinter diesem Ansaugeschlitz befindet sich eine Trommel, die über ein Uhrwerk angetrieben wird. Auf diese Trommel ist ein mit Vaseline beschichteter Plastikstreifen gespannt, auf den die in der angesaugten Luft enthaltenen Pollen geschossen und dort fixiert werden.

Die Trommel dreht sich kontinuierlich mit einer Geschwindigkeit von zwei Millimetern pro Stunde um ihre eigene Achse; innerhalb von 24 Stunden sind das 48 Millimeter. Dies entspricht einem Luftvolumen von 14,4 Kubikmetern Luft pro Tag. Jeden Tag werden Proben entnommen. Eine Windfahne an der Oberseite der Burkard-Falle garantiert ein Ansaugen der Luft aus der jeweils herrschenden Windrichtung.

Die Plastikstreifen werden aufgearbeitet und mikroskopisch ausgewertet. Die Auszählung der Pollen erfolgt über die gesamte Länge und entspricht dem 24-Stunden-Mittelwert von Pollen pro Kubikmeter. Berücksichtigt werden die allergologisch relevanten Pollenarten wie Hasel, Erle, Birke, Gräserblüten, Roggen und Beifuß. Die Ergebnisse dienen vor allem für Pollenflugvorhersagen, die aus Pollenmessdaten, Blühbeobachtungen und meteorologischen Befunden erstellt werden [Polleninformationsdienst PID]. An pollenreichen Tagen sollten sich Allergiker in Innenräumen aufhalten, wo die Allergenaktivität auf ungefähr ein Drittel reduziert ist [D'Amato 1996].



Abbildung 6: Burkard-Pollenfalle im Universitätsgelände am Biederstein

1.9 Das Hauptallergen aus Birkenpollen: Bet v 1

Pflanzen reagieren auf mechanischen oder umweltbedingten Stress durch Aktivierung oder Herunterregulierung von zahlreichen Genen.

So konnte gezeigt werden, dass steigende Temperatur und Abscisinsäure, ein Phytohormon, die Aktivität des Bet v 1-Promotors verstärken [Tashpulatov 2004].

Das bemerkenswerteste Ereignis während der Phase der Abwehr ist die wachsende Expression von „pathogenesis-related“ Proteinen (PRPs). Die PRPs haben typische physiochemische Eigenschaften, die sie saurem Milieu und proteolytischer Spaltung gegenüber resistent machen. Sie werden bei Stress und pathogenen Angriffen gebildet [Hoffmann-Sommergruber 2002]. Induziert werden die Proteine durch verschiedene Pathogene wie z.B. Viren, Bakterien und Pilze oder durch Chemikalien wie

Ethylen oder Salicylsäure, die pathogene Effekte imitieren [Leitner 1998, van Loon 2006]. Die PRPs befinden sich in Vakuolen im Zytoplasma, der Zellwand oder dem interzellulären Raum. Die Klassifikation der PRPs beinhaltet 14 Familien. Das Protein Bet v 1 gehört zur ubiquitären Familie dieser Pflanzenproteine (PR-10), die zur Abwehrantwort auf verschiedene Pathogene produziert wird. Die PR-10-Gene kodieren eine Reihe von intrazellulären Polypeptiden vor allem nach bakterieller oder Pilzinfektion [Markovic 2003].

Viele PR-Proteine können Allergien auslösen. So auch das PR-10, das für die Kreuzreaktivität zwischen dem Majorallergen der Birke Bet v 1 und dem des Apfels Mal d 1 verantwortlich ist, da sie beide eine ähnliche Aminosäurenstruktur aufweisen [Midoror-Horiuti 2001].

Obwohl die allergenen Eigenschaften des Proteins PR-10 gut erforscht sind, ist seine biologische Funktion in verschiedenen Pflanzen weitgehend unbekannt. Biochemische Studien lassen diverse Funktionen vermuten, wie z.B. eine Ribonukleaseaktivität, sowie eine enzymatische Aktivität in der Phenylpropanoid-Biosynthese oder in der Shikonin-Produktion [Laffer 2003].

Bei den Birkenpollen findet man sieben Gruppen von Allergenen: Bet v 1, 2, 3, 4, 6, 7 und 8. Bet v 1 besitzt ein Molekulargewicht von 17 kD, Bet v 2 wiegt 13 – 14.4 kD, Bet v 3 24 kD und Bet v 4 9.3 kD. Bet v 6 hat ein Molekulargewicht von 35 kD und Bet v 8 von 65 kD [Movérare 2002].

Bet v 1 ist wie oben beschrieben ein PR-10-Protein, das auch Ribonukleaseaktivität zeigt [Bufer 1996], Bet v 2 stammt aus der Familie der Profiline, die in allen eukaryotischen Zellen gefunden werden [Ebner 1995, Valenta 1991, Valenta 1992] und Bet v 3 repräsentiert eine Klasse von Kalzium-bindenden Proteinen, die von IgE bei ca. 10% der Birkenpollenallergiker erkannt wird [Seiberler 1992].

Bet v 4 gehört auch zu den Kalzium-bindenden Proteinen und reagiert mit IgE von 20% der Birkenpollenallergiker [Tinghino 2002, Twardosz 1997]. Es handelt sich bei Bet v 4 um ein intrazelluläres Pollenprotein, das bei Hydrierung zur Exine des Pollen wandert und ausgewaschen wird [Grote 1999]. Bet v 6 ist ein Phenylbenzyläther und eine Isoflavonoidreduktase und bindet IgE von 12% aller Birkenpollenallergiker [Karamloo 2001]. Bet v 7, ein Cyclophilin, reagiert mit IgE von 21% aller Birkenpollenallergiker [Cadot 2000]. Bet v 8 zeigt ähnliche homologe Sequenzen wie die pflanzliche Pektinesterase [Mahler 2001, Movérare 2002].

Bet v 1 und Bet v 2 zeigen eine Kreuzreaktivität mit Allergenen aus verschiedenen Früchten und Gemüse wie Äpfeln, Pfirsichen, Sellerie, Karotten und Kartoffeln. Bei Genuss dieser Lebensmittel kann es zu Juckreiz, Urtikaria, Asthma und sogar bis zum anaphylaktischen Schock kommen [Ebner 1994].

Reagieren über 50% eines untersuchten Patientenkollektivs mit allergen-spezifischen IgE-Antikörpern, bezeichnet man das diese Reaktion auslösende Allergen als Hauptallergen. Reagieren weniger als die Hälfte der Patienten, wird das Allergen als Minorallergen klassifiziert [WHO/IUIS (Allergen Nomenclature Subcommittee)].

Die meisten Birkenpollenallergiker (>98%) reagieren mit einer Typ I-Reaktion auf Bet v 1, 20-43% auf Bet v 2 und nur 5-11% auf Bet v 4 [Móvérare 2002, Pauli 1996]. Bet v 1 ist somit das Majorallergen der Birke.

1.10 Leukotrien B₄

1979 wurde die chemische Struktur von Leukotrienen zum ersten Mal von Samuelsson et al. beschrieben. Es handelt sich um nichtzyklische C 20 Carboxylsäuren mit einer oder zwei Sauerstoffsubstituenten und drei konjugierten Doppelbindungen [Samuelsson 1979].

Aus Arachidonsäure wird durch Lipoxygenase in basophilen, mononukleären und polymorphonukleären Leukozyten und Lungengewebe über 5-Hydroperoxyeicosatetraensäure (5-HPETE) und Leukotrien A₄ (LTA₄) 5,12-Dihydroxy-6,14-cis-8,10-Transeicosatetraensäure Leukotrien B₄ (LTB₄) metabolisiert [Bray 1981, Ford-Hutchinson 1990, Nagy 1982]. Unter anderem setzen polymorphkernige Leukozyten (PMN) 5, 12-di-Hydroxyeicosatetraensäure (12-di-HETEs) frei [Ford-Hutchinson 1980].

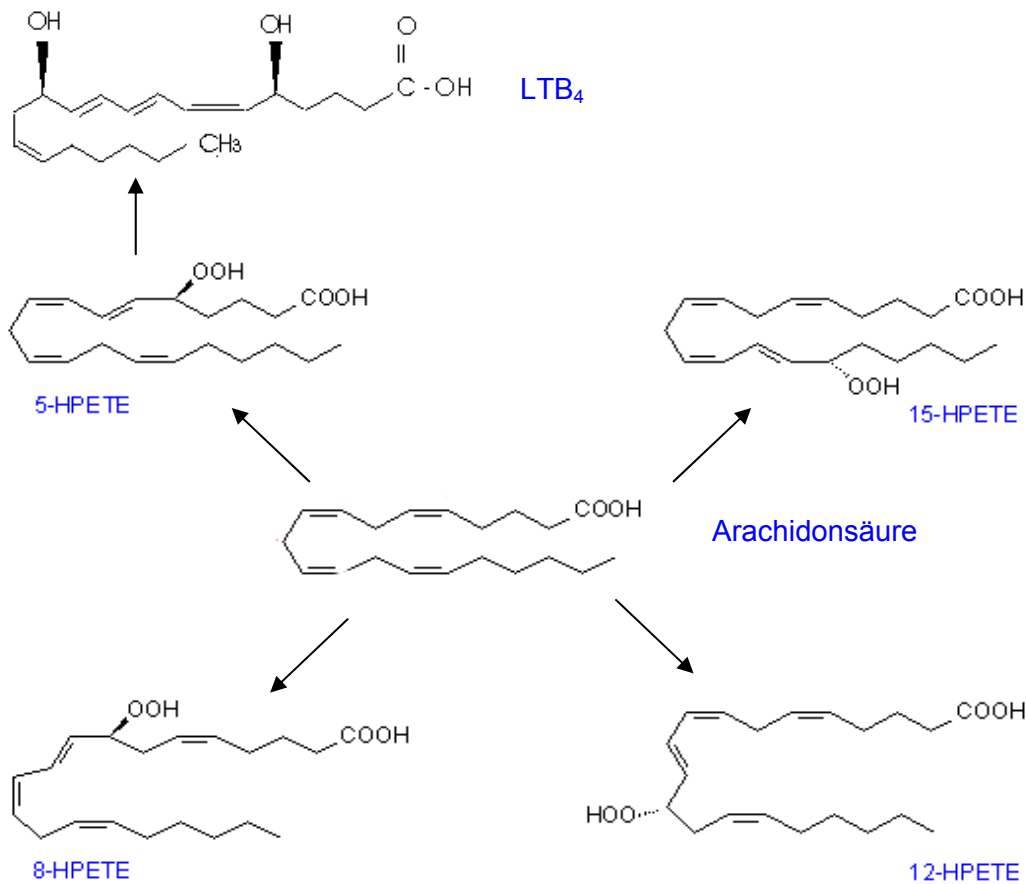


Abbildung 7: Arachidonsäure und ihre Derivate

LTB₄ verursacht Chemotaxis von Leukozyten, insbesondere Neutrophilen, Makrophagen, Eosinophilen und Monozyten [Ford-Hutchinson 1980, Serhan 2000]. Diese chemotaktisch und chemokinetisch potente Substanz führt zur Adhäsion von Leukozyten an Endothelzellen [Freeland 1998] und besonders stark zur Adhäsion von neutrophilen Granulozyten [Palmland 1981]. LTB₄ wirkt von den Lipidmediatoren am stärksten chemotaktisch auf polymorphkernige Granulozyten (PMNs) und bindet an niedrig-affine (BLT2)- und hoch-affine (BLT1)-Rezeptoren [Lindberg 1982].

Außerdem steigert LTB₄ zusammen mit einem Vasodilatator, wie z.B. Prostaglandin E₂ (PGE₂), die inflammatorische vaskuläre Permeabilität [Freeland 1998]. 15-HETE hingegen, das durch die 15-Lipoxygenase aus Arachidonsäure entsteht und keine proinflammatorische Kapazität besitzt, kann die Bildung und den chemotaktischen Effekt von LTB₄ hemmen [Dorsch 1984, Fogh 1989].

In vitro konnte gezeigt werden, dass LTB₄ zu einer Proliferation von Keratinozyten führen kann [Ford-Hutchinson 1990].

LTB₄ hemmt konzentrationsabhängig die proliferative Antwort auf Phytohemagglutinin (PHA)-stimulierte T-Lymphozyten [Payan 1983]. Außerdem scheint LTB₄ eine ähnlich starke Wirkung zu haben wie das „minor Fragment“ von C5a. Es stimuliert die Aufnahme von Hexose und die intrazelluläre Kalziumfreisetzung in Neutrophilen [Nagy 1982]. Man hat festgestellt, dass LTB₄ und C5a synergistisch im Hinblick auf die Rekrutierung von PMN arbeiten [McMillan 1988].

In vivo führt eine intradermale Injektion von LTB₄ zu einem Erythem und persistierender Induration, was wiederum zu einer Infiltration von Neutrophilen führt. Diese Neutrophileninfiltration lässt vermuten, dass LTB₄ eventuell in die Entwicklung der Späte-Phase-Antwort (late phase reaction) involviert ist [Koro 1999].

Außerdem kann LTB₄ einen Bronchospasmus, Schleimhautödeme, vermehrte Sputumproduktion und eine verschlechterte mukoziliäre Clearance verursachen [Laitinen 1993, O' Driscoll 1984], wobei es zu bronchialem Asthma, chronischer Bronchitis und zystischer Fibrose kommen kann. Bei allergischem Asthma bronchiale ist LTB₄ ein wichtiger Mediator für die Sofortreaktion nach Allergeninhalation [Wills-Karp 1999].

1.11 Prostaglandin E₂

Prostaglandine bestehen aus ungesättigten C 20 Hydroxy-Fettsäuren, die biologisch aktiv sind und in fast allen tierischen Geweben zu finden sind [Hägermark 1977]. Sie entstehen mit Hilfe der Cyclooxygenase aus Arachidonsäure von Membranphospholipiden [Knight 1995].

Prostaglandin E₂ (PGE₂) ist in eine Vielzahl von physiologischen und pathologischen Prozessen wie Entzündung, Immunantwort, Angiogenese und Neoplasie involviert [Yamane 2000]. Außerdem besitzt PGE₂ die Fähigkeit Schmerzen, Vasodilatation und Fieber hervorzurufen [Demeure 1997].

PGE₂ hemmt die T- und B-Zell-Proliferation, stimuliert allerdings auch einige Zytokine wie z.B. Interleukin-4 (IL-4) und Interleukin-10 (IL-10), die wiederum die Proliferation von T- und B-Zellen aktivieren [Knight 1995].

In niedrigen Konzentrationen hemmt PGE₂ die Produktion von IL-12, IL-2 und IFN-gamma, was zu einer Th2-Immunmodulation führt. Hohe Konzentrationen begünstigen die Produktion von Typ 2 Zytokinen direkt auf dem Weg einer selektiven Down-

regulation und die Produktion von IL-4 in Th2-Lymphozyten [Betz 1991, Kalinski 1997].

PGE₂ ist ein wichtiger Mediator einer akuten Entzündungsreaktion, was sich bei verschiedenen allergischen und nicht allergischen Entzündungen gezeigt hat [Sugimoto 1994].

Bei dendritischen Zellen beeinflusst PGE₂ die Reifung der Zellen und moduliert Immunfunktionen. Dendritische Zellen, die in vivo mit PGE₂ behandelt wurden, zeigten eine erhöhte Lebensfähigkeit im Vergleich zu Kontroll-Zellen [Baratelli 2005, Riboldi 2005]. Auch die Migration von aus humanen Monozyten hergeleiteten dendritischen Zellen und dendritischen Zellen aus peripherem Blut benötigt die Anwesenheit von PGE₂ [Legler 2006].

1.12 Pollen-assoziierte Lipidmediatoren (PALMs)

Nach der gängigen Lehrmeinung wird die allergische Reaktion durch spezifische Proteine, die von Pollen freigesetzt werden – die Allergene – induziert und unterhalten. Aber Pollen enthalten nicht nur Allergene, die auf das Immunsystem von Allergikern wirken, sondern auch bioaktive Lipidmediatoren [Behrendt 1999, Traidl-Hoffmann 2002] und strukturelle Ähnlichkeiten zu Arachidonsäurederivaten wie Leukotrienen und Prostaglandinen in Säugetierzellen aufweisen. Sie besitzen proinflammatorische und immunmodulatorische Eigenschaften. Diese sogenannten Pollen-assoziierten Lipidmediatoren induzieren Chemotaxis bei neutrophilen und eosinophilen Granulozyten und weisen somit auch funktionelle Eigenschaften wie LTB₄ auf [Kasche 2002, Plötz 2004, Traidl-Hoffmann 2002].

LTB₄, ein Metabolit der Arachidonsäure gilt als der Lipidmediator mit der stärksten Chemotaxis für PMN, der an sogenannte niedrig-affine - (BLT 2) Rezeptoren und sogenannte hoch-affine - (BLT 1) Rezeptoren bindet. PMNs spielen eine wichtige Rolle bei allergischen Erkrankungen, z.B. dem allergischen Asthma bronchiale.

Traidl-Hoffmann et al. konnten nachweisen, dass PALMs aus wässrigen Pollenextrakten eine signifikante Migration und eine Aktivierung von PMN induzieren.

Außerdem „wirken PALMs auch auf dendritische Zellen im Sinne einer „allergiefördernden“ Th2-gewichteten Immunantwort“ [Traidl-Hoffmann 2005].

Hieraus leitet sich die Hypothese ab, dass die Freisetzung von Lipidmediatoren aus Pollen in der wässrigen Phase während des Kontaktes mit Haut- oder Schleimhautoberflächen einen allergenunabhängigen proinflammatorischen Faktor in der Entstehung von allergischen Erkrankungen darstellt [Traidl-Hoffmann 2005].

Da höhere Pflanzen keine Arachidonsäure bilden, handelt es sich um Derivate der ungesättigten Fettsäuren Linolsäure und Linolensäure, die einen großen Bestandteil von Fettsäuren in pflanzlichen Membranen ausmachen [Müller 1998, Sobermann 1985, Toborek 1997]. Jede Pollenart besitzt unterschiedliche Muster der Lipidzusammensetzung [Traidl-Hoffmann 2002].

Den Linolsäurederivaten werden Funktionen wie Zellproliferation, Apoptose und Entzündung zugeschrieben [Henricks 1991].

Behrendt et al. konnten zeigen, dass eine Exposition von Pollen mit verkehrsbezogenen Umweltschadstoffen, wie z.B. VOCs, zu einer erhöhten Sekretion von LTB₄-ähnlichen PALMs aus Pollen, insbesondere Birken- und Graspollen, führt [Behrendt 1999].

2 Zielsetzung der Arbeit

Untersuchungen von Behrendt et al. belegen, dass Pollen aus verkehrsbelasteten Gebieten mit Schadstoffpartikeln bedeckt und in ihrem Allergengehalt verändert sind [Behrendt 1997].

Möglicherweise kommt es durch Interaktion der Pollen mit Luftschadstoffen bereits zu einer vermehrten bzw. veränderten Allergenfreisetzung in der Außenluft, die dann beim entsprechend genetisch disponierten Menschen zur Allergieentstehung beitragen kann [Behrendt 2000].

In dieser Arbeit sollte vergleichend untersucht werden, inwiefern sich Schadstoffbelastungen (NO_2 , PM 2,5) auf die Freisetzung von Allergenen, Prostaglandin E_2 - und Leukotrien B_4 - ähnlichen Pollen-assoziierten Lipidmediatoren ($\text{PALM}_{\text{LTB}_4}$ und $\text{PALM}_{\text{PGE}_2}$) aus Birkenpollen (*Betula alba*) auswirken. Bestimmt wurden hierbei $\text{PALM}_{\text{LTB}_4}$ und $\text{PALM}_{\text{PGE}_2}$ aus Pollenextrakten mit Hilfe von spezifischen Enzyme Linked Immunosorbent Assays (ELISAs).

Der Allergengehalt wurde in Form von Gesamtprotein mit Hilfe einer photometrischen Messung und durch das Majorallergen der Birke Bet v 1 mittels eines spezifischen Immunoassays bestimmt.

Eine mögliche Korrelation zwischen Schadstoffbelastung (NO_2 , PM 2,5) und LTB_4 - und PGE_2 - Konzentrationen wurde untersucht, da vorangegangene Studien bereits nachgewiesen hatten, dass verkehrsbelastete Birkenpollen höhere LTB_4 - Konzentrationen aufweisen [Behrendt 2001].

Als Parameter für Schadstoffbelastung wurden NO_2 und PM 2,5 gewählt. In westlichen Industrieländern zählen verkehrsbedingte Emissionen zu den Hauptquellen der Luftverunreinigungen. Die wichtigsten Schadstoffe, die von Kraftfahrzeugen abgegeben werden, sind Stickoxide, flüchtige organische Verbindungen und Dieselrußpartikel aus Dieselmotoren. Hierbei wird NO_2 als Leitsubstanz angesehen.

NO_2 kann zwar keine allergischen Symptome auslösen, kann aber in sehr hohen Dosen einen Einfluss auf das Immunsystem haben. Es kann zudem die allergische Immunantwort bei einer schon bestehenden Allergie steigern.

Diese Arbeit nimmt Bezug auf eine vorangegangene Studie, die GINI - (German Infant Nutritional Intervention-) Studie, einer multizentrischen longitudinalen Nahrungsmittelinterventionsstudie, bei der die Atopieentwicklung von Kindern seit ihrer

Geburt untersucht wird. Nach sechs Jahren wurden die Kinder erneut hinsichtlich einer Atopieentwicklung untersucht.

Die genauere Charakterisierung der Expositionsbedingungen gegenüber einem wichtigen Allergieauslöser, den Birkenpollen, in räumlicher Nähe zum jeweiligen Wohnort der Kinder, ist Gegenstand dieser Arbeit.

Die Standorte der Birkenbäume wurden daher so ausgewählt, dass sie in der Nähe von Kinderspielplätzen bzw. Grundschulen lagen, wo sich die Kinder auch einige Zeit des Tages aufhielten. Die Birken wurden in der Zeit des Pollenfluges beprobt.

Die Standorte waren hinsichtlich Luftschadstoffbelastung charakterisiert und die Verkehrssituation wurde jeweils dokumentiert. Außerdem wurden klimatische Einflüsse in Form von Temperatur, relativer Luftfeuchtigkeit und Wetterverhältnissen berücksichtigt.

Es wurden sowohl in Nordrhein-Westfalen, als auch in München Birken in drei aufeinanderfolgenden Jahren und im letzten Jahr zusätzlich in Leipzig beprobt.

Ziel dieser Doktorarbeit war es in München, Nordrhein-Westfalen und Leipzig den Gehalt der Birkenpollen an Bet v 1, Gesamtprotein, PALM_{LTB4} und PALM_{PGE2} zu messen und mögliche Korrelationen mit Luftschadstoffen (NO₂, PM 2,5) zu untersuchen.

Folgende Fragen sollen in dieser Arbeit beantwortet werden:

- A) Gibt es Unterschiede hinsichtlich des Birkenpollenfluges in verschiedenen Regionen Deutschlands in den Jahren 2002 - 2004?
- B) Haben Umweltschadstoffe einen Einfluss auf die Freisetzung von PALMs, Gesamtprotein und Allergenen aus Birkenpollen in Abhängigkeit von Standort und Umweltbelastung?
- C) Gibt es morphologische Unterschiede bei Birkenpollen in Abhängigkeit der Verkehrsbelastung?
- D) Gibt es Birkenpollen, auf die Allergiker nicht reagieren?

3 Material und Methoden

3.1 Probanden

Für die Immunoblotuntersuchung wurden vier Birkenpollenallergiker ausgewählt. Auswahlkriterium war das Vorliegen von Rhinitis allergica und die Sensibilisierung mit spezifischen IgE-Antikörpern gegen Bet v 1 im Radio-Allergo-Sorbens-Test (RAST)-Klasse 4 und höher. Als Kontrollperson diente ein RAST-negativer Proband ohne anamnestische Hinweise auf allergische Reaktionen.

Für die Pricktestreihe wurde ein Birkenpollenallergiker gewählt.

Tabelle 1: Allergenspezifische Patientenseren und entsprechendes

Cap-RAST Bet v 1

| Patient | Alter | Geschlecht | Cap-RAST Bet v 1 |
|---------|-------|------------|------------------|
| Nr. 1 | 62 | männlich | Klasse 6 |
| Nr. 2 | 47 | weiblich | Klasse 6 |
| Nr. 3 | 50 | weiblich | Klasse 6 |
| Nr. 4 | 51 | männlich | Klasse 6 |
| Nr. 5 | 26 | weiblich | Klasse 0 |

3.2 Methoden

3.2.1 Pollenflugmessung

Zur Bestimmung eines geeigneten Zeitpunkts für die Birkenpollensammlung sowie zur Abschätzung des Gesamt-Birkenpollenfluges während den Pollensaisonen 2002, 2003 und 2004 wurden drei Referenzmessstellen des PID (Stiftung Deutscher Pollenfluginformationsdienst) herangezogen. Die drei Messstellen befanden sich in München (Thalkirchner Strasse, 525 m über NN), Bochum (Bergmannsheil, 76 m über NN) und Jena (Humboldtstrasse 16, 150 m über NN).

Darüberhinaus wurden vier weitere Burkard-Fallen im Raum Nordrhein-Westfalen aufgestellt (Station I: Wesel, Station II: Duisburg, Station III: Borken, Station IV: Bo-

cholt) und der Birkenpollenflug an diesen Stationen zwischen dem 04.04.2002 und 24.04.2002 dokumentiert.

3.2.2 Sammlung von Birkenkätzchen und Standortcharakterisierung

Es wurden Birkenkätzchen in Nordrhein-Westfalen (03.04.2002, 14.04.2003 und 13.04.2004), München (09.04.2002, 16.04.2003 und 14.04.2004) und Leipzig (19.04.2004) gesammelt. Das Vorgehen bestand aus Aufsuchen von 42 Standorten von Birken in Nordrhein-Westfalen, 40 in München bzw. 43 in Leipzig. Bei den Standorten wurden klimatische (Himmelsrichtung, Temperatur und Luftfeuchtigkeit) und biologische Faktoren (Birkenart), sowie Straßennähe, in Form eines Erhebungsboogens berücksichtigt. Außerdem wurde jede Birke fotografisch festgehalten.

2003 und 2004 wurden aufgrund der Erfahrungswerte des Jahres zuvor zudem der Stammumfang, die Baumhöhe und der Reifegrad der Birkenkätzchen notiert.

Gesammelt wurden mindestens 50 reife Birkenkätzchen pro Standort direkt vom Baum. In der Literatur wurde von Hjelmroos et al. der Einflussfaktor „Sammlungsrichtung“ berücksichtigt. Birkenkätzchen, die in Richtung Süden gesammelt wurden, zeigten den höchsten Allergengehalt an Bet v 1, was vermutlich teilweise an höheren Temperaturen an der Südseite liegt [Hjelmroos 1995]. Daher wurden die Birkenkätzchen in unserer Studie bevorzugt auf der Südseite gesammelt.

Die Abschätzung der Schadstoffbelastung der Birkenstandorte erfolgte mit Hilfe von verschiedenen Parametern. Die Standortcharakterisierung im Hinblick auf die Umweltbelastung wurde durch Erhebung von Einflussfaktoren mittels Fragebogen festgehalten und durch NO-Messungen durch das Landesamt für Umweltschutz (LfU) vorgenommen. Um die Umweltbelastung der Birken gut einschätzen zu können, wurden in München Bäume gewählt, die in der Nähe von Messstationen des Landesamtes für Umweltschutz standen.

In Nordrhein-Westfalen wurde die NO₂-Belastung fortlaufend während eines Jahres bestimmt.

Die Abschätzung der Verkehrsbelastung mittels des Fragebogens wurde mit Hilfe eines Verkehrs-Scores erstellt. Je kleiner der Score, desto geringer die Verkehrsbelastung. Die Einflussfaktoren beinhalteten folgende Kategorien:

Straßencharakteristik (Haupt-, Nebenstraße mit und ohne Tempolimit), Verkehrssituation (Anwohner-, Durchgangs- oder Berufsverkehr), Lage mit Entfernung des Baumes in Metern zur nächsten Straße und zur nächsten verkehrsreichen Hauptstraße. Die Summe der erreichten Punkte für einen Standort ergab den Verkehrs-Score. Die Skala lag zwischen 1 und 12. Der maximale Score lag bei einer Punktzahl von 12 und spiegelt die höchste Verkehrsbelastung wider.



Erhebungsbogen Birkenpollen 2003



| | | |
|---|---------------------|------------------------|
| 1 | Stationsnr. : _____ | Art der Station: _____ |
| 2 | Ort : _____ | Straße : _____ |
| | Atlas-Seite : _____ | |

3 Gruppennummer der Probennehmer : _____

4 Datum der Probennahme : _____ . _____ . 2003
Tag Monat Jahr

5 Uhrzeit der Probennahme : _____ : _____
Stunde Minute

6 Straßencharakteristik :
 Nebenstraße mit Tempo 30-Limit
 Nebenstraße ohne Tempo 30-Limit
 Hauptstraße

7 Verkehrslage :
 (Mehrfachnennungen sind möglich)
 Anwohnerverkehr (in Wohngebieten)
 Durchgangsverkehr
 Berufsverkehr

8 Entfernung vom Baum zur
 nächsten Straße
 weniger als 10 m
 11 bis 20 m
 mehr als 20 m

9 Entfernung vom Baum zu einer
 verkehrsreichen Straße (Berufs-/Durchgangsverkehr)
 bis zu 10 m
 11 bis 50 m
 51 bis 150 m
 mehr als 150 m

10 Befindet sich der Baum in einer
 Straßenschlucht von mindestens 100 Metern Länge ? ja nein
 (Mit Straßenschlucht ist gemeint: überwiegend geschlossene Häuserzeilen auf beiden Seiten der Straße.
 Querstrassen und, einzelne Hauseingänge und Hofeinfahrten sind erlaubt.)

WENN „NEIN“, was trifft zu ?





- Straßenschlucht von weniger als 100 Meter Länge
- nur auf einer Straßenseite geschlossene Häuserzeile
- mindestens an einer Seite freistehende Häuser mit Gärten
- Verkehrinsel
- anderes

11 Wetter
 sonnig
 überwiegend sonnig
 bewölkt
 regnerisch

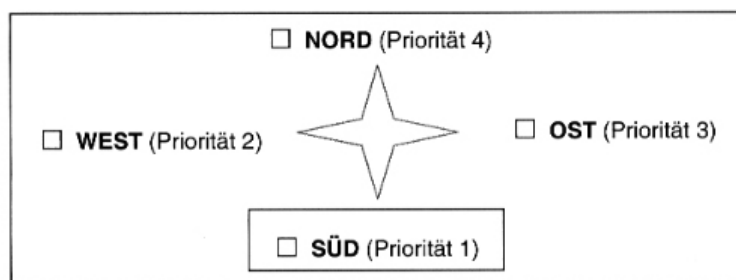
12 Temperatur _____ °C

13 relative Luftfeuchtigkeit _____ %

14 Birkenbestimmung

| | <i>Betula pendula</i> (Hängebirke, Weißbirke, Warzenbirke, Sandbirke) | <i>Betula pubescens</i> (Moorbirke, Haarbirke, Besenbirke) |
|----------------|---|--|
| <u>Habitus</u> | <input type="checkbox"/>  bei alten Bäumen Äste und Zweige überhängend, sonst ist die Krone schmal und spitzkegelig | <input type="checkbox"/>  Äste mehr waagrecht; mit aufrechten, nicht überhängenden Zweigen; häufig mehrstämmig |
| <u>Rinde</u> | <input type="checkbox"/>  hell weiß; an der Stammbasis mit groben, längsrissigen, schwarzen Leisten (siehe Bild); abblättern | <input type="checkbox"/>  weniger hell; an der Stammbasis erst spät in schwärzliche Borke übergehend; sich in dünnen Streifen abpollend |
| <u>Zweige</u> | <input type="checkbox"/> junge Triebe mit warzigen Drüsen besetzt; klebrig; unbehaart | <input type="checkbox"/> junge Triebe dicht kurzflaumig behaart; höchstens mit einzelnen warzigen Drüsen |

15 Lokalisation der Birkenpollenprobe (möglichst von nach Süden zeigenden Zweigen =Priorität 1)



16 Höhe der Probenahme
(möglichst ~ 2 m)

1 - 1.5 m
 1.5 - 2 m
 2 - 2.5 m
 ≥ 2.5 m

17 Stammumfang in 1.30 m Höhe

____ cm

18 Baumhöhe mit Höhenmessgerät bzw. Seite 3 ausfüllen

____ . ____ m

19 Birkenfoto mit Metermaßstab:

Film-Nr: ____

(Baum mit DIN A3-Papier (Stationsnummer + Datum) kennzeichnen)

Bild-Nr: ____

20 Foto von gesammelten Birkenpollen in der Kiste

Bild-Nr: ____

21 Beurteilung des Reifegrades der Birkenpollen

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
|-------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------|
| feucht | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | trocken |
| hart | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | weich |
| schwarz | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | gelb |
| geschlossen | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | offen |
| unreif | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | reif |

22 Kleine Äste sammeln, insgesamt mindestens 5 Knospen, Knospen nicht von den Ästen abbrechen! (15ml Greiner-Tube)

ja nein

23 Sterile Sammlung von 5 Birkenkätzchen. Birkenkätzchen nicht berühren, abschneiden und in das 50ml Falcon-Tube fallen lassen

ja nein

Unterschrift eines Probennehmers

Abbildung 8: Erhebungsbogen mit Standortcharakterisierung

3.2.3 Pollengewinnung aus Birkenkätzchen

Nach einer Trockenzeit von mindestens 24 Stunden in einem Gewächshaus (Raumtemperatur 24,6°C, relative Luftfeuchtigkeit 15,6%) im internationalen Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit (GSF) wurden die Pollen weiterverarbeitet.



Abbildung 9: Trocknen der Birkenkätzchen im Gewächshaus der GSF

Zuerst wurden die Birkenkätzchen von Hand durch ein 100 µm poriges, danach durch ein 71 µm poriges Siebgitter verlesen. Die Pollen wurden in Pulverform abgefüllt, luftdicht verschlossen, gewogen und bei -70 C° eingefroren.

Zusätzlich wurde der Reifegrad der Pollen bestimmt, wobei Farbe, Öffnung, Feuchtigkeit bzw. Trockenheit und Härte der Birkenkätzchen in einer Skala von 1-5 berücksichtigt wurden.



Abbildung 10: 100 µm und 71 µm poriges Siebgitter



Abbildung 11: Pollen und Birkenkätzchen in luftdicht verschlossenen Behältern

3.2.4 Bestimmung von Gesamtprotein und Majorallergen Bet v 1 aus Birkenpollenüberständen

3.2.4.1 Herstellung von Pollenextrakten

15 mg Birkenpollen wurden pro Polypropylen-Röhrchen (15 ml - Falcon) abgewogen. Anschließend wurden 3 ml einer Ammoniumbikarbonatpufferlösung beigelegt, so dass die Endkonzentration der Extrakte 5 mg Pollen/ml betrug. Das Extrakt wurde eine Minute lang mit einem Vortexer durchmischt.

Die Falcon-Röhrchen mit den Pollensuspensionen wurden vier Stunden über Kopf geschüttelt. Anschließend wurde der Überstand bei 13000 U/min 10 Minuten lang zentrifugiert und in vorbeschriftete Tubes für weitere Messungen in 1,5 ml Eppendorf-Tubes pipettiert.

Nach Gabe einer einmolaren Rinder-Serum-Albumin (BSA)-Lösung wurden die Proben noch einmal geschüttelt, kurz bei 8000 U/min zentrifugiert, mit gelöcherten Deckeln versehen und bei -70°C gelagert.

Zur Dreifachbestimmung von Bet v 1 wurden die Ammoniumbikarbonat-Extrakte (pH-Wert 8,14) weiterhin 24 Stunden lyophilisiert und daraufhin bei -4°C aufbewahrt.

3.2.4.2 Bestimmung von Gesamtprotein

Die Bestimmung der Proteinkonzentrationen im Extrakt erfolgte photometrisch anhand der Methode nach Bradford [Bradford 1976]. Dazu wurden 100 μl des Extraktes mit 100 μl Coomassie-Blau versetzt.

Als Proteinstandard wurde BSA gelöst in 0,9%iger Salzlösung in einer Konzentration von 2 mg/ml verwendet. Ammoniumbikarbonat diente hierbei als Negativkontrolle. Die Standardreihe erstreckte sich hierbei zwischen 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ und 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Die Proben wurden auf dem Schüttler 30 Sekunden lang gemischt und anschließend im Photometer bei 595 nm gemessen.

3.2.4.3 Bestimmung des Hauptallergens der Birke - Bet v 1

Das Majorallergen der Birke - Bet v 1 - wurde mit Hilfe eines Immunoassays (ELISA) bestimmt. Zunächst wurde ein für das zu quantifizierende Allergen spezifischer monoklonaler Antikörper an eine Mikrotiterplatte gekoppelt und über Nacht bei 4°C inkubiert. Nach Inkubation (eine Stunde auf dem Schüttler bei Raumtemperatur) mit der Probe blieb das Allergen am Antikörper gebunden. Durch einen zweiten Allergenspezifischen monoklonalen Antikörper, der biotinyliert war, wurde das Antigen nachgewiesen. Die einstündige Inkubation fand auf dem Schüttler bei Raumtemperatur statt. Über das Biotin wurde ein Streptavidin-Peroxidase-Komplex an den Nachweisantikörper gebunden.

Bei Zugabe eines Substratpuffers wurde durch das Enzym eine Reaktion katalysiert, die zu einer Färbung führte. Als Standard wurde gereinigtes Allergen (Bet v 1) eingesetzt. Die Reaktion wurde mit einer Stopplösung (Schwefelsäure) unterbrochen. Die Farbintensität war der gebundenen Menge Allergen proportional. Der Nachweis erfolgte im Photometer bei 492 nm.

3.2.5 Bestimmung von PALM in Pollenüberständen

Aus früheren Untersuchungen war bekannt, dass PALMs mit Eikosanoidderivaten, wie Leukotrienen und Prostaglandinen, im ELISA kreuz reagieren. So wurden die Konzentrationen von PALM_{LTB₄} und PALM_{PGE₂} aus Pollenextrakten mittels LTB₄- bzw. PGE₂- ELISA bestimmt.

Jeweils 50 µl Probe wurden zur Doppelwertbestimmung eingesetzt. Als Negativkontrolle diente der Assaypuffer, der Phosphatpuffer, Natriumchlorid und Bovines Serum Albumin enthielt.

Als Standardreihe (LTB₄: 0,31 pg – 40 pg bzw. PGE₂: 2,5 pg – 320 pg) kamen lyophilisiertes Leukotrien B₄ bzw. lyophilisiertes Prostaglandin E₂ zum Einsatz.

Der verwendete ELISA beruht auf einem Verdrängungs- bzw. Konkurrenzprinzip, d.h. PALM_{LTB₄} und PALM_{PGE₂} im Pollenextrakt konkurrieren mit dem Antiserum. Das gegen das Antiserum gerichtete Konjugat setzt anschließend zugegebenes Substrat um. Dies erzeugt einen Farbumschlag, der im Mikrotiterplatten-Reader gemessen wird. Je höher die Extinktion, desto mehr Konjugat kann sich anlagern, desto intensi-

ver wird die Anfärbung und desto weniger LTB₄ ist in den einzelnen Testmulden enthalten. Die photometrische Messung erfolgte bei 630 nm.

Bei dem verwendeten LTB₄-ELISA besteht eine Kreuzreaktivität mit 20-OH-LTB₄ von 2,5% und mit 6-trans-LTB₄ von 16,6%, beim PGE₂-ELISA findet man eine Kreuzreaktivität mit PGE₁ (7,0%), 6-keto-PGE_{1α} (5,4%), PGF_{2α} (4,3%) und PGD₂ (1%).

3.2.6 Qualifizierung und Quantifizierung des Hauptallergens der Birke Bet v 1 mit Hilfe der Elektrophorese

Um den Bet v 1-Gehalt in Birkenpollen zu überprüfen, wurde die Methode des Westernblots angewandt.

Bei dieser Methode nach Laemmli [Laemmli 1970], werden die Proteine entsprechend ihres Gewichtes aufgetrennt. Die Proteine werden mit SDS negativ geladen und wandern dadurch nach einer Spannungsanlegung zur Anode. Kleinere Moleküle wandern aufgrund der geringeren Reibung im Gel schneller als größere Moleküle. Somit kommt es zur Längenauftrennung der Proteine im Proteingemisch. Zuerst müssen die Proteine durch ein Sammelgel, anschließend durch ein Trenngel laufen. Hierbei wurden Pollenextrakte in Ammoniumbikarbonat-Pufferlösung hergestellt. Lyophilisate aus diesen Extrakten mit jeweils gleicher Proteinkonzentration wurden für die Elektrophorese verwendet. Um die Proteinkonzentrationen bestimmen zu können, wurde die Methode nach Bradford, wie schon beschrieben, eingesetzt. Die lyophilisierten Extrakte wurden in einer Lösung aus Laemmli-Lösung [Laemmli 1970], Dithiothreitol, Aqua dest. gelöst und 5 Minuten bei 95°C zur Denaturierung erhitzt und zur Erhaltung der Struktur auf Eis gestellt. Der Extrakt wurde auf ein 15%-iges (Anteil Acrylamid/ Bioacrylamid) Trenngel geladen. Als Standard wurde ein „Low Range Standard“ eingesetzt. Der Standard wurde 1:20 mit Laemmli-Lösung und Aqua bidest verdünnt und eine Tasche mit 5 µl der Standardverdünnung beladen.

Es wurden jeweils 60 µl der verschiedenen Extrakte in jede Tasche des Gels gegeben. Nach dem Auftrennen der Proteine in der Elektrophoresekammer bei einer Spannung von 200 Volt, wurde das Gel auf eine Nitrozellulosemembran geblottet. Danach wurde der Standard mit Hilfe von Ponceau S angefärbt. Der restliche Blot wurde mit Hilfe von Tris-Puffer wieder entfärbt und anschließend mit Patientenseren von Birkenpollenallergikern (Tabelle 1), die eine Cap-RAST-Klasse von 6 aufzeigten,

(1:20) über Nacht inkubiert. Als Negativkontrolle diente das Serum eines Nichtallergikers bzw. eine Kontrolle ohne Zugabe eines Antikörpers. Nach dreimaligem Waschen in Tris-Puffer, wurde der Blot mit dem zweiten Antikörper, einem monoklonalen Antikörper gegen humanes IgE (1:1000), inkubiert. Danach wurde der Blot einmal mit Tris-Puffer pH 7,4 und dreimal mit Tris-Puffer pH 9,5 gewaschen und getrocknet.

Zusammensetzung der Polyacrylamid-Gellösung für zwei Gele:

Trenngel

| | |
|------------------------------|-----------|
| Acrylamid/ Bioacrylamid 29:1 | 5 ml |
| 4x Resolving Buffer pH 8,8 | 2,5 ml |
| 10% SDS (0,01 gr in 100 µl) | 0,1 ml |
| Aqua bidest | 2,5 ml |
| TEMED | 5 µl |
| 10% APS | 50 µl |
| | <hr/> |
| | 10,155 ml |

Sammelgel

| | |
|------------------------------|----------|
| Acrylamid/ Bioacrylamid 29:1 | 0,67 ml |
| 4x Stacking Buffer pH 8,8 | 1,26 ml |
| 10% SDS (0,01 gr in 100 µl) | 0,05 ml |
| Aqua bidest | 3 ml |
| TEMED | 4 µl |
| 10% APS | 25 µl |
| | <hr/> |
| | 5,009 ml |

3.3 Rasterelektronenmikroskopie

Zur morphologischen Beurteilung der von verschiedenen Birken aus unterschiedlichen Regionen gesammelten Pollen wurden Aliquots in 2% Cacodylat-gepuffertem

Glutaraldehyd bei pH 7,2 fixiert, in Osmiumtetroxid nachfixiert und in aufsteigender Alkoholreihe entwässert. Anschließend erfolgte die Lufttrocknung über HMDS. Nach Goldbeschichtung in einer Sputteranlage SCD050 der Fa. Balzers, Lichtenstein wurden die Proben im Rasterelektronenmikroskop JEOL 6300 SEM bei 20 kV und einem Winkel von 15°-45° untersucht.

3.4 Prick-Test

Beim Pricktest wird ein Tropfen eines Allergenextrakts auf die Haut aufgetragen. Danach wird die Haut mit einer Prick-Lanzette im schrägen Winkel kurz angestochen und angehoben. Nach 20 Minuten wird die Testlösung abgewischt und die Reaktion abgelesen.

Die Testreaktion wird nach dem Durchmesser von Quaddel und Erythem beurteilt. Reaktionen mit einer Quaddel unter 3 mm Durchmesser, sowie alle Reaktionen, die sich nicht deutlich von der Negativkontrolle mit NaCl unterscheiden, sind negativ. Als Positivkontrolle dient Histamin.

3.5 Statistische Auswertung

Zur statistischen Beurteilung von Unterschieden innerhalb der Gruppen - Vergleiche zwischen PALM_{LTB4}, PALM_{PGE2}, Bet v1 und Gesamtprotein - wurde der gepaarte t-Test nach Student verwendet.

Für die regionalen und jährlichen Vergleiche wurden nur die Birken ausgewählt, die in allen Jahren beprobt werden konnten. Als Mittelwert wurde das arithmetische Mittel kalkuliert, welches den rechnerischen Mittelwert von X_1, \dots, X_n beschreibt.

Zur Beurteilung einer statistischen Signifikanz wird die Irrtumswahrscheinlichkeit <5% ($p=0,05$) angesetzt.

3.6 Studienplanung (Chemikalien, Verbrauchsmaterial und Geräte)

3.6.1 Chemikalien

| | |
|--|---|
| Acrylamid/ Bisacrylamid 29:1 | Biorad, München, Deutschland |
| Albumin Standard (2mg/ml) | Pierce/ Rochford, Illin., USA Best.-Nr. 23209 |
| Ammoniumbikarbonat | Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland |
| Anti-human IgE monoklonaler Antikörper | Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA Best.-Nr. 555859 |
| Bet v 1 Standard | Allergopharma, Reinbek, Deutschland |
| Biotinylierter Detektions-Antikörper gegen Bet v 1 | Allergopharma, Reinbek, Deutschland |
| Bovines Serum Albumin (BSA) | Merck, Darmstadt, Deutschland Best.-Nr. 12018 |
| Coomassie Plus Protein Assay Reagent | Pierce/ Rochford, Illin., USA Best.-Nr. 1856210 |
| D,L-Dithiothreitol (DTT) | Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland |
| Ethanol | Merck, Darmstadt, Deutschland Best.-Nr. 100986 |
| Natriumbikarbonat (NaHCO ₃) | Gibco Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland Best.-Nr. 11810-025 |
| Natriumazid | Merck, Darmstadt, Deutschland Best.-Nr. 1066880100 |
| PBS | PA, Linz, Österreich |
| Schwefelsäure (H ₂ SO ₄) | Merck, Darmstadt, Deutschland Best.-Nr. 748 |
| SDS-Page Standard low range | Biorad, München, Deutschland Best.-Nr. 1610304 |
| Tetramethyldiamin (TEMED) | Biorad, München, Deutschland Best.-Nr. 1610801 |
| Tris ultrapur | ICN Biomedicals, Aurora, OH, USA Best.-Nr. 2010644 |

| | |
|---|---|
| TWEEN 20 | Merck, Darmstadt, Deutschland Best.-Nr. 822184 |
| 3.6.2 Käufliche Enzymimmunoassay-KITs | |
| LTB ₄ Enzymimmunoassay | Amersham, Buckinghamshire, England Best.-Nr. RPN 223 |
| PGE ₂ Enzymimmunoassay | Ammersham, Buckinghamshire, England Best.-Nr. RPN 222 |
| 3.6.3 Verbrauchsmaterial | |
| Eppendorf-Röhrchen | Eppendorf, Hamburg, Deutschland Best.-Nr. 0030 05.002 |
| Falcon-Polypropylen-Röhrchen 15ml/50ml | Becton Dickinson, NJ, USA Best.-Nr. 352070 / 2096 |
| Gel Blotting-Papier | Schleicher und Schüll, Dassel, Deutschland |
| Nitrozellulosepapier | Schleicher und Schüll, Dassel, Deutschland |
| Mikrotiterplatte (flachbodig) | MaxiSorp, Nunc, Roskilde, Dänemark Best.-Nr. 449824 |
| 3.6.4 Geräte | |
| Rasterelektronenmikroskop | Jeol 6300, Tokyo, Japan |
| Elektrophorese-Minisystem | Mighty Small II 9611-1059 Hoefer, San Francisco, USA Best.-Nr. 0818211 |
| Elektrophorese-System | PHAST System, Amersham-Pharmacia, England |
| ELISA-Reader (Revelation MRX TC) | Thermo, Engelsbach, Deutschland |
| Gefriertrocknungsanlage | Alpha 1-4, Christ, Osterode am Harz, Deutschland Best.-Nr. 0813141 |
| Gelelektrophoresekammer | Biorad, München, Deutschland |

| | |
|---|---|
| Kippschüttler | GFL, Burgwedel, Deutschland |
| Kühlzentrifuge | Megafuge 1.OR 24965, Kendro, Langenselbold, Deutschland Best.-Nr. 24965 |
| Laborwaage | Laboratory LC 620P, Satorius, Göttingen, Deutschland Best.-Nr. 0640941 |
| Lichtmikroskop | Axiovert 25, Zeiss, Jena, Deutschland Best.-Nr. 19485 |
| Magnetrührer | REO, IKA Labortechnik, Staufen, Deutschland Best.-Nr. 20388 |
| Minishaker | IKA MS1, IKA Ino Lab 99450082, WTW, Weilheim, Deutschland Best.-Nr. 20699 |
| Öffnungs- und Verschlusszange | Rotilabo, Roth, Karlsruhe, Deutschland |
| pH-Meter | WTW, Weilheim, Deutschland |
| Pipetten/-spitzen | Eppendorf, Wesseling-Berzdorf, Deutschland |
| Pipettierhilfe | Pipetboy Acu 105864, IBS, Ijamsville, Maryland, USA Best.-Nr. 27317 |
| Rotator | RO50, 61088 TAAB, Aldermaston, Berkshire, England Best.-Nr. 19766 |
| Semidry-Blottinggerät | Phase Lübeck, Deutschland |
| Siebe und Auffangbecken (100 und 71µm) | Linker, Kassel, Deutschland Best.-Nr. 39730023 Best.-Nr. 39730027 |
| Stromversorger | Phase Lübeck, Deutschland |
| Thermoschüttler | Schnipptherm SNT-W 997, Schutron Best.-Nr. 15893 |
| Überkopfschüttler | REAX 2, 59604122, Heidolph, Kehlheim, Deutschland Best.-Nr. 27316 |

| | |
|------------|--|
| Vortexer | G-560E, 289248, Scientific Industries, New York, USA Best.-Nr. 20969 |
| Wasserbad | MP, Julabo, Seelbach, Deutschland Best.-Nr. 20702 |
| Wipptisch | Unitwist 716222107, Uniequip, Martins- ried, Deutschland Best.-Nr. 24967 |
| Zentrifuge | Tischzentrifuge 1-15 70961, Sigma, Os- terode am Harz, Deutschland Best.-Nr. 20697 |

4 Ergebnisse

4.1 Vergleich des Pollenfluges in Nordrhein-Westfalen (Bocholt, Bochum, Borken, Duisburg, Wesel), München und Leipzig

Nach den vorliegenden Daten war die Birkenpollensaison 2002 in Westdeutschland 14 Tage länger als in Süddeutschland.

Im Vergleich zu Bayern lag die Gesamtpollenzahl in Bochum mit insgesamt 23960 Pollen pro Pollensaison fast um das 10-fache höher als in München mit 2666 Pollen pro Pollensaison.

Allerdings lagen die Tage, an denen der Pollenflug während 24 Stunden über 50 Pollen pro Kubikmeter betrug, in München mit 18 im Vergleich zu 26 Tagen, nur um ca. 30% niedriger.

Es waren im Süden vier Peaks zu verzeichnen, die immer wieder von Tagen mit mäßigem Pollenflug unterbrochen wurden; im Westen fanden sich zwei Peaks. Im Vergleich zu den Peak-Konzentrationen in Nordrhein-Westfalen waren diese jedoch mit maximal 276 Pollen pro Kubikmeter Luft und Tag wesentlich niedriger.

Unterschiede fanden sich aber auch in Nordrhein-Westfalen selbst. So wurden die höchsten Birkenpollenzahlen in Bochum gemessen, gefolgt von Bocholt, Wesel, Duisburg und Borken.

In Nordrhein-Westfalen wurden die Birken während des zweiten Peaks am 03.04.2002 beprobt.

Das Maximum des Birkenpollenfluges war im Jahr 2002 in Nordrhein-Westfalen mit 4544 Birkenpollen pro Kubikmeter deutlich höher als in München mit 276 Birkenpollen pro Kubikmeter.

Tabelle 2: Birkenpollenflug 2002: Vergleich München und Städte in Nordrhein-Westfalen

| Ort | Höhe über NN (über Grund) | Saisondauer | Zeit in Tagen | Anzahl Pollen pro m ³ und Saison |
|------------------------------------|------------------------------|----------------|---------------|--|
| Referenzmessstellen des PID | | | | |
| München | 525 (15) | 16.03.– 18.05. | 64 | 2666 |
| Bochum | 76 (15) | 26.02.– 14.05. | 78 | 23960 |
| Stationen I-IV | | | | |
| Wesel | 26 (7) | *) | | 9442 |
| Duisburg | 33 (4) | *) | | 9015 |
| Borken | 25 (11) | *) | | 6139 |
| Bocholt | 25 (11) | *) | | 14758 |

*) Sammelzeit 04.04.-25.04.2002, keine Bestimmung der Saisondauer

Tabelle 3: Pollenflugdaten 2002: Vergleich West- und Süddeutschland

| | Bochum | München |
|---|--|---|
| Pollenflugsaison | 26.02. - 14.05.2002 | 16.03. – 18.05.2002 |
| Pollensammeltag | 03.04.2002 | 09.04.2002 |
| Pollenflugtage | 78 | 64 |
| Gesamtpollenzahl | 23960 | 2666 |
| Durchschnitt der Pollenzahl/m ³ in 24 h | 323,78 | 42,32 |
| Tage mit Pollenzahl > 50 Pollen/m ³ in 24 h | 26 | 18 |
| Peak I | 31.03. mit 4172 Pol- len/m ³ in 24 h | 02.04. mit 272 Pollen/m ³ in 24 h |
| Peak II | 03.04. mit 4544 Pollen/m ³ in 24 h | 12.04. mit 272 Pollen/m ³ in 24 h |
| Peak III | | 23.04. mit 276 Pollen/m ³ in 24 h |
| Peak IV | | 01.05. mit 156 Pollen/m ³ in 24 h |

Bochum 2002

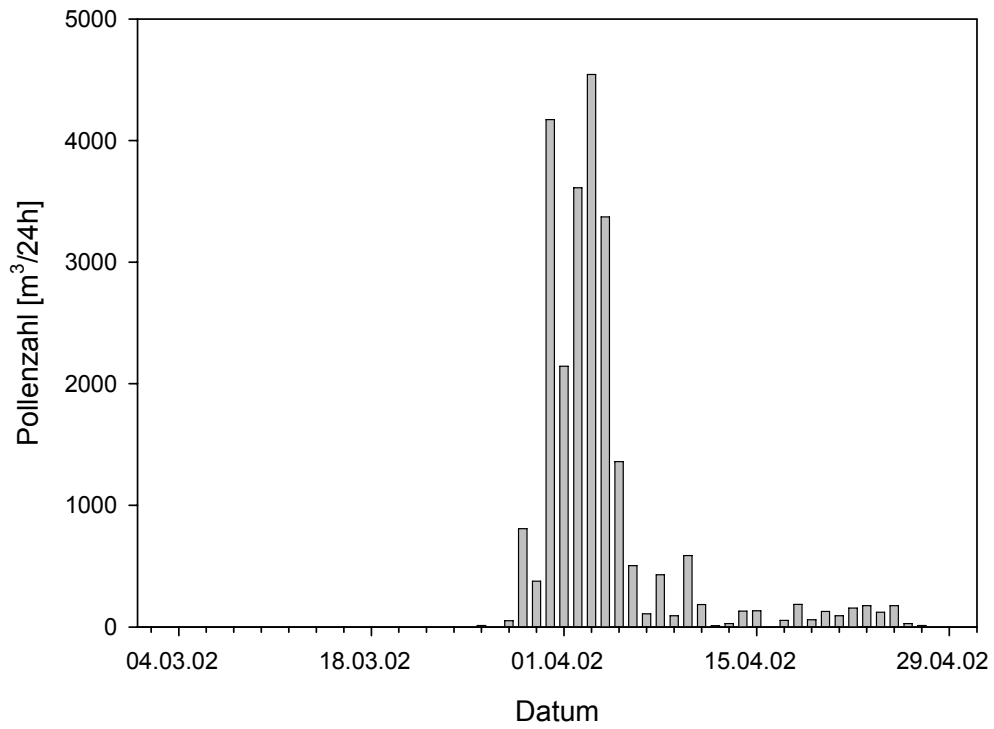


Abbildung 12: Birkenpollensaison Bochum 2002

München 2002

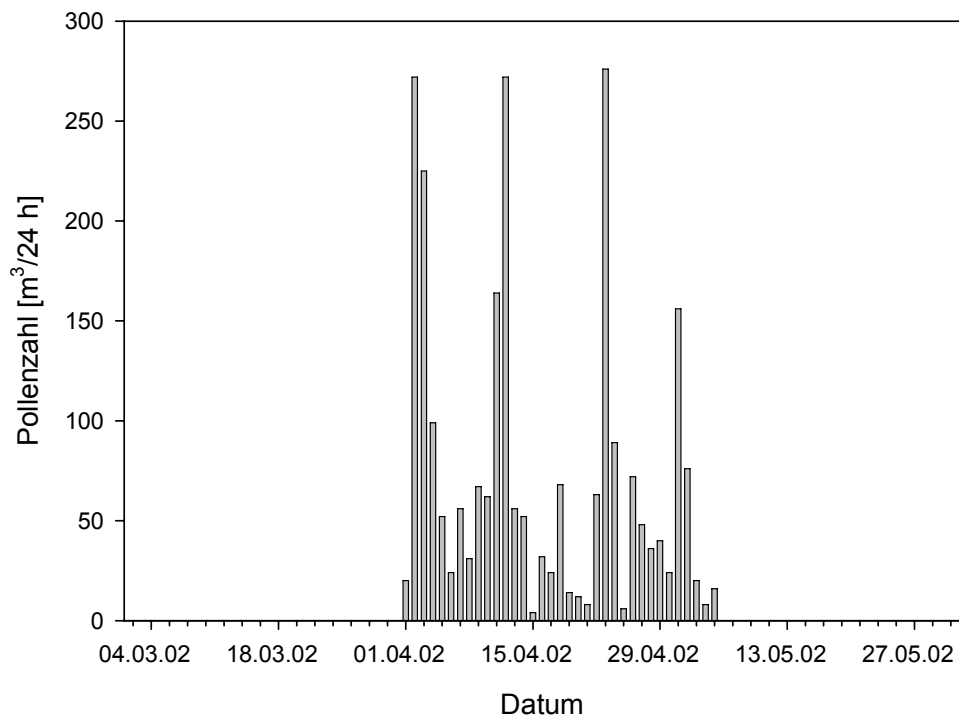


Abbildung 13: Birkenpollensaison München 2002

2003 dauerten die Birkenpollensaisonen in West- und in Süddeutschland etwa gleich lange.

Auch die Gesamtpollenzahl lag in den beiden Regionen mit 2546 Pollen pro Pollensaison in Bochum und mit 2972 Pollen pro Pollensaison in München etwa im gleichen Bereich.

Die Anzahl der Tage mit Birkenpollenflug über 50 Pollen in 24 Stunden betrug in Nordrhein-Westfalen 8 Tage und in Bayern 12 Tage.

Im Gegensatz zum vorherigen Jahr war die Anzahl der birkenpollenreichen Tage im Süden höher als im Westen. Es gab 2003 in jeder Region nur zwei Peaks mit 440 und 664 Birkenpollen pro Kubikmeter in 24 Stunden in München und 316 und 440 Pollen pro Kubikmeter in 24 Stunden in Bochum, jeweils innerhalb von vier bzw. fünf Tagen. Somit lag das Maximum in NRW sehr viel niedriger als 2002. In München hingegen war die maximale Pollenzahl 2003 höher als im Vorjahr. Vergleichend kann man sagen, dass 2002 insgesamt in Westdeutschland ca. zehnmal so viele Birkenpollen flogen als 2003. Die Gesamtzahl der Pollen je Pollenflugsaison blieb in München etwa konstant, es waren jedoch weniger Peaks als im Vorjahr zu verzeichnen.

Tabelle 4: Pollenflugdaten 2003: Vergleich West- und Süddeutschland

| | Bochum | München |
|--|--|--|
| Pollenflugsaison | 28.02. - 01.05.2003 | 20.03. - 19.05.2003 |
| Pollensammeltag | 14.04.2003 | 16.04.2003 |
| Pollenflugtage | 63 | 61 |
| Gesamtpollenzahl | 2546 | 2972 |
| Durchschnitt der Pollenzahl/m ³ in 24 h | 40,40 | 49,53 |
| Tage mit Pollenzahl > 50 Pollen/m ³ in 24 h | 8 | 12 |
| Peak I | 17.04. mit 440 Pollen/m ³ in 24 h | 16.04. mit 440 Pollen/m ³ in 24 h |
| Peak II | 22.04. mit 316 Pollen/m ³ in 24 h | 20.04. mit 664 Pollen/m ³ in 24 h |

Bochum 2003

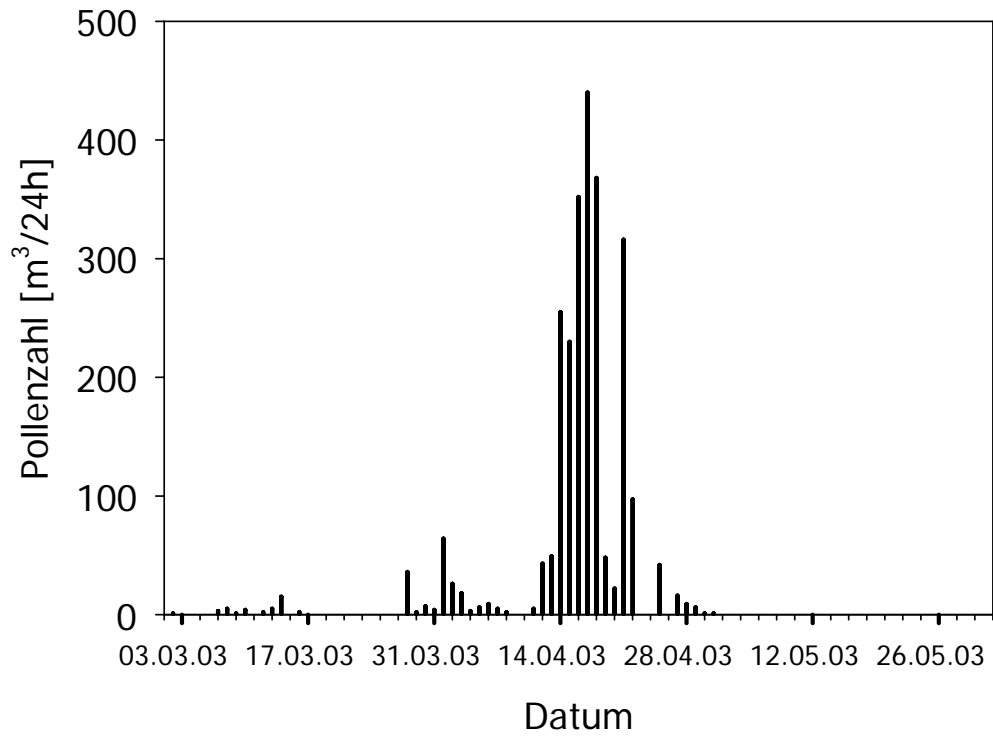


Abbildung 14: Birkenpollensaison Bochum 2003

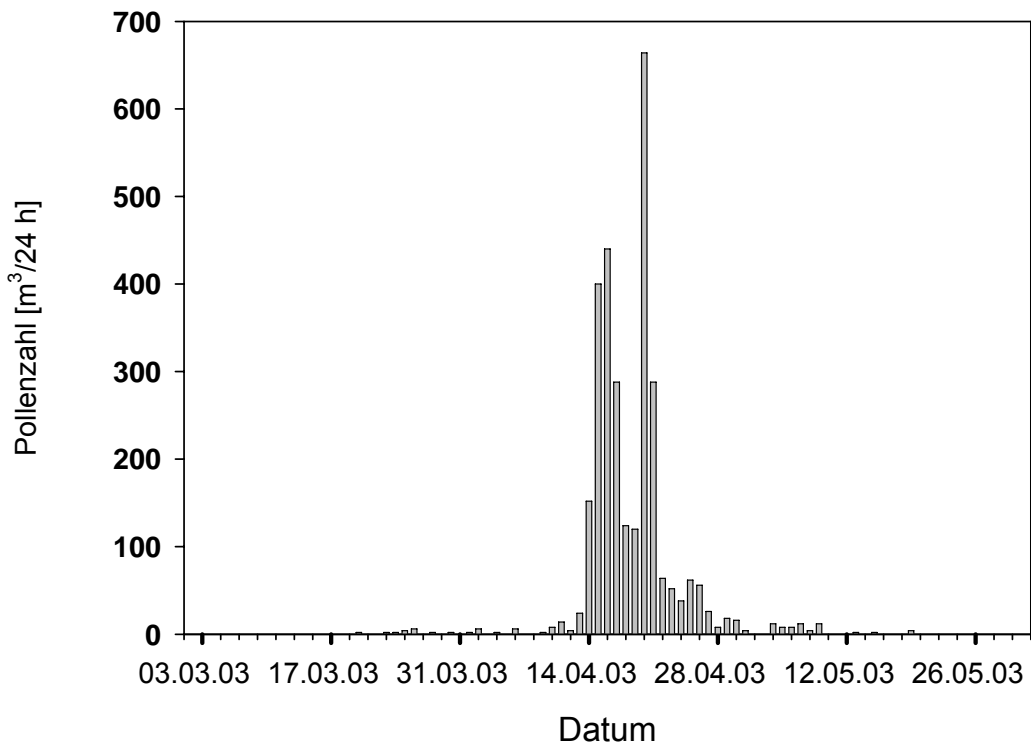


Abbildung 15: Birkenpollensaison München 2003

Um nicht nur West- und Süd-, sondern auch Ostdeutschland vergleichen zu können, wurden 2004 auch Birkenpollen in Leipzig gesammelt, wobei von den Pollenflugdiensten Jena örtlich am nächsten lag.

In München steigerte sich das Maximum des Pollenfluges im Jahre 2004 weiter auf 1104 Pollen pro Kubikmeter in 24 Stunden. In Bochum war die Gesamtpollenzahl fast viermal so hoch wie in München und sechsmal so hoch wie in Jena. In Leipzig, wo 2004 zum ersten Mal gesammelt wurde, fand sich eine maximale Pollenzahl von 680 Birkenpollen pro Kubikmeter in 24 Stunden.

Die Pollenflugsaison war 2004 in Nordrhein-Westfalen mit 111 Tagen am längsten, gefolgt von Bayern mit 71 Tagen und am kürzesten mit 39 Tagen in Sachsen, wobei die Pollenflugsaison in Nordrhein-Westfalen wie in jedem Jahr am frühesten begann. Wenn man das Jahr 2004 mit den beiden vorherigen Daten vergleicht, kann man erkennen, dass die Gesamtpollenzahl in diesem Jahr im Gegensatz zu den vorangegangenen Jahren in München und Bochum am höchsten war.

Tabelle 5: Pollenflugdaten 2004: Vergleich West-, Süd- und Ostdeutschland

| | Bochum | München | Jena |
|--|---|---|--|
| Pollenflugsaison | 03.02.-23.05.2004 | 08.03.-18.04.2004 | 03.04.-11.05.2004 |
| Pollensammeltag | 13.04.2004 | 14.04.2004 | 19.04.2004 |
| Pollenflugtage | 111 | 71 | 39 |
| Gesamtpollenzahl | 27297 | 6889 | 4300 |
| Durchschnitt der Pollenzahl/m ³ in 24 h | 246 | 101 | 110 |
| Tage mit Pollenzahl > 50 Pollen/m ³ in 24 h | 31 | 21 | 19 |
| Peak I | 03.04. mit 2101 Pollen/m ³ in 24 h | 16.04. mit 1104 Pollen/m ³ in 24 h | 15.04. mit 680 Pollen/m ³ in 24 h |
| Peak II | 17.04. mit 5240 Pollen/m ³ in 24 h | | |

Bochum 2004

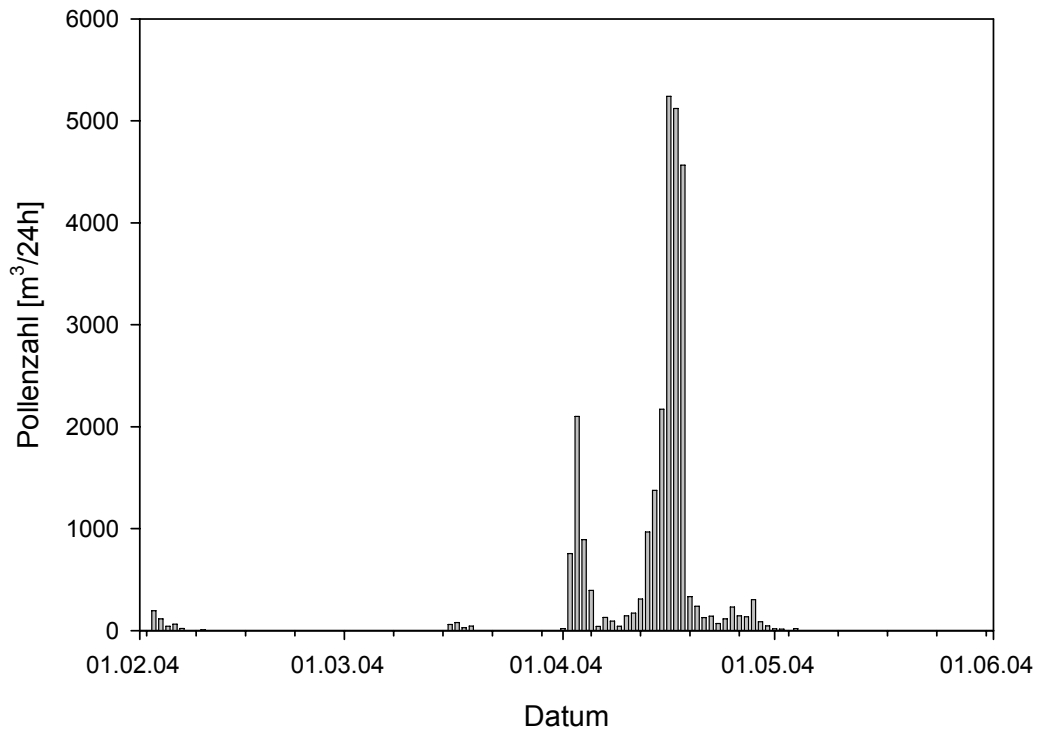


Abbildung 16: Birkenpollenflug Bochum 2004

München 2004

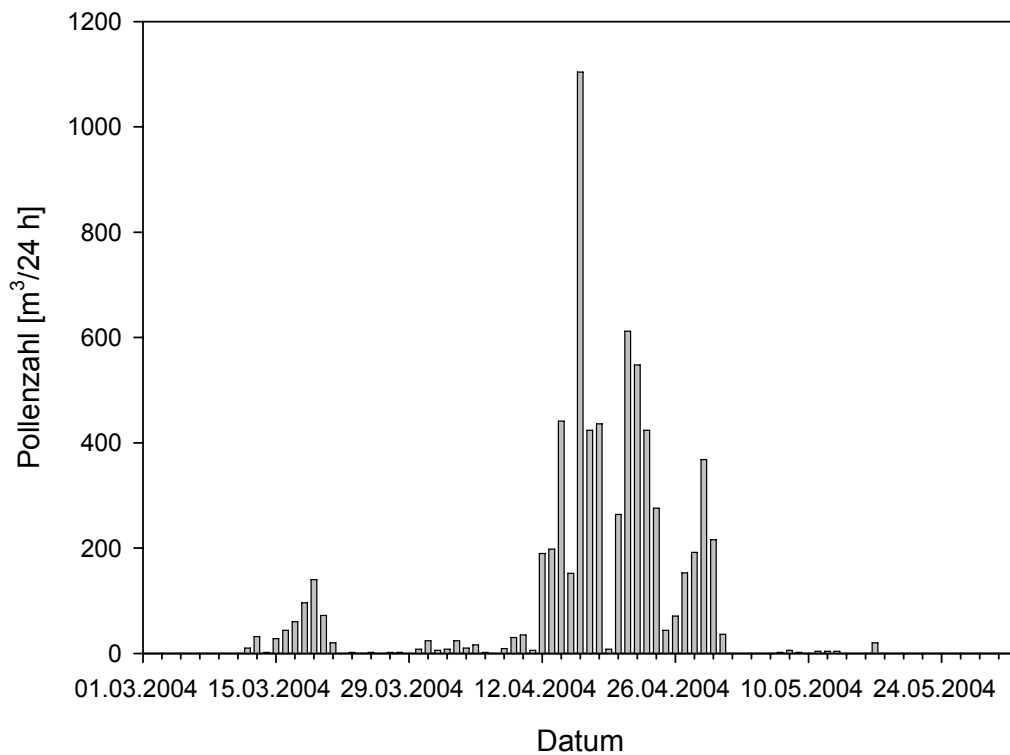


Abbildung 17: Birkenpollenflug München 2004

Leipzig 2004

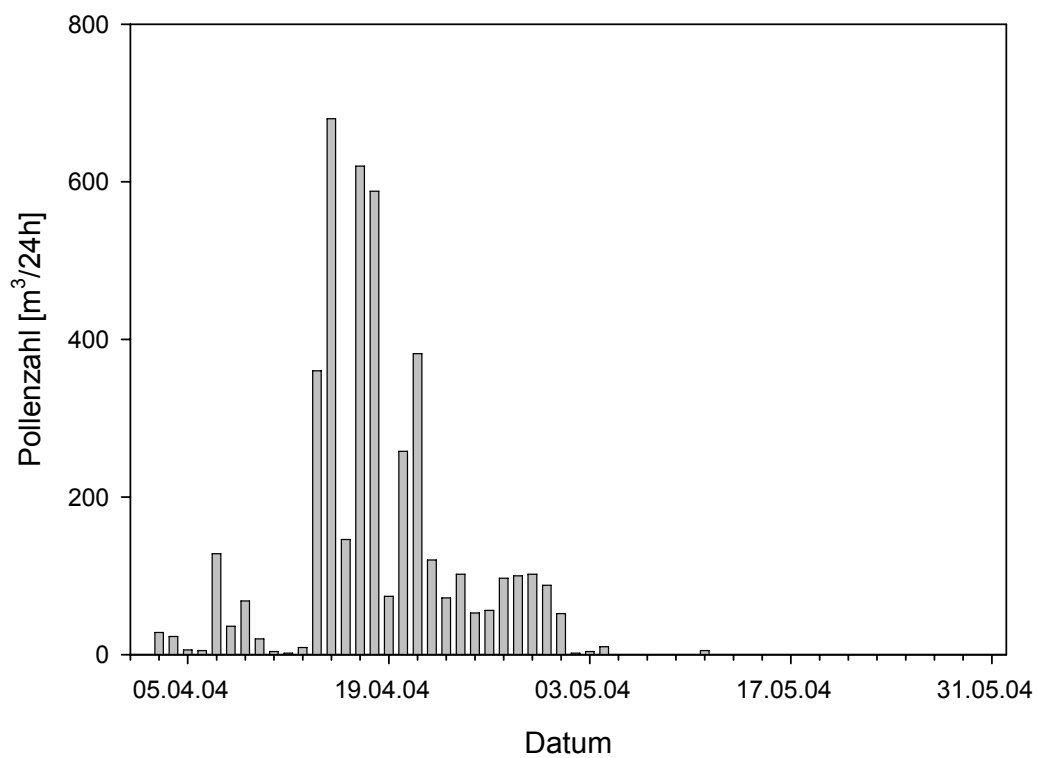


Abbildung 18: Birkenpollenflug Leipzig 2004

4.2 Birkenpollensammlung, Standortcharakterisierung und Weiterverarbeitung

Birkenpollen wurden in drei aufeinanderfolgenden Jahren (2002-2004) in Form von Birkenkätzchen an ausgewählten Standorten in München (2002: 39 Standorte, 2003: 38 Standorte, 2004: 27 Standorte), in Nordrhein-Westfalen (2002: 42 Standorte, 2003: 38 Standorte, 2004: 39 Standorte) und 2004 an 32 Standorten auch in Leipzig gesammelt. Zur Sammlung wurden Tage gewählt, an denen der Pollenflug besonders hoch war.

Die Sammlung fand im Ruhrgebiet in der Zeit der höchsten Birkenpollenflugrate der Blühzeit statt. Sie betrug im Jahre 2002 4544 Pollen pro Kubikmeter, 2003 325 Pollen pro Kubikmeter und 2004 968 Pollen pro Kubikmeter.

In München, wo jeweils eine Woche später aufgrund der zeitversetzten Vegetation gesammelt wurde, lag die Pollenzahl 2002 bei 67 Pollen pro Kubikmeter, 2003 bei 440 Pollen pro Kubikmeter und 2004 bei 441 Pollen pro Kubikmeter. In Leipzig betrug die Pollenzahl 74 pro Kubikmeter am Birkenpollensammeltag.

Die Pollenkonzentrationen an den ausgewählten Stationen wurden in Bocholt, Duisburg, Borken, Wesel, in München und in Jena mit Hilfe einer Burkard-Pollenfalle bestimmt. Jena wurde als nächstgelegener Standort gewählt, da in Leipzig die Pollenfalle im Jahr 2004 nicht besetzt war.

An den Standorten wurde auch die Schadstoffbelastung gemessen. In Nordrhein-Westfalen, München und Leipzig wurden PM_{2,5-10}- und NO₂-Werte bestimmt.

In München und Nordrhein-Westfalen wurden 2002, 2003 und 2004 dieselben Birken nach Möglichkeit von der gleichen Himmelsrichtung und der gleichen Höhe beprobt. Für jeden Standort wurden Temperatur, relative Luftfeuchtigkeit und Höhe bestimmt. Jede Birke und jede Kiste mit Birkenkätzchen wurden fotografisch festgehalten.

Nach der Verarbeitung der Birkenpollen standen pro Standort 2002 0,12 bis 4,8 g, 2003 0,65 bis 24,33 g und 2004 0,04 bis 11,19 g Birkenpollen zur Verfügung. Ferner wurden Straßennähe, Birkenart, mit jeweiliger Bestimmung der Blätter, Zweige und des Stammes, 2003 und 2004 zusätzlich Stammumfang, Baumhöhe und Reifegrad der Birkenkätzchen berücksichtigt. Außerdem wurde jede Birke fotografisch dokumentiert.



Abbildung 19: Sammlung von Birkenkätzchen



Abbildung 20: Standort W 18 in Duisburg



Abbildung 21: Standort M11 in München



Abbildung 22: Standort M31, Birkenkätzchen in einem Sammelkarton



Abbildung 23: Gesammelte Birkenkätzchen und Pollenstaub

4.3 Bioverfügbarkeit von Majorallergen der Birke Bet v 1

Um die Bioverfügbarkeit des Majorallergens der Birke Bet v 1 quantitativ zu erfassen, wurden definierte Mengen von Pollen in Suspension gebracht und bei 37°C im Schüttelwasserbad inkubiert und die Bet v 1-Konzentrationen von 43 Standorten im Jahre 2002, 39 Standorten 2003 und 41 Standorten 2004 in München gemessen. In NRW wurden die Bet v 1-Werte von 42 Standorten im Jahre 2002, 29 Standorten 2003 und 35 Standorten 2004 und in Leipzig zusätzlich 28 Standorten im Jahre 2004 bestimmt.

Wie in Abbildung 24 A zu sehen, lag das geometrische Mittel der Bet v 1-Konzentrationen in München 2002 bei 234,0 ng/ml, 2003 bei 2590, 4 ng/ml und 2004 bei 3650,3 ng/ml.

Wenn man die Werte der einzelnen Jahre in München vergleicht, kann man sagen, dass das geometrische Mittel der Bet v 1-Konzentrationen im Jahre 2002 mit 234,0 ng/ml deutlich am niedrigsten lag. Im darauffolgenden Jahr war das geometrische

Mittel der Bet v 1-Werte um über das zehnfache erhöht im Vergleich zum Vorjahr 2002. Das höchste geometrische Mittel der Bet v 1-Werte wurde in München 2004 festgestellt.

In NRW zeigten die Werte ein geometrisches Mittel von 211,5 ng/ml 2002, von 819,8 ng/ml 2003 und von 3305,9 ng/ml 2004.

Auch in dieser Region lag das geometrische Mittel der Bet v 1-Konzentrationen 2002 am niedrigsten. Im darauffolgenden Jahr kam es zur einer ca. vierfachen Erhöhung des geometrischen Mittels der Bet v 1-Werte und im Jahr 2004 zu einer Erhöhung um das ca. fünfzehnfache.

In Leipzig betrug das geometrische Mittel der Bet v 1-Konzentrationen 1891,2 ng/ml. Im Vergleich zwischen München und Nordrhein-Westfalen kann man sagen, dass die Konzentrationen des Majorallergens Bet v 1, gemessen in ng/ml, 2002 keine signifikanten Unterschiede aufwiesen. 2003 hingegen waren die Konzentrationen von Bet v 1 signifikant niedriger in NRW als in München.

Wenn man 2002 und 2003 vergleicht, zeigt sich, dass die Werte 2002 insgesamt und in jeder einzelnen Studienregion signifikant niedriger waren als 2003. Im Jahr 2004 wurden in allen Regionen die höchsten Werte gemessen. Darüberhinaus zeigten sich in ländlichen Bereichen höhere Bet v 1-Werte als in städtischen Bereichen (Abbildung 24 B).

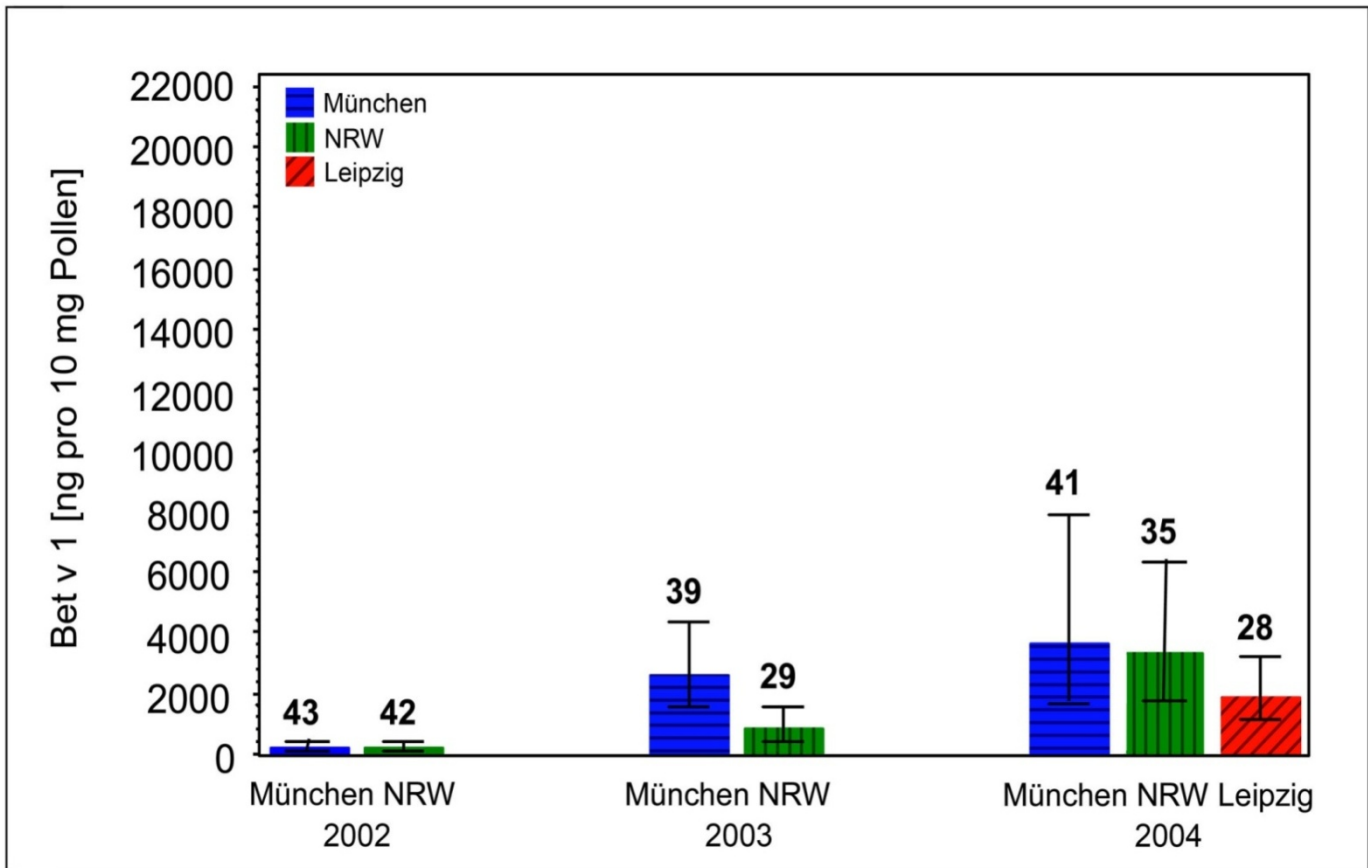


Abbildung 24 A: Gesamtvergleich mit Orts- und Jahresunterschied für Bet v 1 bei 10 mg Pollen/ml mit geometrischem Mittel und 95%-Konfidenzintervall

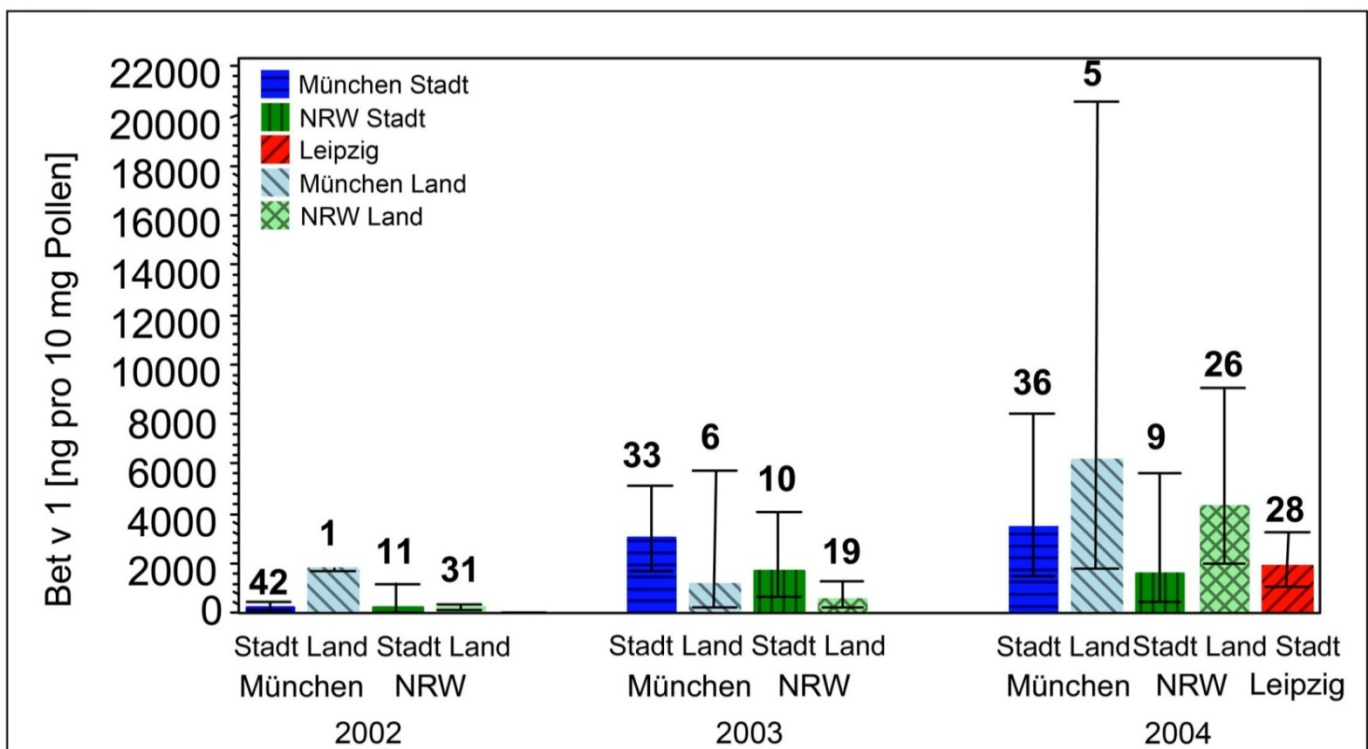


Abbildung 24 B: Vergleich von städtischen und ländlichen Regionen mit Orts- und Jahresunterschied für Bet v 1 bei 10 mg Pollen/ml mit geometrischem Mittel und 95%-Konfidenzintervall

4.4 Bioverfügbarkeit von PALM_{LTB4}

Die Bioverfügbarkeit von PALM_{LTB4} wurde in wässrigen Extrakten mit Hilfe eines LTB₄-ELISAs nachgewiesen. Aus vorausgegangenen Studien war bekannt, dass Pollen in flüssiger Phase PALM_{LTB4} freisetzen, was durch Kreuzreaktion im LTB₄-ELISA nachgewiesen wurde [Behrendt 1999, Behrendt 2001, Kasche 2002]. Die Konzentrationen von PALM_{LTB4} in Extrakten wurden von 39 Standorten 2002, 29 Standorten 2003 und 27 Standorten 2004 in München gemessen. In Nordrhein-Westfalen (NRW) wurden die Werte von PALM_{LTB4} von 42 Standorten im Jahre 2002, von 28 Standorten 2003 und von 39 Standorten 2004 und in Leipzig von zusätzlich 32 Standorten im Jahre 2004 bestimmt.

Wie in Abbildung 25 A zu sehen, lag das geometrische Mittel von PALM_{LTB4} in München 2002 bei 550,8 pg/ml, 2003 bei 112,8 pg/ml und 2004 bei 223,7 pg/ml.

Wenn man die Werte der einzelnen Jahre in München vergleicht, kann man sagen, dass das geometrische Mittel von PALM_{LTB4} im Jahre 2002 mit 550,8 pg/ml am höchsten war. Im darauffolgenden Jahr lag das geometrische Mittel um ca. ein Fünftel und 2004 um ca. die Hälfte niedriger.

Die PALM_{LTB4}-Werte zeigten in NRW 2002 ein geometrisches Mittel von 282,8 pg/ml, 2003 von 143,2 pg/ml und 2004 von 184,4 pg/ml. Auch in dieser Region zeigten die PALM_{LTB4}-Konzentrationen einen deutlichen Rückgang um ungefähr die Hälfte 2003 und ca. einem Drittel 2004 im Vergleich zum Jahr 2002.

In Leipzig betrug im Jahr 2004 das geometrische Mittel von PALM_{LTB4} 353,2 pg/ml.

Im Vergleich zwischen München und Nordrhein-Westfalen waren die PALM_{LTB4}-Konzentrationen 2002 in München signifikant höher als in NRW. 2003 hingegen waren die Konzentrationen von PALM_{LTB4} signifikant niedriger in München als in NRW.

Wenn man 2002 und 2003 vergleicht, zeigt sich, dass die Werte 2002 insgesamt und in jeder einzelnen Studienregion signifikant höher waren als 2003. Im Jahr 2004 waren die PALM_{LTB4}-Konzentrationen in München und NRW höher als 2003, aber niedriger als 2002. In Leipzig wurden 2004 im Vergleich zu den anderen Studienregionen die höchsten Konzentrationen gemessen.

Vergleicht man ländliche und städtische Bereiche (Abbildung 25 B), so zeigt sich im Jahr 2004, dass die PALM_{LTB4}-Konzentrationen in den städtischen Bereichen höher waren als in den ländlichen Bereichen.

In den Jahren 2002 und 2003 waren weder bei den insgesamt 39 Standorten in Bayern, noch bei den insgesamt 28 Standorten in NRW signifikante Unterschiede bei

den PALM_{LTB4}-Konzentrationen zwischen städtischen und ländlichen Gebieten er-
ierbar.

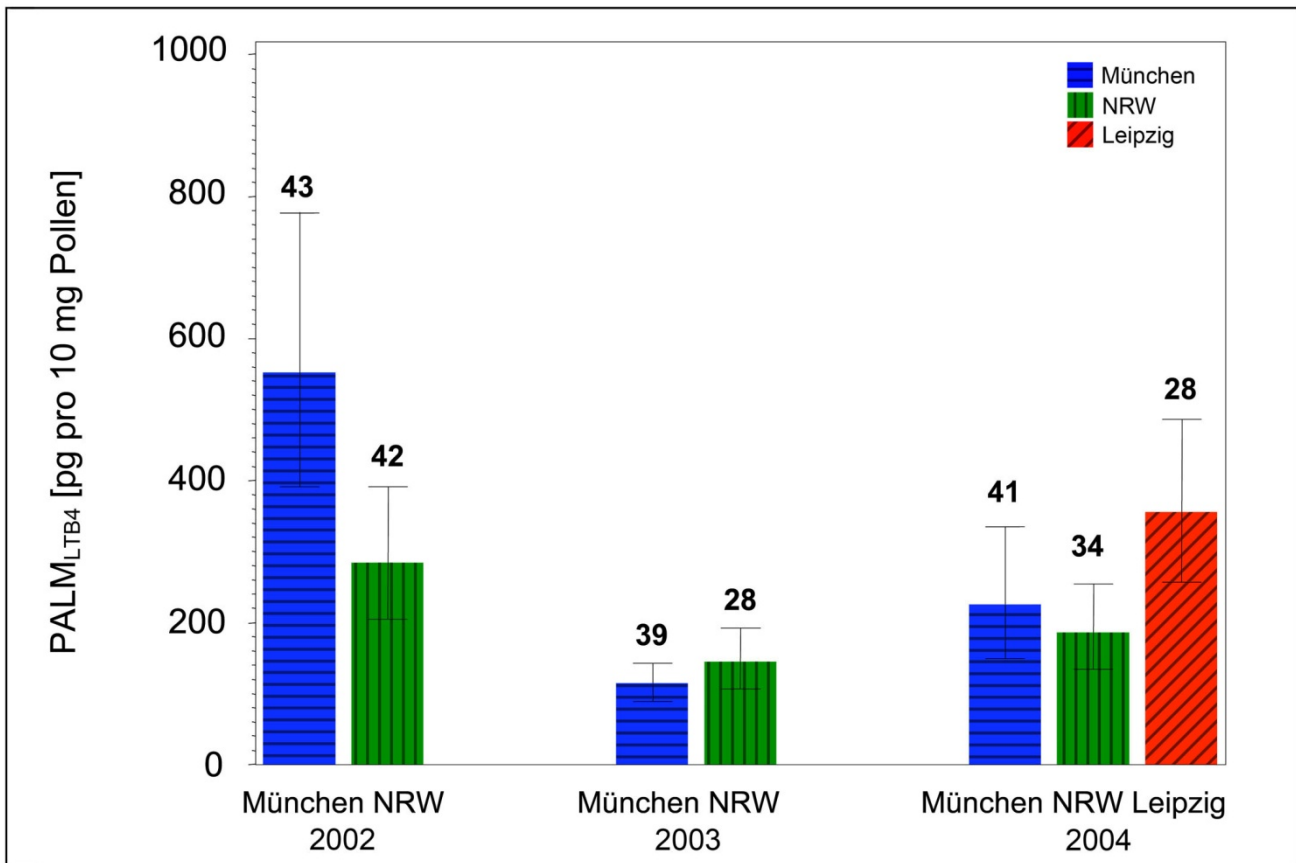


Abbildung 25 A: Gesamtvergleich mit Orts- und Jahresunterschied für PALM_{LTB4} bei 10 mg Pollen/ml mit geometrischem Mittel und 95%-Konfidenzintervall

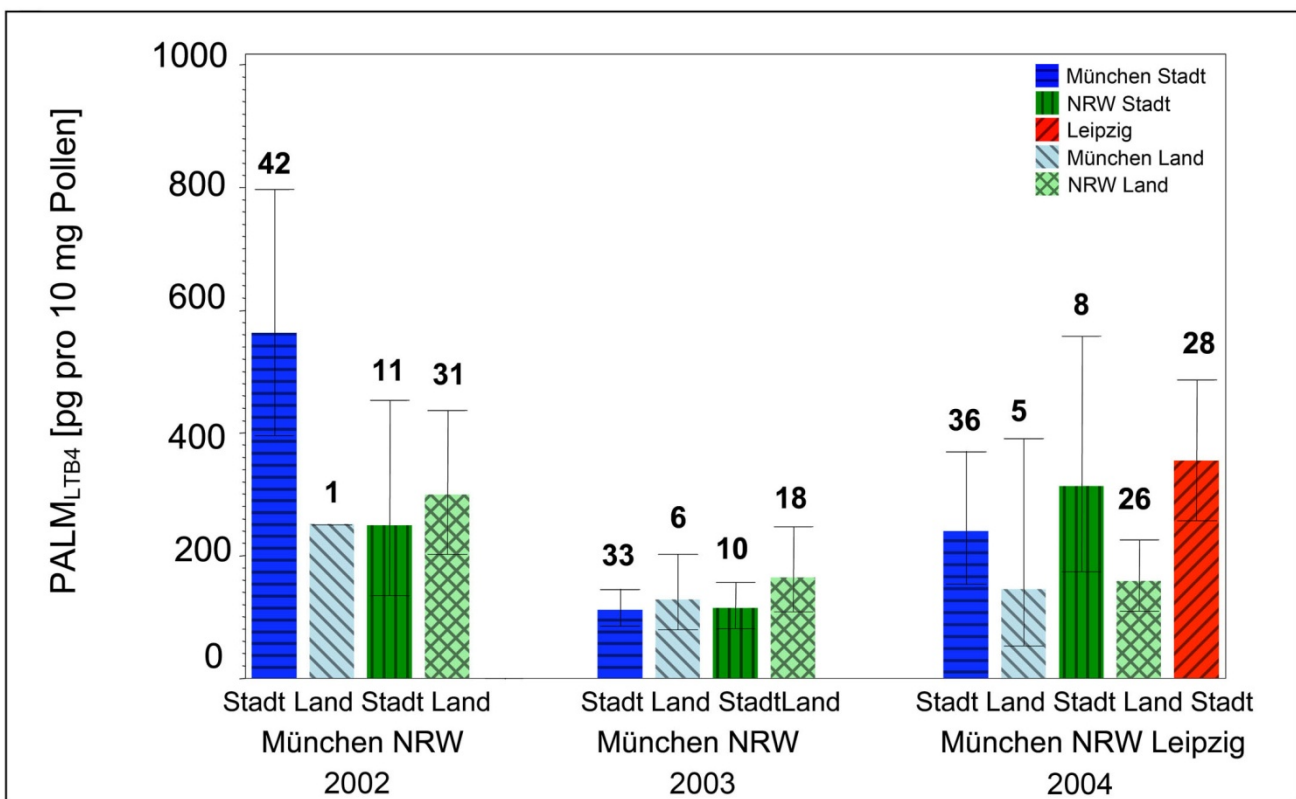


Abbildung 25 B: Vergleich von städtischen und ländlichen Regionen mit Orts- und Jahresunterschied für PALM_{LTB4} bei 10 mg Pollen/ml mit geometrischem Mittel und 95% Konfidenzintervall

4.5 Bioverfügbarkeit von PALM_{PGE2}

In vorausgegangenen Studien wurde nachgewiesen, dass Pollen in flüssiger Phase PALM_{PGE2} freisetzen, was durch Kreuzreaktion im PGE₂-ELISA nachgewiesen werden kann [Behrendt 1999, Behrendt 2001, Kasche 2002].

Es wurden die Konzentrationen von PALM_{PGE2} von 39 Standorten im Jahre 2002, 29 Standorten 2003 und 27 Standorten 2004 in München gemessen.

In NRW wurden die Werte von PALM_{PGE2} von 42 Standorten im Jahre 2002, 28 Standorten 2003 und 39 Standorten 2004 sowie in Leipzig zusätzlich 32 Standorten im Jahre 2004 bestimmt.

Wie in Abbildung 26 A zu sehen, lag das geometrische Mittel von PALM_{PGE2} in München 2002 bei 855,7 pg/ml, 2003 bei 829,0 pg/ml und 2004 bei 619,7 pg/ml.

Wenn man die Werte der einzelnen Jahre in München vergleicht, kann man sagen, dass die geometrischen Mittel von PALM_{PGE2} in den Jahren 2002 und 2003 nicht stark voneinander abweichen. Im darauffolgenden Jahr lag das geometrische Mittel von PALM_{PGE2} um fast ein Drittel niedriger als in den beiden Vorjahren.

In NRW zeigten die PALM_{PGE2}-Werte ein geometrisches Mittel von 897,4 pg/ml 2002, 1959,2 pg/ml 2003 und 1498,2 pg/ml 2004. In dieser Region zeigte sich das höchste geometrische Mittel der PALM_{PGE2}-Werte 2003. Um ein Viertel niedriger lag das geometrische Mittel der PALM_{PGE2}-Werte 2004 und um über die Hälfte niedriger 2002.

In Leipzig betrug im Jahr 2004 das geometrische Mittel von PALM_{PGE2} 2585,5 pg/ml.

Im Vergleich zwischen München und Nordrhein-Westfalen lässt sich sagen, dass sich bei den Konzentrationen von PALM_{PGE2} 2002 keine signifikanten Unterschiede zeigten.

2003 fanden sich in NRW höhere Werte als in München. 2004 waren die höchsten Konzentrationen in Leipzig und die niedrigsten in München zu finden.

Wenn man die Jahre 2002, 2003 und 2004 miteinander vergleicht, kann man sagen, dass in München die PALM_{PGE2}-Konzentrationen etwa im gleichen Bereich lagen. In NRW ist gegenüber dem Jahre 2002 eine Verdoppelung zu beobachten. In NRW zeigten sich 2002 zwischen den 11 städtischen und 31 ländlichen Standorten keine signifikanten Unterschiede.

2003 gab es weder bei den insgesamt 39 Standorten in Bayern, noch bei den insgesamt 28 Standorten in NRW signifikante Unterschiede bei den PALM_{PGE2} zwischen städtischen und ländlichen Gebieten.

Vergleicht man ländliche und städtische Bereiche (Abbildung 26 B), so zeigt sich im Jahr 2004, dass die PALM_{PGE2}-Konzentrationen in den städtischen höher waren als in den ländlichen Bereichen.

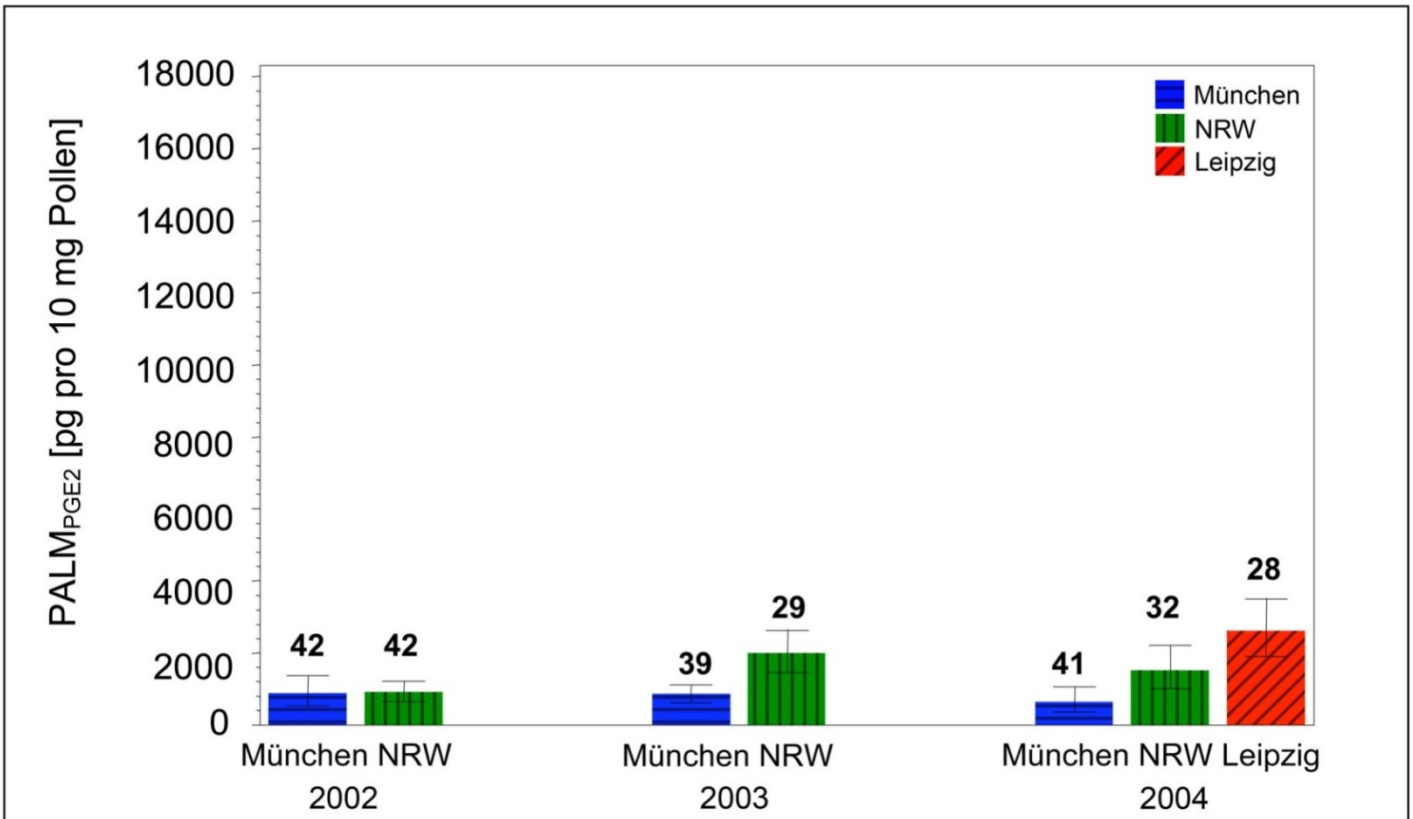


Abbildung 26 A: Gesamtvergleich mit Orts- und Jahresunterschied für PALM_{PGE2} bei 10 mg Pollen/ml mit geometrischem Mittel und 95%-Konfidenzintervall

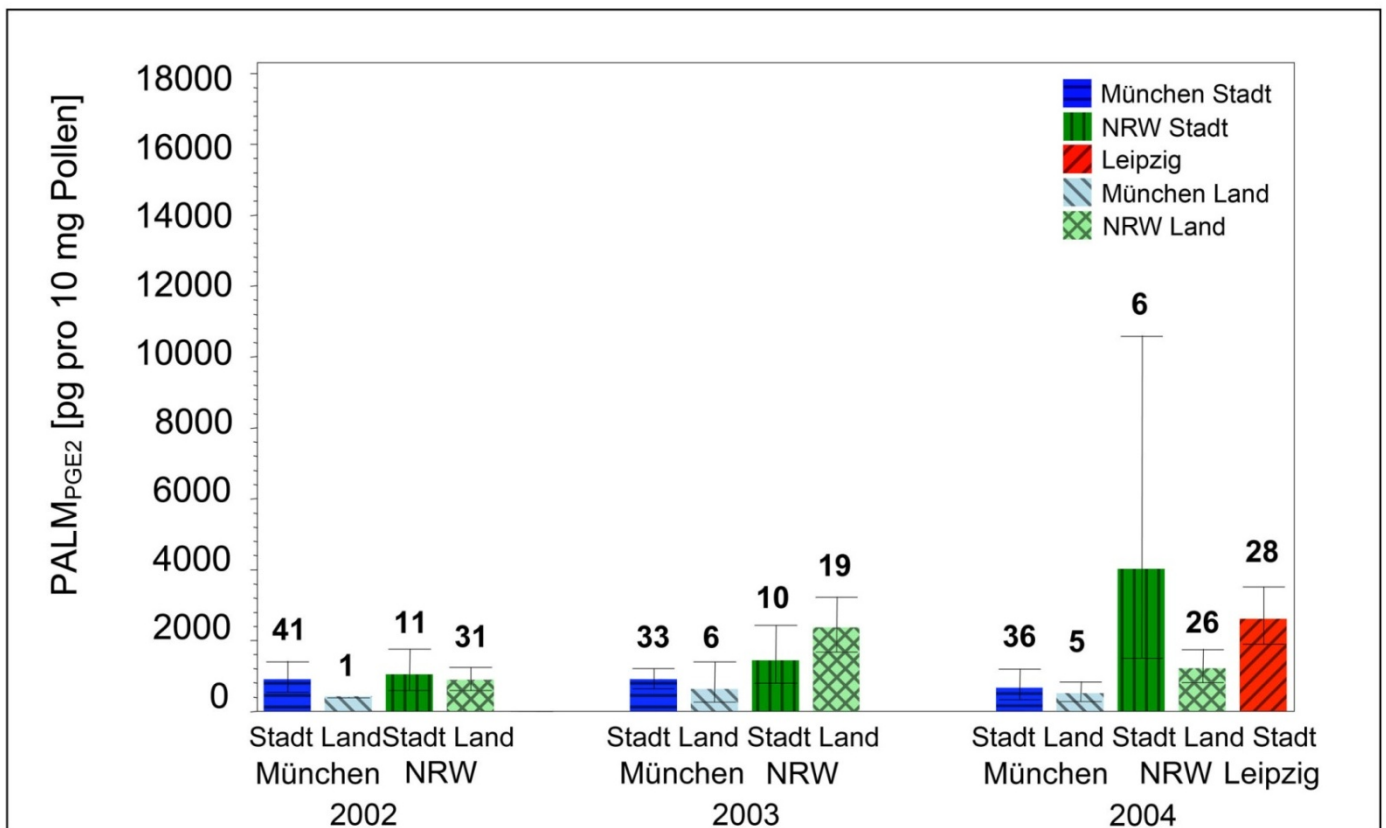


Abbildung 26 B: Vergleich von städtischen und ländlichen Regionen mit Orts- und Jahresunterschied für PALM_{PGE2} bei 10 mg Pollen/ml mit geometrischem Mittel und 95%-Konfidenzintervall

4.6 Bioverfügbarkeit von Gesamtprotein

Die Konzentrationen in freigesetztem Gesamtprotein wurde von 43 Standorten im Jahre 2002, 39 Standorten 2003 und 41 Standorten 2004 in München gemessen.

In NRW wurden die Gesamtproteinwerte von 42 Standorten im Jahre 2002, 25 Standorten 2003 und 33 Standorten 2004 sowie in Leipzig zusätzlich 28 Standorten im Jahre 2004 bestimmt.

Wie in Abbildung 27 A zu sehen, lag das geometrische Mittel der Gesamtproteinwerte in München 2002 bei 123,3 µg/ml, 2003 bei 71,5 µg/ml und 2004 bei 122,9 µg/ml. Im Vergleich waren die geometrischen Mittel des Gesamtproteins in München in den Jahren 2002 und 2004 fast gleich hoch. 2003 zeigte sich ein Rückgang um fast die Hälfte.

In NRW zeigten die Gesamtproteinwerte ein geometrisches Mittel von 115,1 µg/ml 2002, 71,5 µg/ml 2003 und 93,5 µg/ml 2004.

In Leipzig betrug das geometrische Mittel des Gesamtproteins 98,6 µg/ml (Abbildung 27 A).

Im Vergleich zwischen München und Nordrhein-Westfalen zeigten die Gesamtprotein-Konzentrationen in allen Jahren (2002, 2003 und 2004) keine signifikanten Unterschiede.

Im Vergleich zwischen München und NRW fand man hinsichtlich der Gesamtprotein-Konzentrationen keine signifikanten Unterschiede. Es gab auch keine Unterschiede zwischen städtischen und ländlichen Bereichen (Abbildung 27 B).

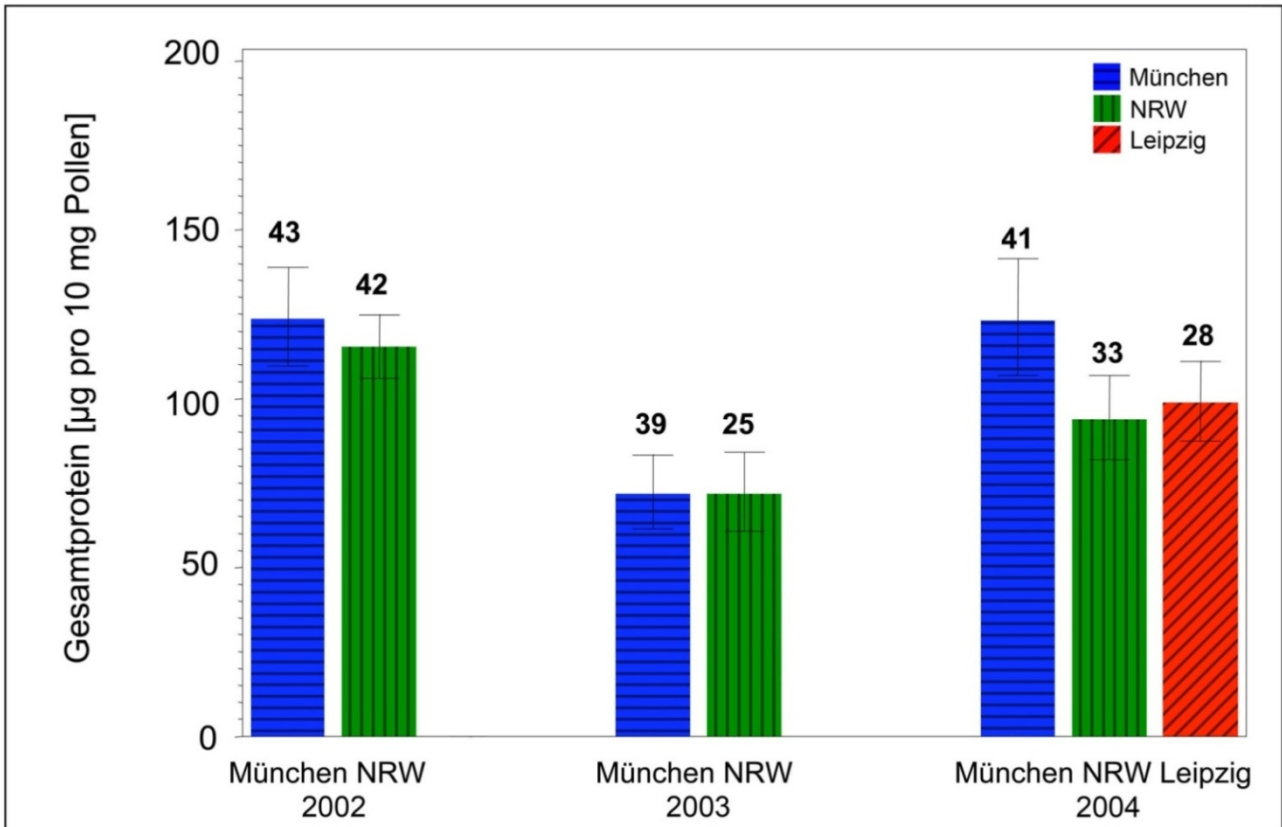


Abbildung 27 A: Gesamtvergleich mit Orts- und Jahresunterschied für Gesamtprotein bei 10 mg Pollen/ml mit geometrischem Mittel und 95%-Konfidenzintervall

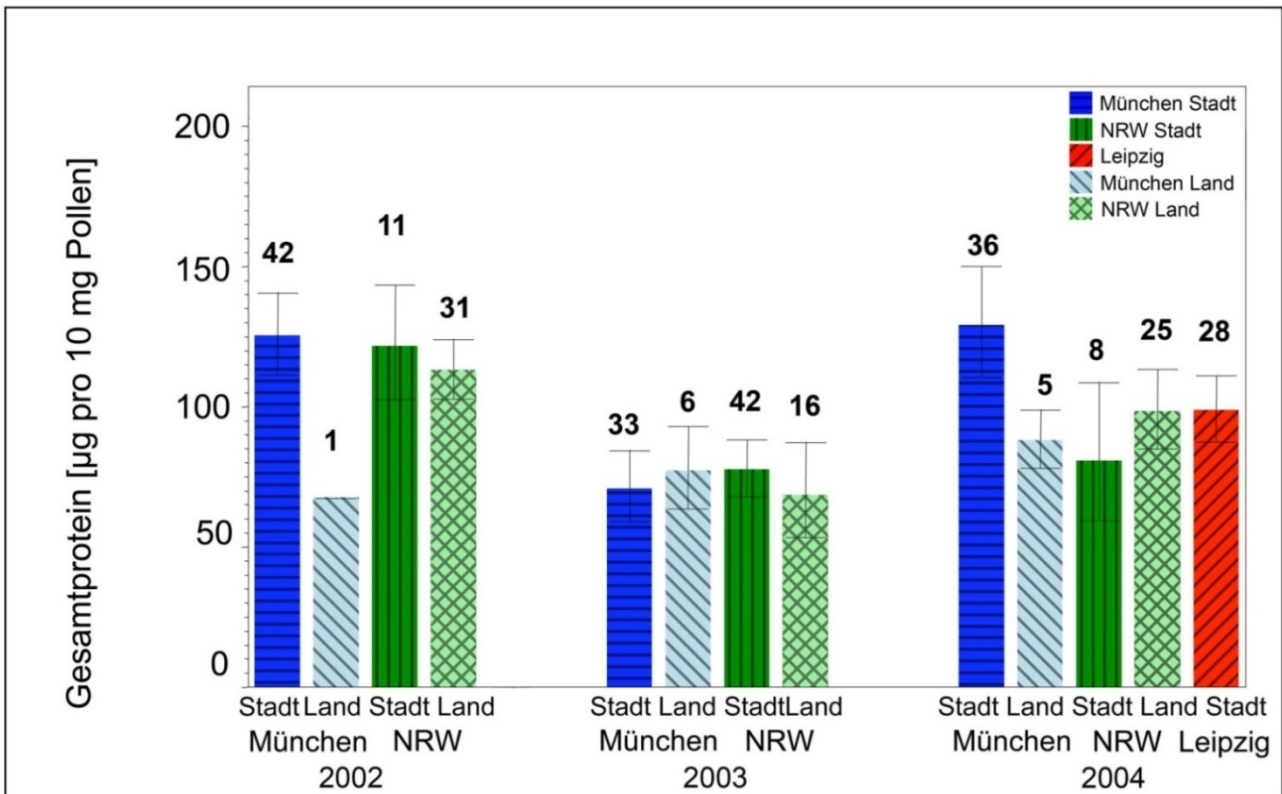


Abbildung 27 B: Vergleich von städtischen und ländlichen Regionen mit Orts- und Jahresunterschied für Gesamtprotein bei 10 mg Pollen/ml mit geometrischem Mittel und 95%-Konfidenzintervall

4.7 Vergleich zwischen Bet v 1- und PALM_{LTB4}-Konzentrationen 2002/2003

Die Bet v 1- und die PALM_{LTB4}-Konzentrationen der Birkenpollenextrakte korrelieren negativ in den Jahren 2002 und 2003 (Abbildung 28)

(2002 $r = -0,56$, $p = <0,001$; 2003 $r = -0,37$, $p = 0,004$).

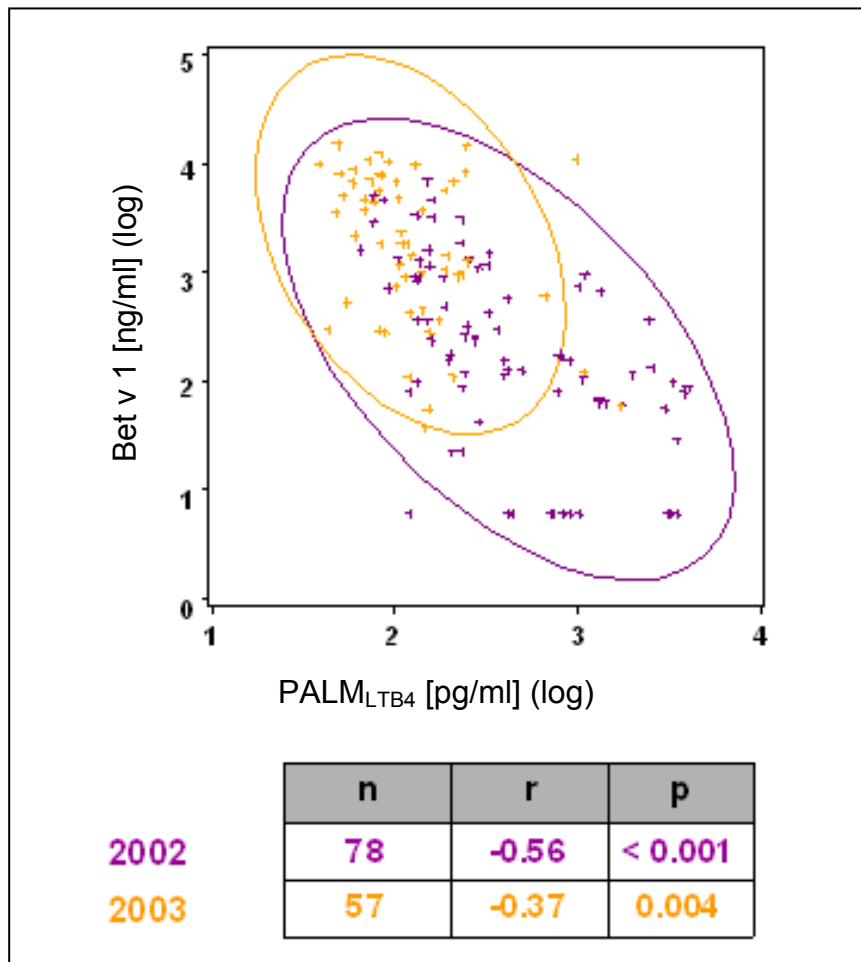


Abbildung 28: Korrelation zwischen Bet v 1- und PALM_{LTB4} – Freisetzung aus Birkenpollen in den Jahren 2002 und 2003

Beim Vergleich der Bet v 1- und PALM_{LTB4}-Konzentrationen zwischen den einzelnen Regionen lagen die Bet v 1-Werte in den ländlichen höher als in den städtischen Gebieten. Im Jahr 2004 war eine negative Korrelation der PALM_{LTB4}- und Bet v 1-Konzentrationen zu sehen (Abbildung 29).

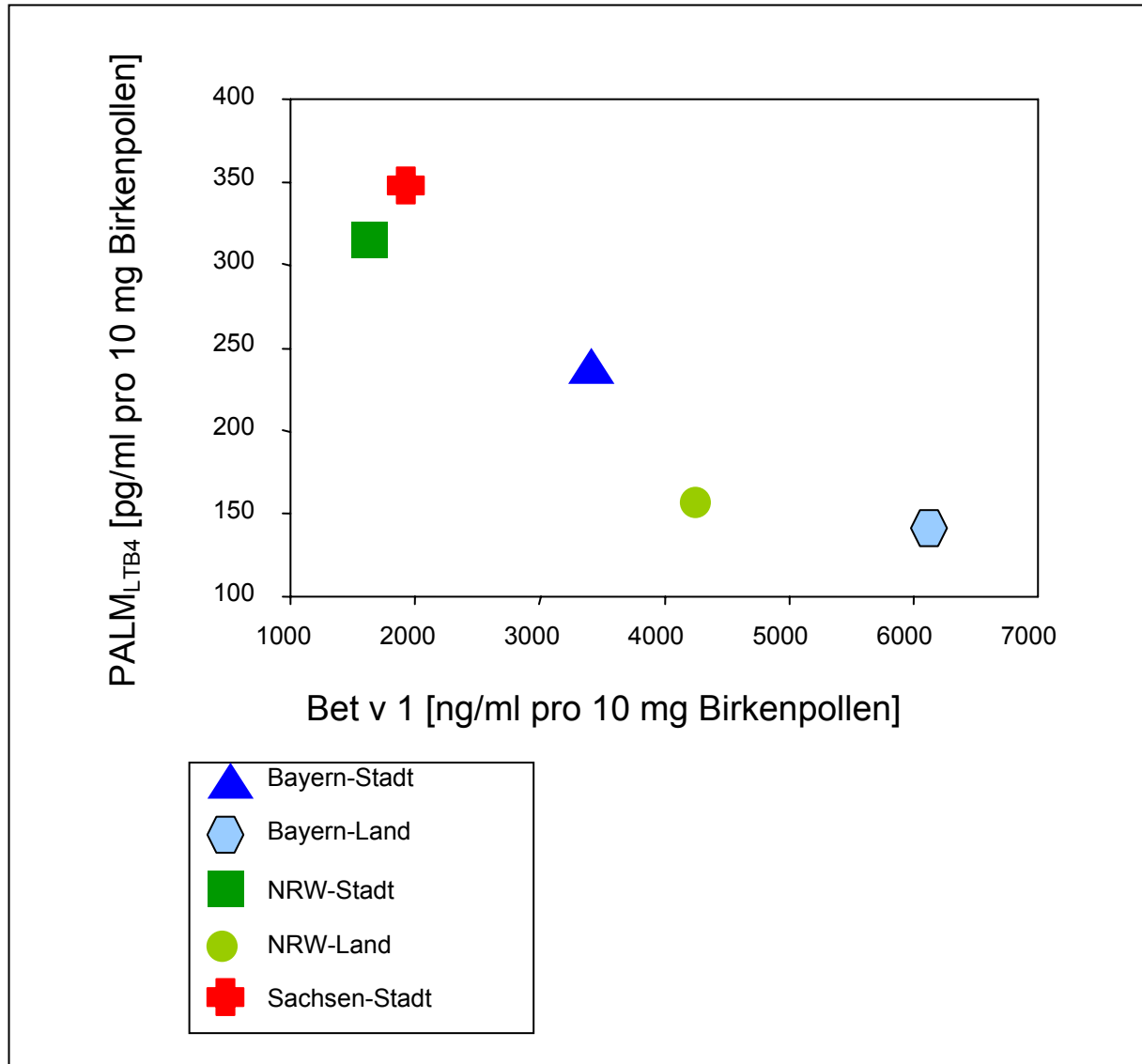


Abbildung 29: Korrelation zwischen Bet v 1- und PALM_{LTB4}-Freisetzung aus Birkenpollen in den einzelnen Regionen

Inverse Ergebnisse zeigten die PALM_{LTB4}-Konzentrationen. Hier fanden sich in den städtischen Regionen höhere PALM_{LTB4}-Werte als in den ländlichen (Abbildung 30).

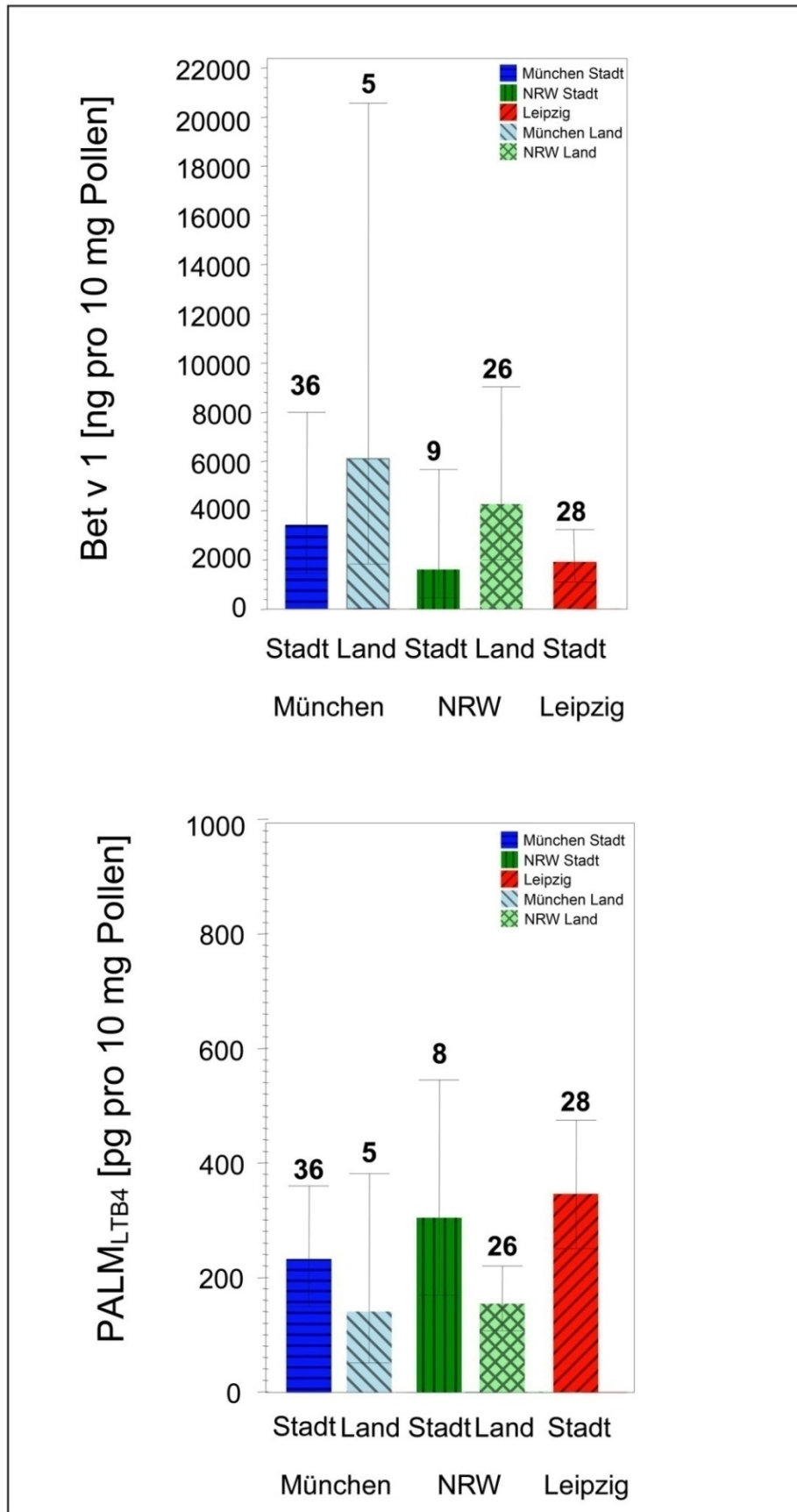


Abbildung 30: Vergleich der Bioverfügbarkeit von PALM_{LTB4} und Bet v 1 in ländlichen und städtischen Gebieten von München, NRW und Leipzig

4.8 Korrelation von PALM_{LTB4}-Freisetzung und Verkehrsbelastung

Bei einer Distanz der Birke von unter 150 Metern zur nächsten stark befahrenen Straße zeigten sich bei den 19 Standorten im Jahr 2002 in München eine signifikant höhere Konzentration von PALM_{LTB4}, als bei den weiter entfernten 20 Standorten, die sich über 150 Meter von einer stark befahrenen Straße befanden (Abbildung 31).

Auch 2003 gab es in München signifikante Unterschiede. Die 14 Standorte, die sich weniger als 150 Meter entfernt von einer stark befahrenen Straße befanden, wiesen höhere Konzentrationen von PALM_{LTB4} auf, als die 15 Standorte, die weiter als 150 Meter von der nächsten Straße lagen.

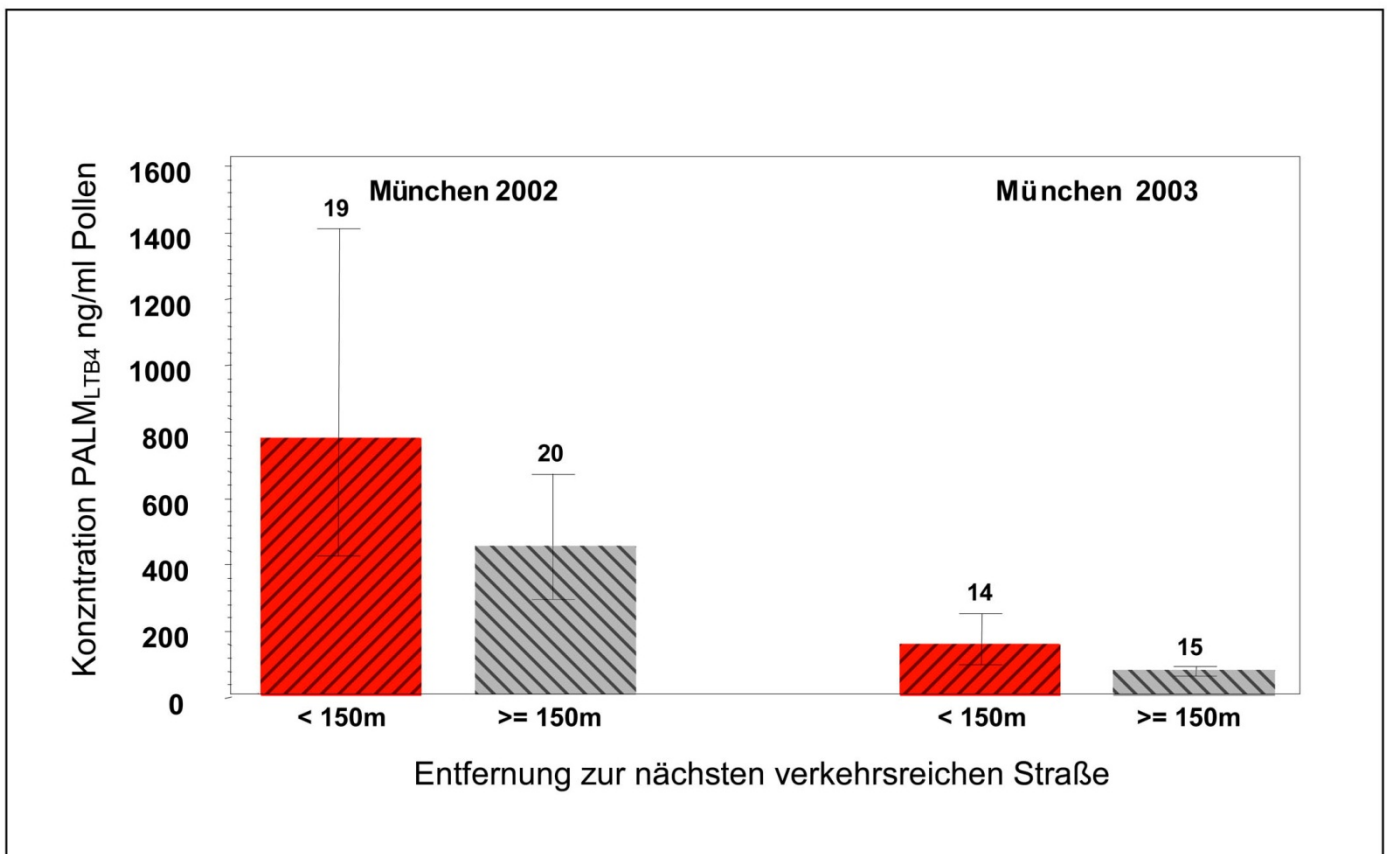


Abbildung 31: PALM_{LTB4} in München in den Jahren 2002 und 2003 bei einer Entfernung < bzw. >=150 m zur nächsten verkehrsreichen Straße

4.9 Korrelation zwischen NO_2 und $\text{PALM}_{\text{LTB4}}$

Um den möglichen Einfluss der Luftschadstoffbelastung auf die $\text{PALM}_{\text{LTB4}}$ -Freisetzung aus Birkenpollen zu überprüfen, wurden die NO_2 -Konzentrationen in Bayern und Nordrhein-Westfalen (ländlich und städtisch) gemessen. Im Jahr 2002 zeigten sich keine Korrelationen zwischen $\text{PALM}_{\text{LTB4}}$ -Freisetzung und NO_2 in der Außenluft in Bayern und ländlichen Bereichen in Nordrhein-Westfalen (Abbildung 32). In städtischen Bereichen in NRW jedoch, zeigte sich eine positive Korrelation zwischen $\text{PALM}_{\text{LTB4}}$ und NO_2 ($r=0,50$; Abbildung 32 A). Auch im Jahr 2003 zeigten sich in den ländlichen Bereichen in Nordrhein-Westfalen und in Bayern keine Korrelationen zwischen $\text{PALM}_{\text{LTB4}}$ und NO_2 . In den städtischen Bereichen in Nordrhein-Westfalen zeigte sich eine, jedoch geringer als 2002 ausgeprägte, positive Korrelation zwischen $\text{PALM}_{\text{LTB4}}$ und NO_2 ($r=0,37$; Abbildung 32 B).

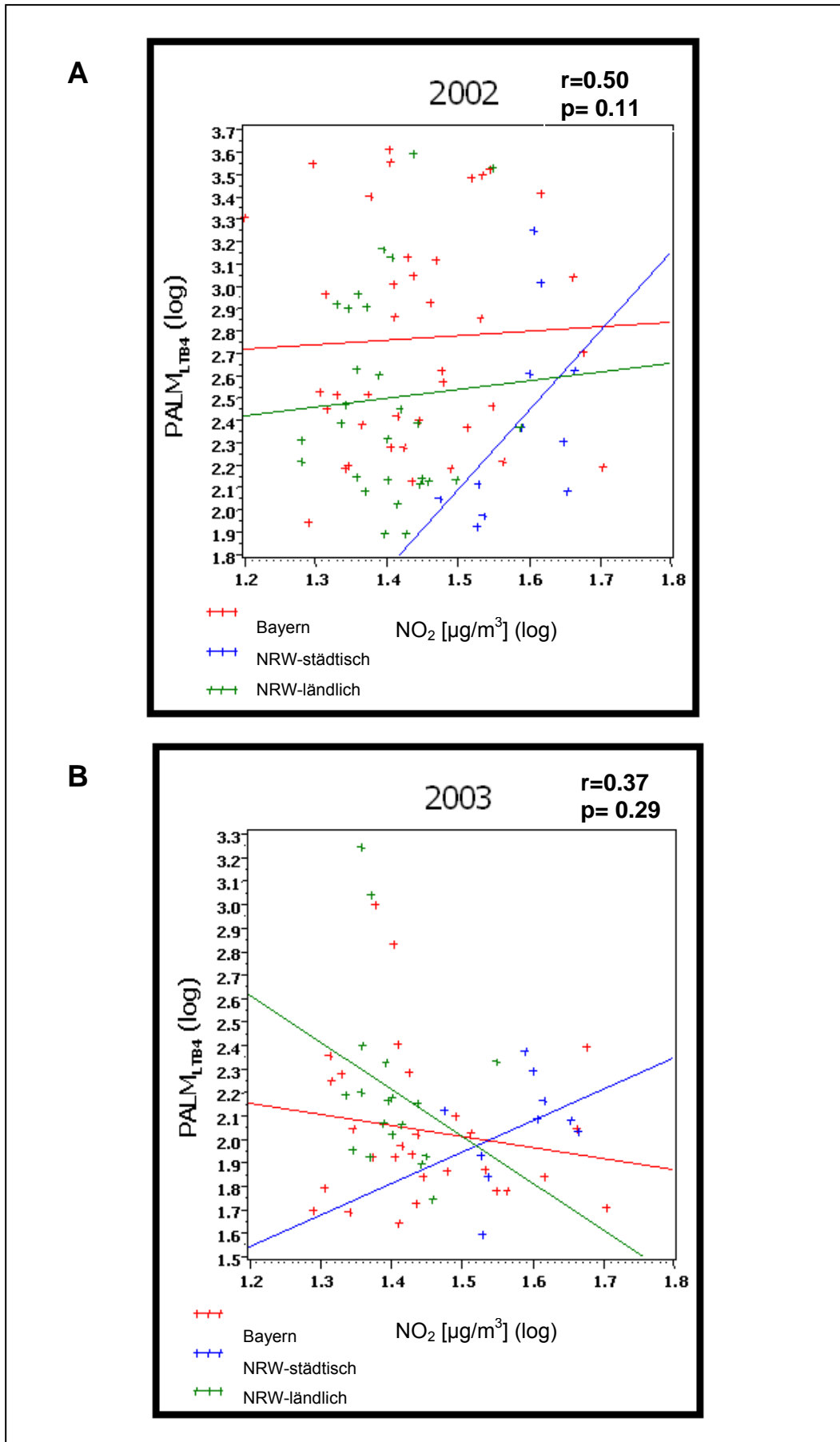



Abbildung 32: Beziehungen zwischen PALM_{LTB4}-Konzentrationen und NO₂-Werte




4.10 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

An einigen Standorten wurden morphologische Untersuchungen von Birkenpollen mit Hilfe des Elektronenmikroskopes durchgeführt. Aus München wurden dabei jeweils zwei Standorte mit besonders hoher und zwei Standorte mit niedriger Verkehrsbelastung ausgewählt. Als Parameter für die Verkehrsbelastung diente hierbei NO_2 gemessen in $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

| Tabelle 7: Standorte in München, bei denen morphologische Pollenuntersuchungen durchgeführt wurden | | | |
|---|------------------------|--|-------------------------------------|
| Birke Nr. | Standort | NO_2 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) | PM 2,5 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) |
| M5 | Heckenstaller Str. 104 | 50,64 | 17,51 |
| M22 | Germaniastr. 4 | 46,01 | 17,28 |
| M31 | Schönstraße | 19,80 | 11,95 |
| M32 | Drygalski Allee 33 | 19,52 | 12,21 |

In den Abbildungen 33 bis 39 sind elektronenmikroskopische Aufnahmen von Birkenpollen abgebildet.

Wie in den Abbildungen 33 und 34 zu sehen, stellten sich die Birkenpollen, die an Standorten niedriger Verkehrsbelastung (Standort M32 und M31) gesammelt wurden, in ihrer Struktur regelrecht dar. Insbesondere fanden sich keine Auflagerungen auf der Exine, keine Ausbildung von Pseudopollenschläuchen und eine regelrechte Porenmorphologie. Man sieht drei rundliche leicht vorgewölbte Porenöffnungen [].

Im Gegensatz dazu zeigten die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen von Birkenpollen, die an Standorten in unmittelbarer Nähe zu verkehrsreichen Straßen (Standorte M5 und M25) gesammelt wurden, die Ausbildung von Pseudoschlauch-Formationen [] und Ausstülpungen [] im Bereich der Poren als Ausdruck von Stress (35, 36 und 37). Darüber hinaus fanden sich partikuläre Auflagerungen [], teils in agglomerierter Form, insbesondere im Bereich der Exine porennah (38 und 39).

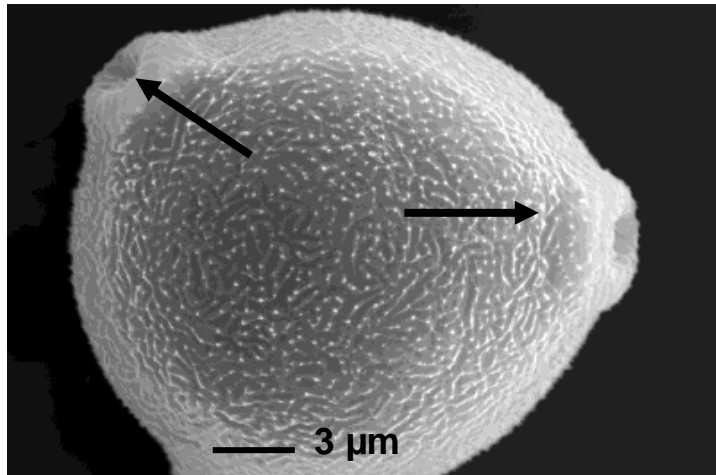


Abbildung 33 A

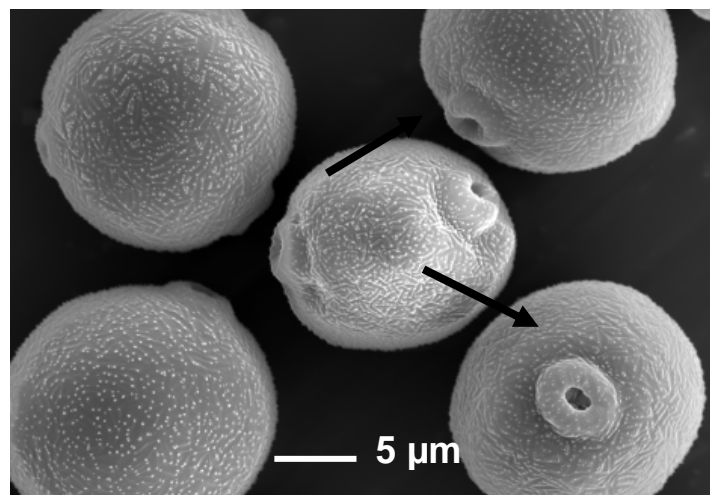


Abbildung 33 B Rasterelektronische Darstellung von Birkenpollen von Standort 31 München: niedrige NO_2 - und $\text{PM}_{2,5}$ -Konzentration, Gärtnerei Griebel, Schönstr. 85, Nebenstraße, Anwohnerverkehr

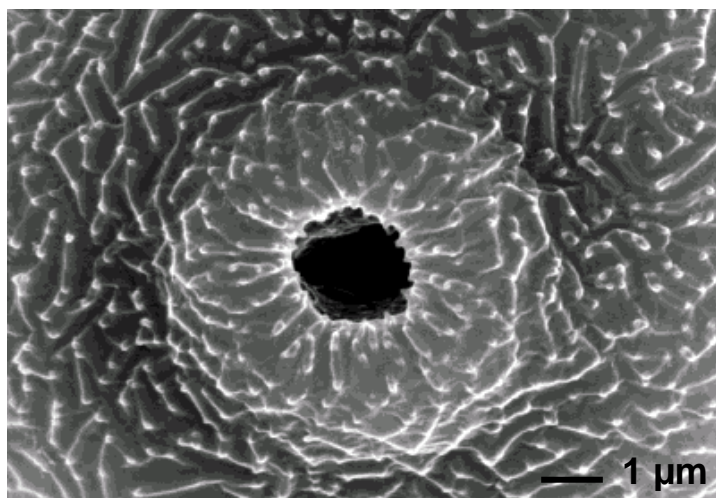


Abbildung 34 Birkenpollenoberfläche mit Pore im Rasterelektronenmikroskop Standort 32 München: niedrige NO_2 - und PM_{10} -Konzentration, Drygalski Allee 33, Nebenstraße, Anwohnerverkehr

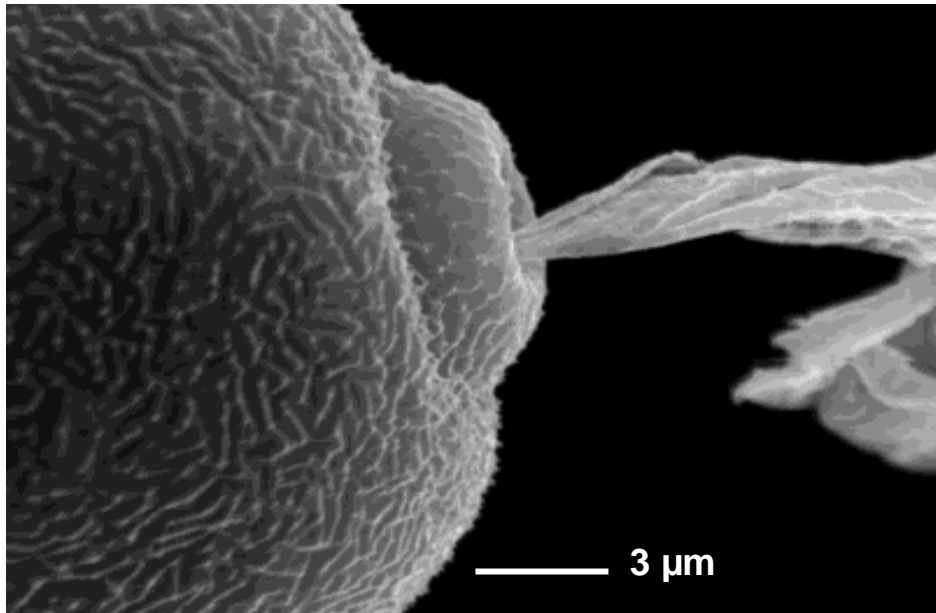


Abbildung 35

Ausbildung von Pseudopollenschläuchen im Rasterelektronenmikroskop Standort München 22: Germaniastr. 4, höchste PM_{2,5} und zweithöchste NO₂-Konzentration, Hauptstraße mit Durchgangs-, Berufs- und Anwohnerverkehr

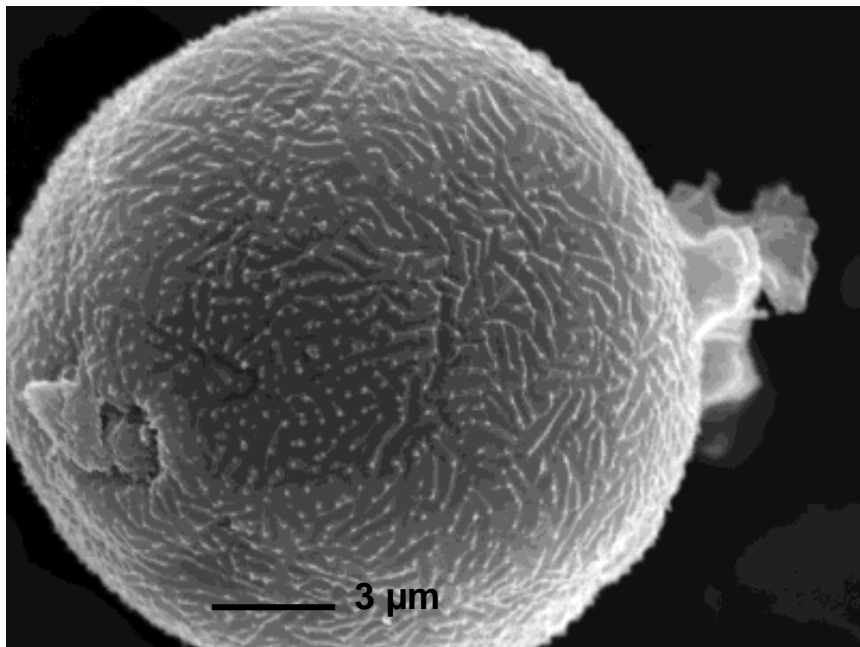


Abbildung 36

Ausbildung von Pseudopollenschläuchen im Rasterelektronenmikroskop Standort München 5: Heckenstallerstr. 104, höchste in München gemessene NO₂-Konzentration, Hauptstraße mit Durchgangs- und Berufsverkehr

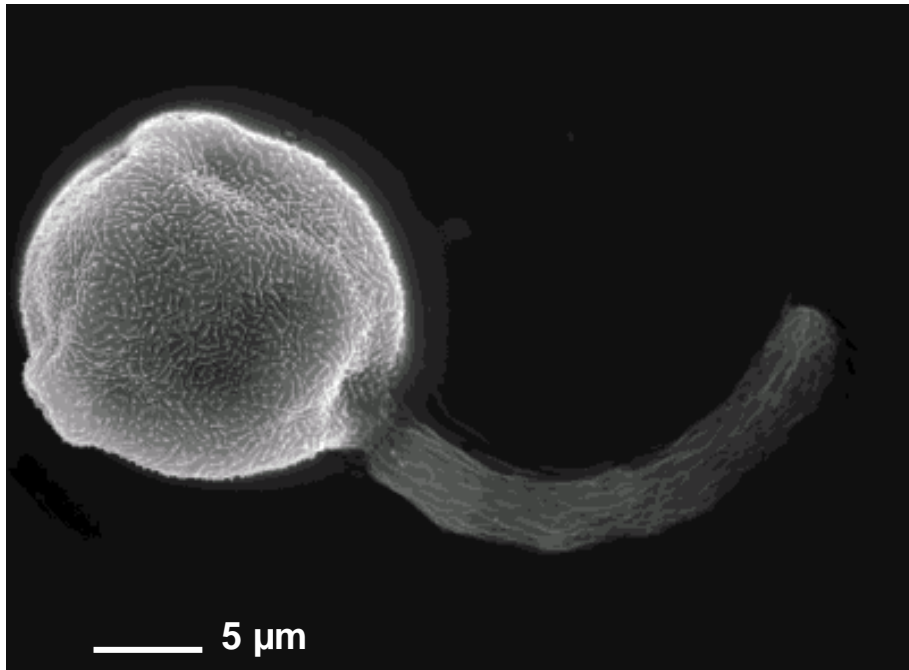


Abbildung 37 A

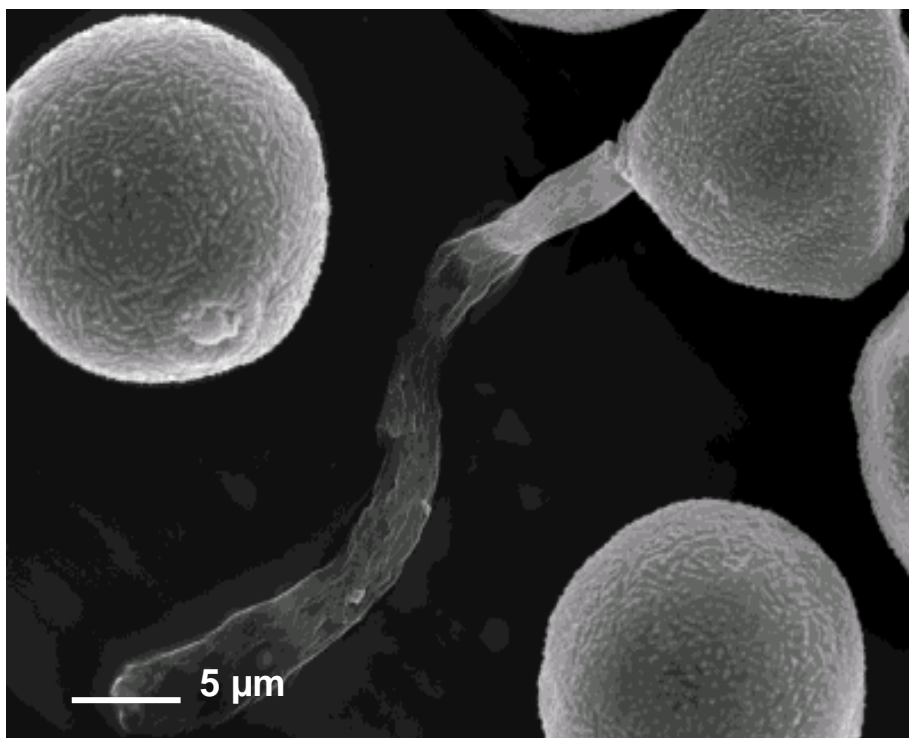


Abbildung 37 B

Ausbildung von Pseudopollenschläuchen

Standort München 5: Heckenstallerstr. 104, höchste in München gemessene NO₂-Konzentration, Hauptstraße mit Durchgangs- und Berufsverkehr

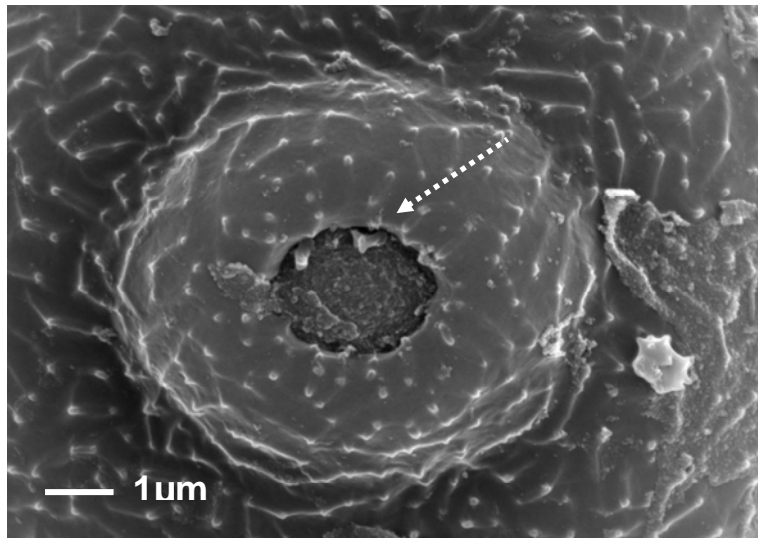


Abbildung 38 A

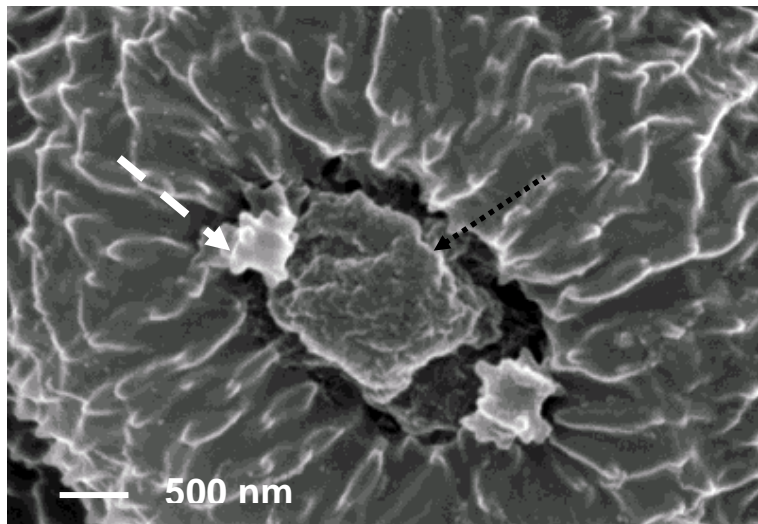


Abbildung 38 B

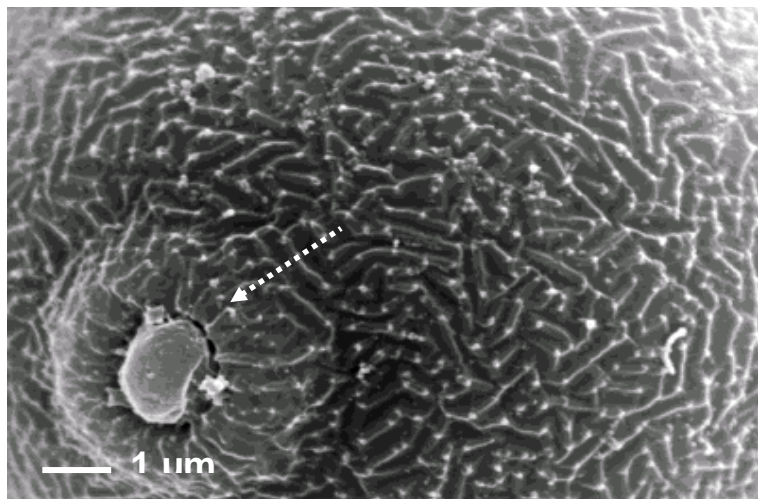


Abbildung 38 C

Porenahe partikuläre Auflagerungen
Standort München 22: Germaniastr. 4, höchste PM
2,5 und zweithöchste NO₂-Konzentration, Hauptstraße
mit Durchgangs-, Berufs- und Anwohnerverkehr

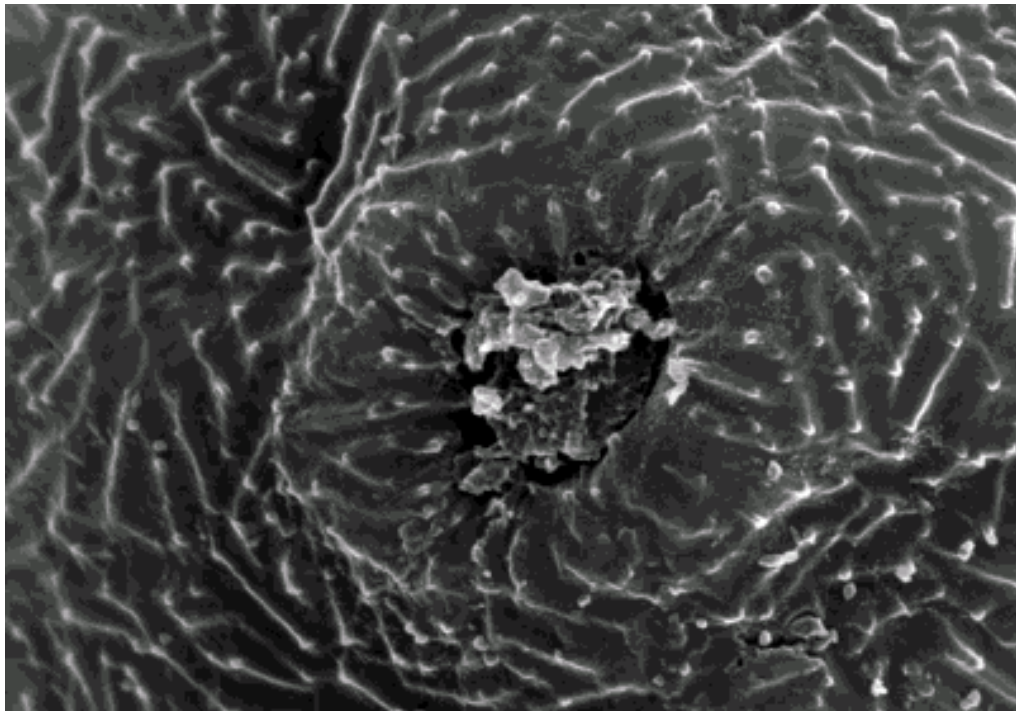


Abbildung 39 A
Porenahe partikuläre Ablagerungen in agglomerierter Form

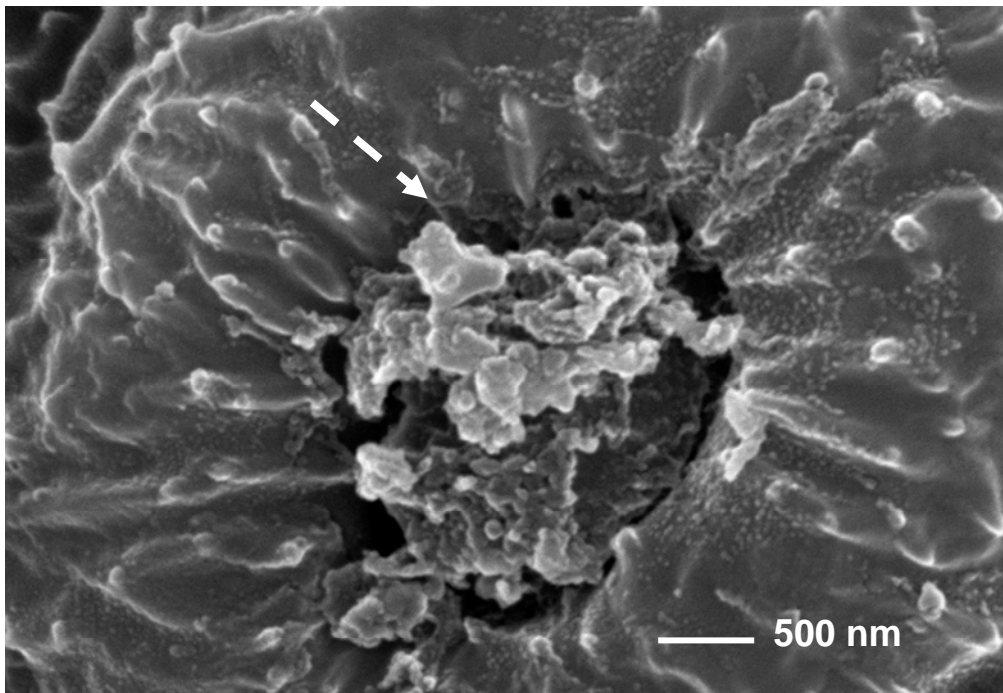


Abbildung 39 B Vergrößerter Ausschnitt von Abbildung 39 A

Standort München 5: Heckenstallerstr. 104, höchste in München gemessene NO_2 -Konzentration, Hauptstraße mit Durchgangs- und Berufsverkehr

4.11 Immunoblot-Untersuchungen

Zur Auftrennung der Birkenproteine wurde die Methode der Elektrophorese gewählt. Es wurden Standorte mit besonders niedrigen und Standorte mit besonders hohen NO₂-Konzentrationen in München und NRW ausgewählt.

Es handelte sich hierbei um die sechs Münchner Standorte M3, M17, M30, M32, M36 und M38 und um die sechs Standorte aus Nordrhein-Westfalen W26, W28, W30, W 35, W40 und W42.

Tabelle 8: Standorte der Birken mit besonders hohen bzw. niedrigen NO₂- Konzentrationen [$\mu\text{g}/\text{m}^3$] und den entsprechenden Bet v 1-Werten [ng/ml] in München und NRW 2002

| Standort | Ort | Straße | NO ₂ -Konzentration [$\mu\text{g}/\text{m}^3$] | Bet v 1-Konzentration [ng/ml] |
|----------|-----------------------|-----------------------|---|---|
| M3 | München | Balanstr. 22 | 35,32 | 1112 |
| M17 | München | Hohenzollernstr. 140 | 36,64 | 3192 |
| M30 | München | Bodelschwinghstr. 16 | 41,42 | 132,8 |
| M32 | München | Drygalski Allee 33 | 19,52 | 4596 |
| M36 | München | Drygalski Allee 2 | 20,24 | 1512 |
| M38 | München | Theodor-Heuss-Platz 6 | 15,86 | 117,2 |
| W26 | Rhede-Vardingholt | Am Stein 1 | 15,6 | 164 |
| W28 | Alpen-Menzelen (West) | Schulstr. | 15,87 | 162 |
| W30 | Duisburg | Am See | 55,5 | 130 |
| W35 | Borken-Hoxfeld | Hoxfelder-Esch | 18,3 | 836 |
| W40 | Xanten-Marienbaum | E.-Underbergstr. | 32,8 | 930 |
| W42 | Rees | Gruenewaldsweg 1 | 12,24 | 426 |

Neben dem Majorallergen der Birke Bet v 1 gibt es noch weitere Bet v Allergene. Auch gegen diese Allergene können Birkenpollenallergiker Sensibilisierungen aufweisen. Da die Elektrophorese die Birkenproteine auftrennt, wurde diese für den Nachweis der Allergene bei Birkenpollenextrakten eingesetzt.

Die Extrakte wurden mit SDS-Page aufgetrennt, geblottet und mit Ponceau S angefärbt. Die Extrakte wurden auf 15% Polyacrylamidgel aufgetragen und auf Nitrozellulosepapier geblottet.

Wie in den Abbildungen 40 bis 49 zu sehen, wurden die Seren von den Probanden, die in Tabelle 8 aufgeführt sind, auf IgE-Reaktionen auf Nitrozellulose-geblottete Birkenpollenextrakte getestet. Alle Extrakte wurden mit Hilfe des Gesamtproteintestes nach Bradford auf den gleichen Gesamtproteingehalt der aufzutrennenden Extrakte eingestellt. Die Patientenseren erfassten alle das korrespondierende Birkenpollenallergen Bet v 1 mit einer Bande auf Höhe von 17 kD, was auch dem spezifischen Gewicht von Bet v 1 entspricht. Außerdem zeigte sich bei dem Standort M32 zusätzlich eine Bande auf Höhe von 9,3 kD, was dem Allergen Bet v 4 entsprechen würde. Nach Inkubation des Blots aus dem Extrakt des Standortes M3 mit Patientenseren von Birkenpollenallergikern zeigte sich keine Bande. Erwartungsgemäß zeigten die beiden in jedem Blot mitgeführten Low-Standard- und Patientenserum- (Birkenpollen CAP Rast-Klasse 0) Kontrollen keine Reaktionen.

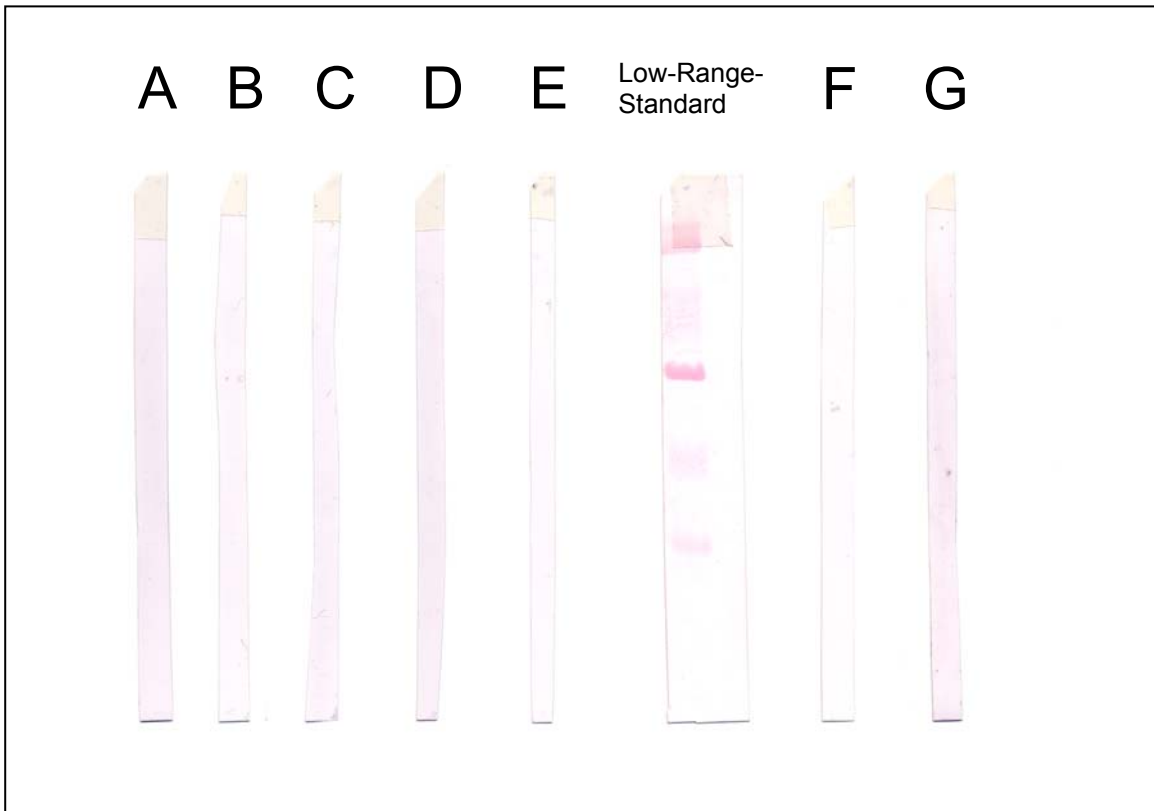


Abbildung 40: Westernblot M3 A-E: Patientenseren mit RAST-Klasse 4-6 (Bet v 1); F: Standard-Kontrolle; G: Patientenserum RAST-Klasse 0 (Bet v 1); 1000 μ l Birkenpollenkonzentrat pro Gel; 10% SDS-Page

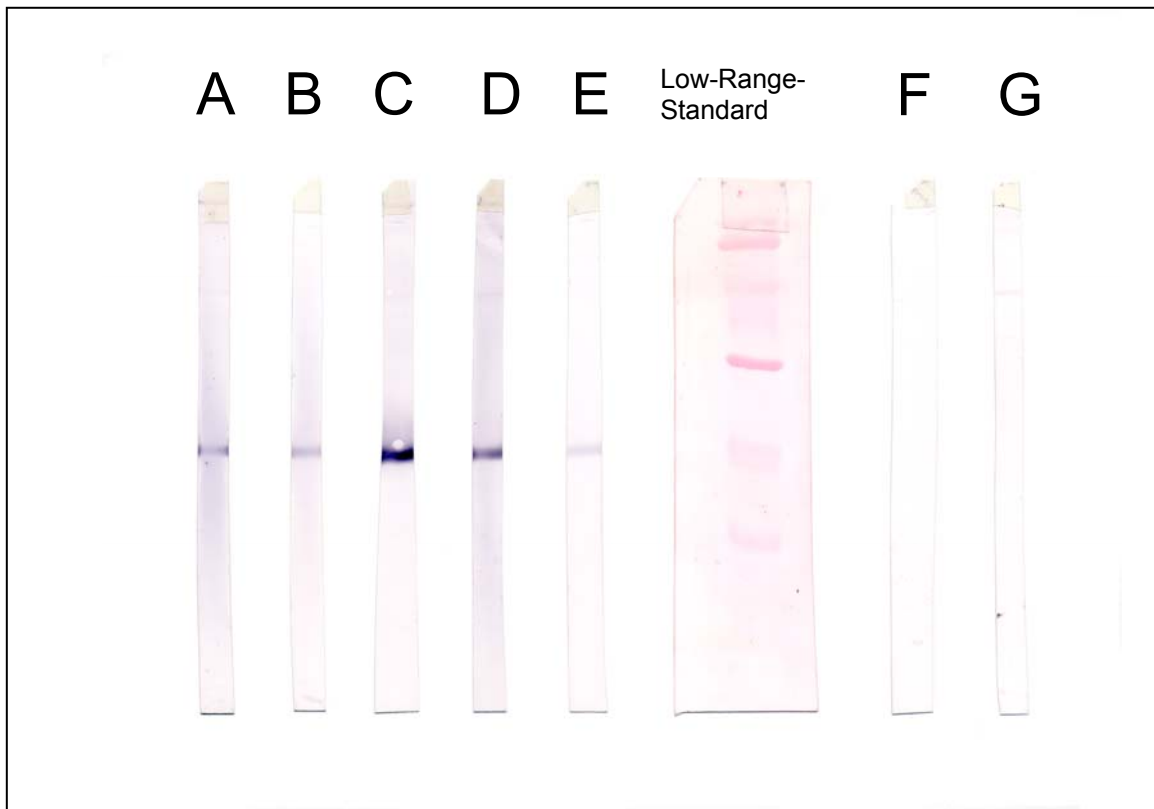


Abbildung 41: Westernblot M17 A-E: Patientenseren mit RAST-Klasse 4-6 (Bet v 1); F: Standard-Kontrolle; G: Patientenserum RAST-Klasse 0 (Bet v 1); 1000 μ l Birkenpollenkonzentrat pro Gel; 10% SDS-Page

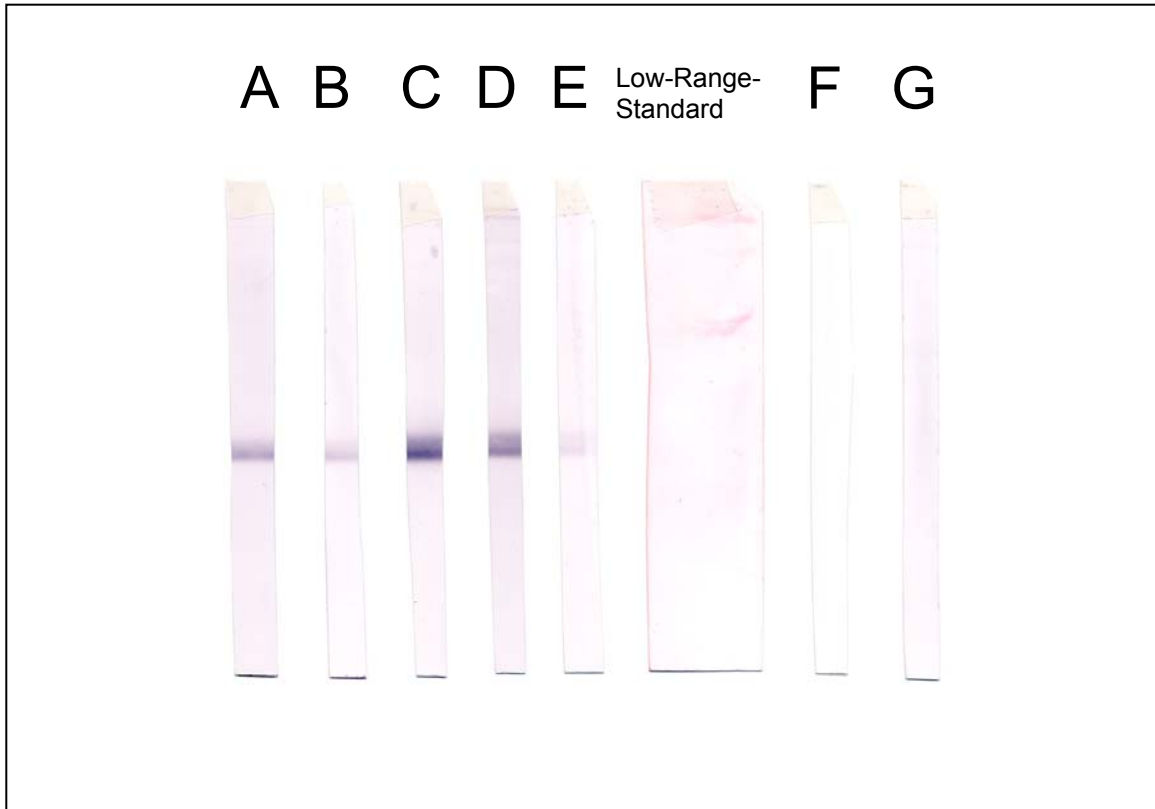


Abbildung 42: Westernblot M30 A-E: Patientenserum; F: Kontrolle; G: Serumkontrolle; 1000 µl Birkenpollenkonzentrat pro Gel; 10% SDS-Page

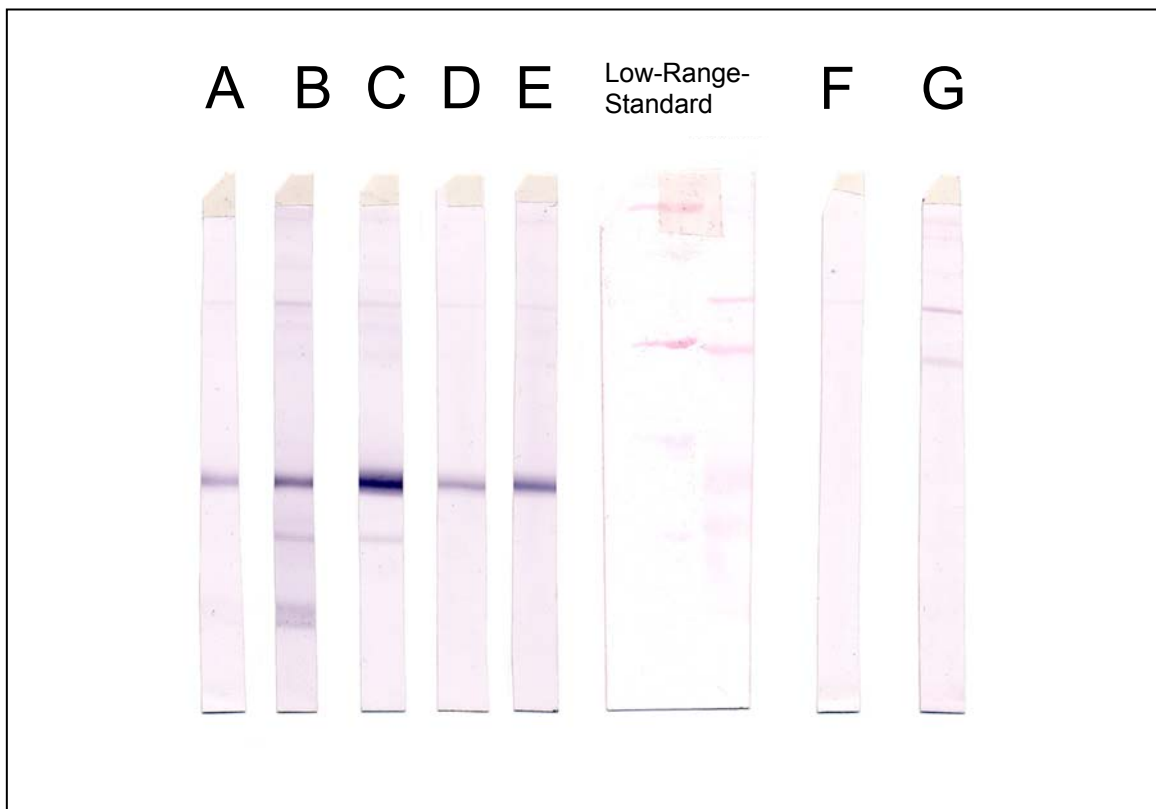


Abbildung 43: Westernblot M32 A-E: Patientenserum; F: Kontrolle; G: Serumkontrolle; 1000 µl Birkenpollenkonzentrat pro Gel; 10% SDS-Page

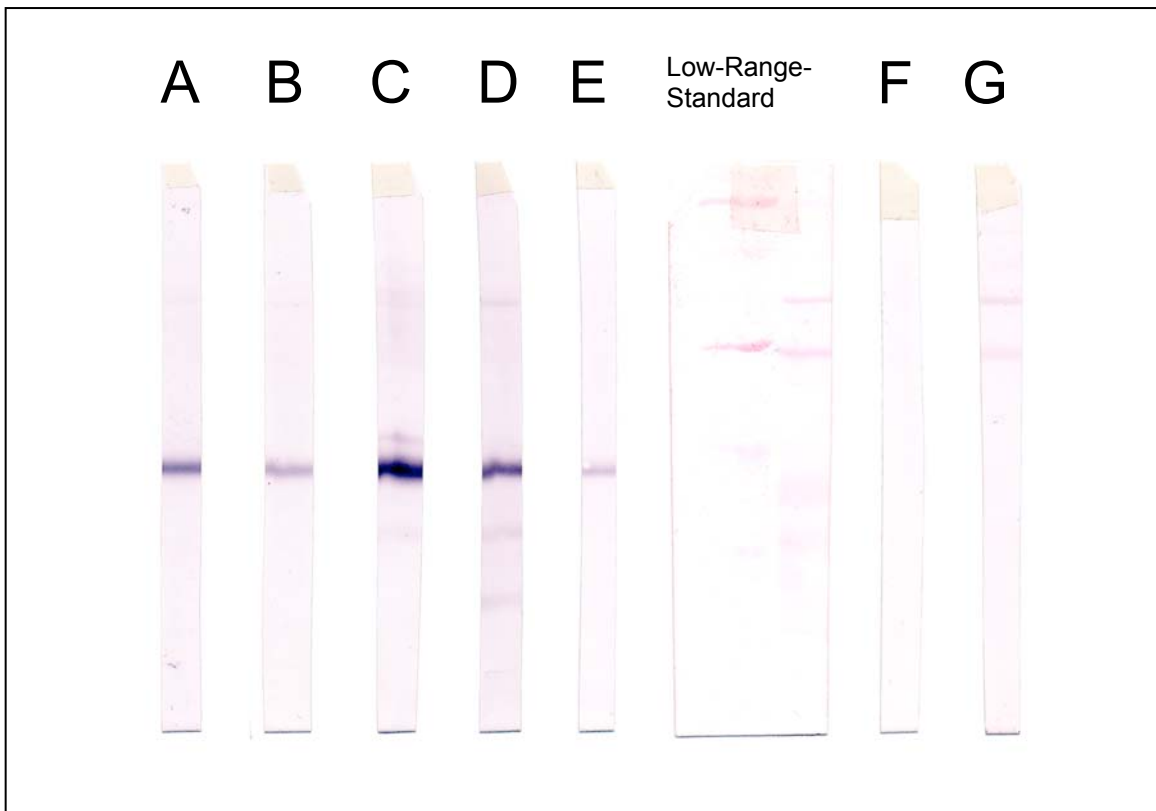


Abbildung 44: Westernblot M36 A-E: Patientenserum; F: Kontrolle; G: Serumkontrolle; 1000 µl Birkenpollenkonzentrat pro Gel; 10% SDS-Page

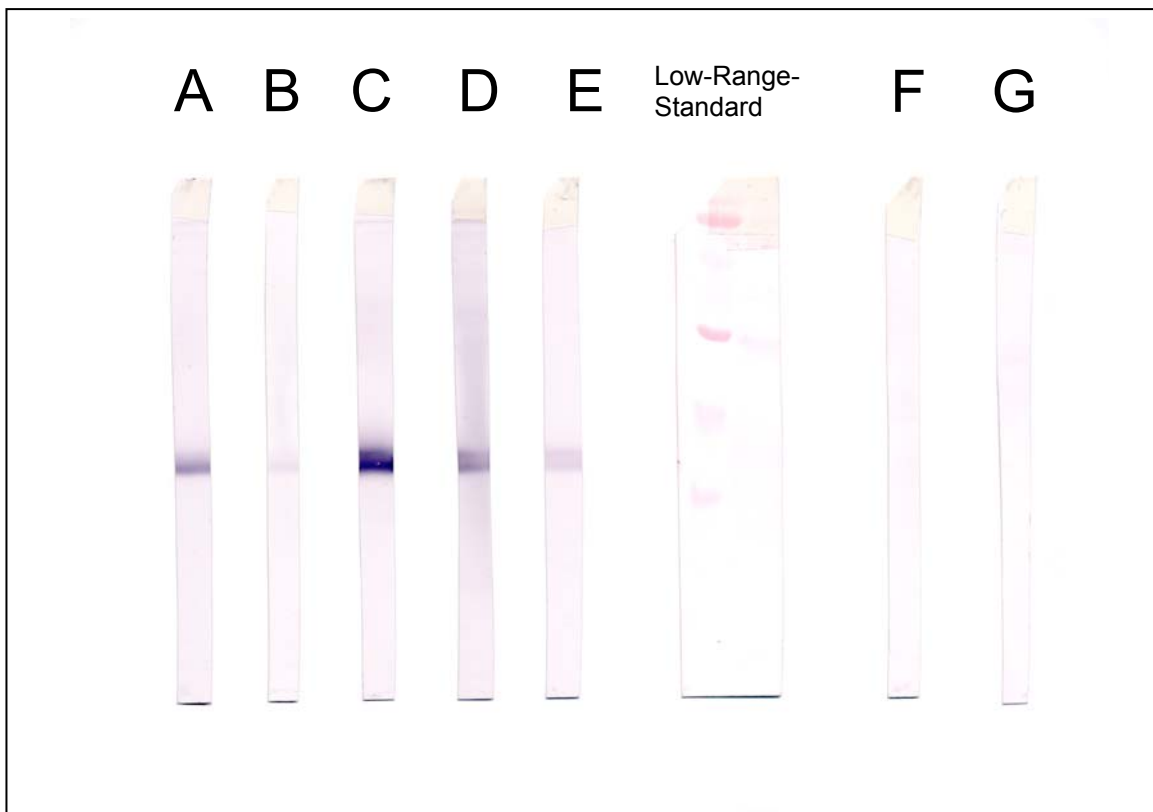


Abbildung 45: Westernblot M38 A-E: Patientenserum; F: Kontrolle; G: Serumkontrolle; 1000 µl Birkenpollenkonzentrat pro Gel; 10% SDS-Page

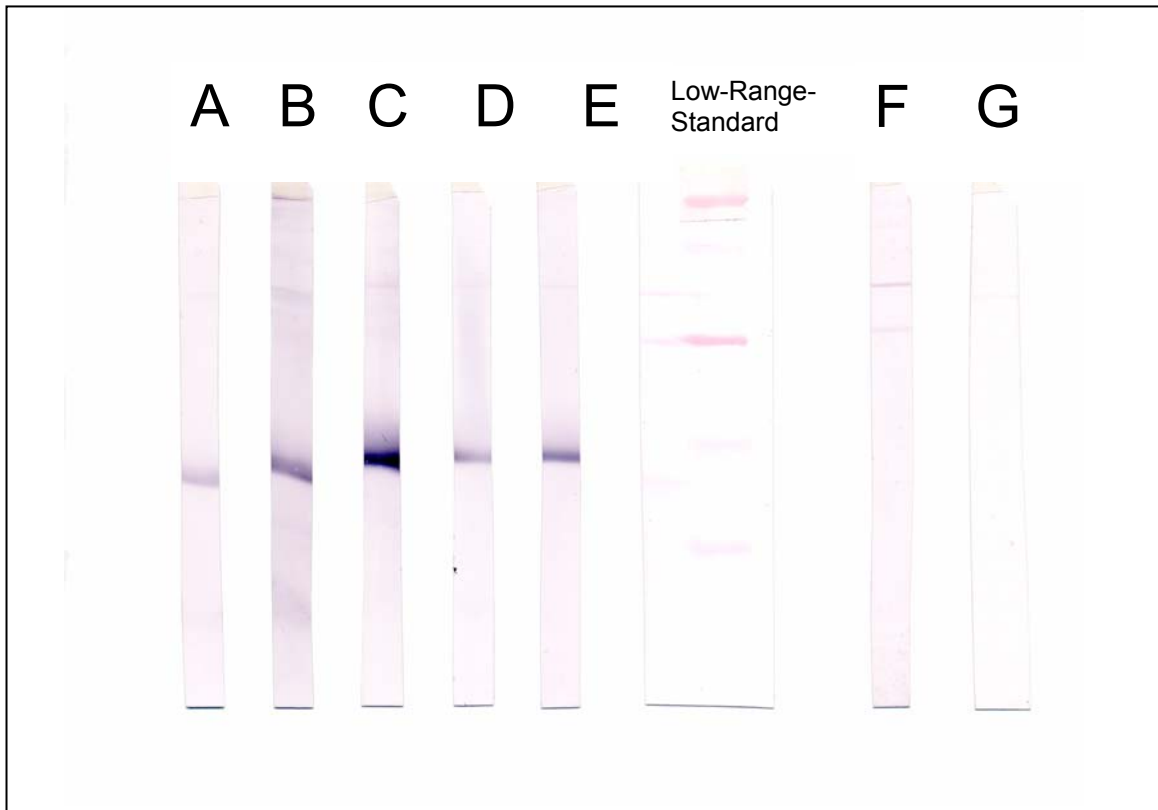


Abbildung 46: Westernblot W26 A-E: Patientenserum; F: Kontrolle; G: Serumkontrolle; 1000 µl Birkenpollenkonzentrat pro Gel; 10% SDS-Page

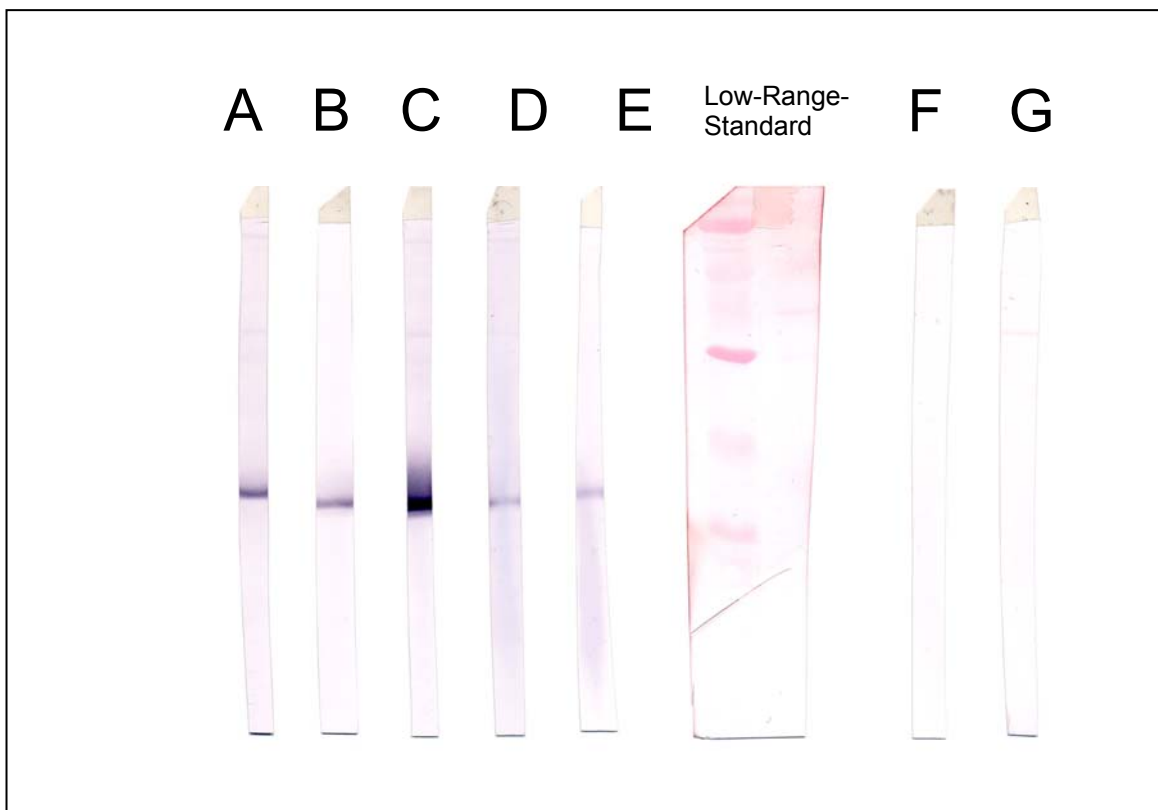


Abbildung 47: Westernblot W28 A-E: Patientenserum; F: Kontrolle; G: Serumkontrolle; 1000 µl Birkenpollenkonzentrat pro Gel; 10% SDS-Page

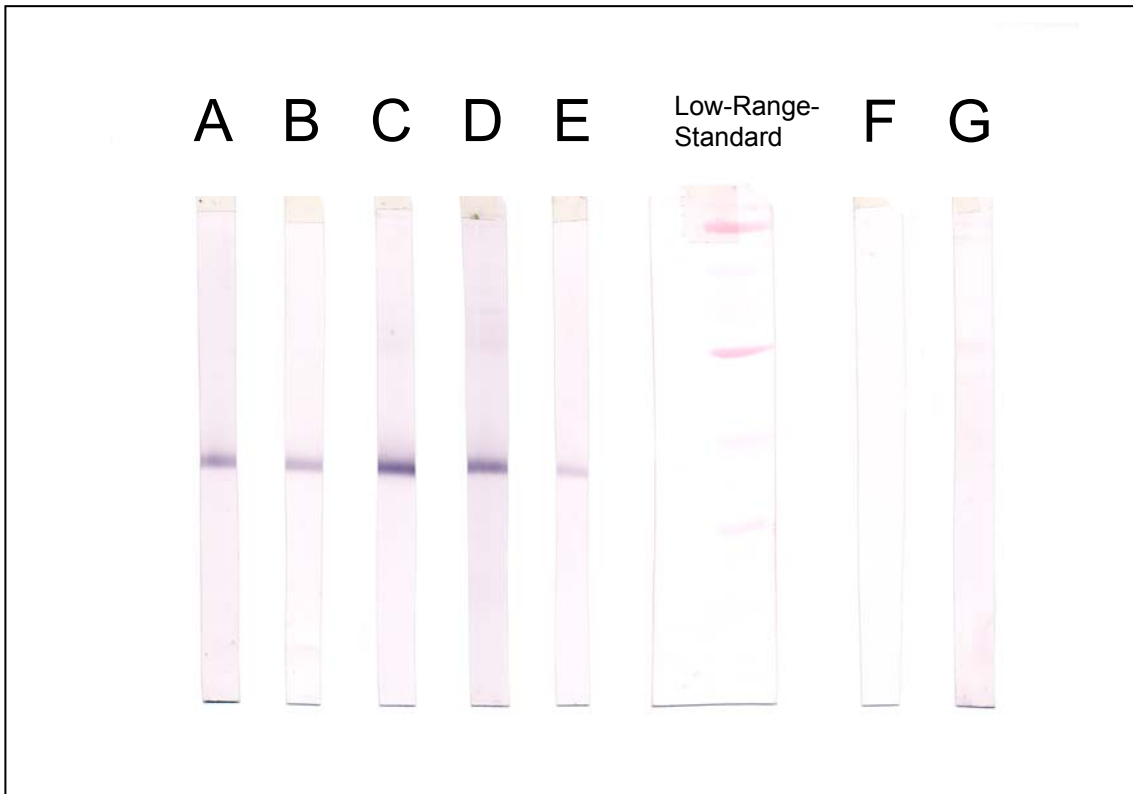


Abbildung 48: Westernblot W35 A-E: Patientenserum; F: Kontrolle; G: Serumkontrolle; 1000 µl Birkenpollenkonzentrat pro Gel; 10% SDS-Page

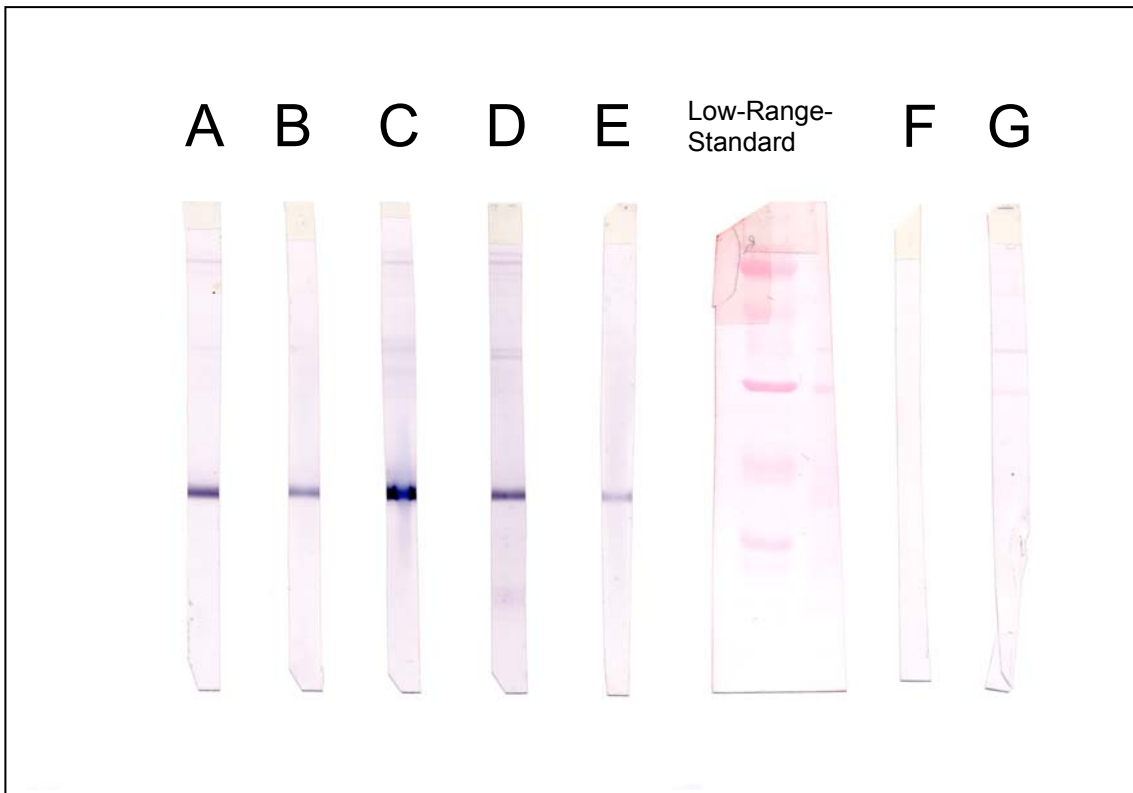


Abbildung 49: Westernblot W30 A-E: Patientenserum; F: Kontrolle; G: Serumkontrolle; 1000 µl Birkenpollenkonzentrat pro Gel; 10% SDS-Page

4.12 Prick-Test

Im Jahr 2002 lagen die Bet v 1-Konzentrationen bei Birkenpollenextrakten von elf Standorten im ELISA unter der Nachweisgrenze von 6,2 ng/ml. Es handelte sich hierbei um die sieben Münchner Standorte M1, M2, M4, M7, M9, M23 und M26 und um die vier Standorte aus Nordrhein-Westfalen W5, W19, W20 und W40.

Um die allergene Aktivität von Birkenpollen, die im Bet v 1-ELISA wenig Allergen enthielten, in vivo zu überprüfen, wurden Prick-Tests durchgeführt. Bei der sensibilisierten Person lösten die Birkenpollen-Extrakte in den Verdünnungen 1:10000 und 1:1000 positive Hautreaktionen aus. Bei der nicht sensibilisierten Person traten keine Reaktionen auf.

Als Negativkontrolle wurde Natriumchlorid verwendet, das bei beiden Probanden keine Reaktionen auslöste und als Positivkontrolle wurde Histamin verwendet, das bei beiden Personen Reaktionen hervorrief. Außerdem kam ein käuflicher Bet v 1-Extrakt (44 µg Bet v 1/ml), der zur Diagnose einer Typ-I-Sensibilisierung gegen Birkenpollen dient, zum Einsatz, um einen Unterschied zwischen den käuflich erworbenen und dem selbst hergestellten Extrakt aufzeigen zu können und um festzuhalten, dass die nicht sensibilisierte Person keinerlei Hautreaktionen auf Birkenpollen zeigte. Bei der Pricktestung des linken Unterarms der sensibilisierten Person mit „hypoallergenen“ Birkenpollenextrakten zeigten sich bei der Testung mit Extrakten der Standorte M27 und M32 (unverdünnt M27: 6980 ng/ml und M32: 29,2 ng/ml Bet v 1), die 1:1000 verdünnt wurden, beim Ablesen nach 20 Minuten je eine 5 bzw. 2 mm große Quaddel und je ein 15 bzw. 10 mm großes Erythem.

Bei den Kontrollextrakten mit Histamin und käuflich erworbenem Prick-Birkenpollenextrakt zeigten sich bei der Testperson bei Histamin eine 7 mm durchmessende Quaddel und ein 30 mm großes Erythem. Bei der Pricktestung mit käuflichem Prick-Birkenpollenextrakt fanden sich eine 12 mm durchmessende Quaddel und ein 40 mm großes Erythem.

Bei den Standorten M1, M2, M6 und M21, bei denen unverdünnt die Bet v 1-Konzentrationen bei M1: <6,2 ng/ml, M2: <6,2 ng/ml, M6: 3370 ng/ml und M21: 3082 ng/ml lagen, zeigten sich keine positiven Reaktionen in Form von Quaddel oder Erythem. Die Kochsalzkontrolle war ebenfalls negativ.

Bei der Pricktestung des rechten Unterarms der sensibilisierten Person mit „hypoallergenen“ Birkenpollenextrakten zeigten sich bei der Testung mit Extrakten aus M27 und M32 (unverdünnt M27: 6980 und M32: 29,2 ng/ml Bet v 1), die 1:10000 verdünnt

wurden, beim Ablesen nach 20 Minuten je eine 3 bzw. 1 mm große Quaddel und je ein 5 bzw. 10 mm großes Erythem.

Bei den Kontrollextrakten mit Histamin und käuflich erworbenen Prick-Birkenpollenextrakt zeigten sich bei der Testperson bei Histamin eine 6 mm durchmessende Quaddel und ein 25 mm großes Erythem. Bei der Pricktestung mit käuflichem Prick-Birkenpollenextrakt fanden sich eine 15 mm durchmessende Quaddel und ein 40 mm großes Erythem.

Bei den Standorten M1, M2, M6 und M21, bei denen unverdünnt die Bet v 1-Konzentrationen bei M1: <6,2 ng/ml, M2: <6,2 ng/ml, M6: 3370 ng/ml und M21: 3082 ng/ml lagen, zeigten sich keine Typ I-Reaktion in Form einer Quaddel oder eines Erythems. Die Kochsalz-Lösung rief keine Hautreaktion hervor.

Tabelle 9: Auswertung des Pricktestes bei einer Testperson mit Typ-I-Allergie gegen Birkenpollen nach 20 Minuten am linken Unterarm

| | Erythem in mm | Quaddel in mm |
|--|----------------------|----------------------|
| Histamin | 30 | 7 |
| Kochsalzkontrolle | 0 | 0 |
| Käuflich erworbene Bet v 1 Lösung | 40 | 12 |
| M1 <6,2 ng/ml Bet v 1 | 0 | 0 |
| M2 <6,2 ng/ml Bet v 1 | 0 | 0 |
| M6 3370 ng/ml Bet v 1 | 0 | 0 |
| M21 3082 ng/ml Bet v 1 | 0 | 0 |
| M27 6980 ng/ml Bet v 1 | 15 | 5 |
| M32 29,2 ng/ml Bet v 1 | 10 | 2 |

Tabelle 10: Auswertung des Pricktestes bei einer Testperson mit Typ-I-Allergie gegen Birkenpollen nach 20 Minuten am rechten Unterarm

| | Erythem in mm | Quaddel in mm |
|--|----------------------|----------------------|
| Histamin | 25 | 6 |
| Kochsalzkontrolle | 0 | 0 |
| Käuflich erworbene Bet v 1 Lösung | 40 | 15 |
| M1 <6,2 ng/ml Bet v 1 | 0 | 0 |
| M2 <6,2 ng/ml Bet v 1 | 0 | 0 |
| M6 3370 ng/ml Bet v 1 | 0 | 0 |
| M21 3082 ng/ml Bet v 1 | 0 | 0 |
| M27 6980 ng/ml Bet v 1 | 5 | 3 |
| M32 29,2 ng/ml Bet v 1 | 10 | 1 |

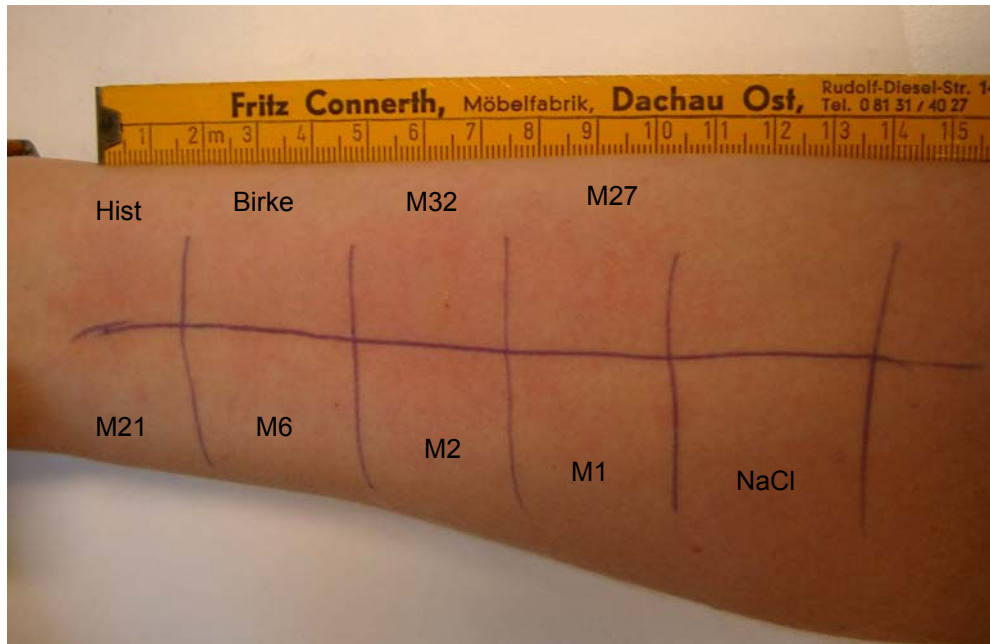


Abbildung 50: Prick-Test der Haut des linken Vorderarmes eines Allergiker (Bet v 1-RAST: 6) mit verschiedenen Birkenpollenextrakten; Histamin (Hist), Natriumchlorid (NaCl), Birkenpollenextrakt (Birke), M2 (Verdünnung: 1:1000, Bet v 1-Konzentration: <6,2 ng/ml, M6 (Verdünnung: 1:1000, Bet v 1-Konzentration: 3370 <6,2 ng/ml), M21 (Verdünnung: 1:1000, Bet v 1-Konzentration: 3082 ng/ml) M27 (Verdünnung: 1:10000, Bet v 1-Konzentration: 6980 ng/ml), M32 (Verdünnung: 1:10000, Bet v 1-Konzentration: 29,2 ng/ml) Quaddel- und Erythemreaktionen bei Ablesung nach 20 min

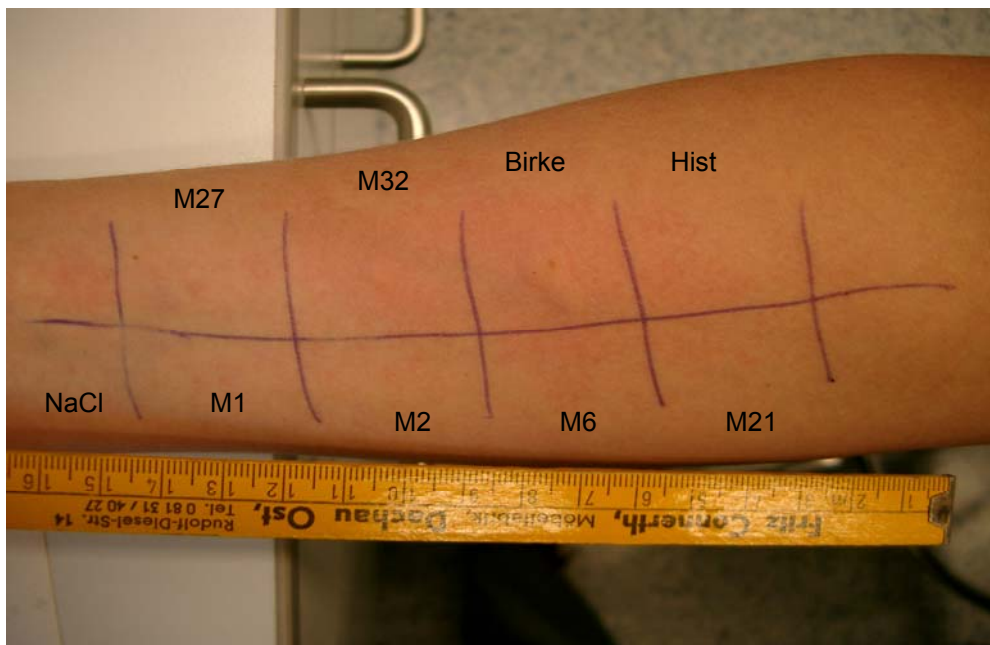


Abbildung 51: Prick-Test der Haut des rechten Vorderarmes eines Allergiker (Bet v 1-RAST: 6) mit verschiedenen Birkenpollenextrakten; Histamin (Hist), Natriumchlorid (NaCl), Birkenpollenextrakt (Birke), M2 (Verdünnung: 1:10000, Bet v 1-Konzentration: <6,2 ng/ml, M6 (Verdünnung: 1:10000, Bet v 1-Konzentration: 3370 <6,2 ng/ml), M21 (Verdünnung: 1:10000, Bet v 1-Konzentration: 3082 ng/ml) M27 (Verdünnung: 1:10000, Bet v 1-Konzentration: 6980 ng/ml), M32 (Verdünnung: 1:10000, Bet v 1-Konzentration: 29,2 ng/ml) Quaddel- und Erythemreaktionen bei Ablesung nach 20 min

5 Diskussion

In den Jahren 2002, 2003 und 2004 wurden die Birkenpollenflugsaisonen, die Bioverfügbarkeiten von Pollen-assoziierten Lipidmediatoren ($\text{PALM}_{\text{LTB}_4}$ und $\text{PALM}_{\text{PGE}_2}$), des Hauptallergens der Birke Bet v 1 und Gesamtprotein, sowie der Einfluss der verkehrsbedingten Umweltbelastung verschiedener Regionen Deutschlands (Westen und Süden, sowie 2004 auch der Osten) miteinander verglichen.

In Nordrhein-Westfalen zeigte sich in allen Jahren eine längere Dauer und größere Stärke des Birkenpollenflugs, als in den anderen beiden Regionen.

Im Jahr 2003 war die Bioverfügbarkeit von Bet v 1 in München signifikant höher als in NRW. Insgesamt lagen die Bet v 1-Konzentrationen 2002 signifikant niedriger als 2003.

2002 war die Bioverfügbarkeit von proinflammatorisch wirksamen, LTB_4 -ähnlichen Pollen-assoziierten Lipidmediatoren ($\text{PALM}_{\text{LTB}_4}$) in München insgesamt höher als in NRW. In den Jahren 2002 und 2003 fand sich eine negative Korrelation zwischen dem Majorallergen der Birke Bet v 1 und $\text{PALM}_{\text{LTB}_4}$. In städtischen Bereichen waren die $\text{PALM}_{\text{LTB}_4}$ -Konzentrationen höher als in ländlichen. Bei den Bet v 1-Werten zeigte sich eine inverse Situation: hier waren die Bet v 1-Werte am höchsten in ländlichen Bereichen. Eine positive Korrelation zwischen NO_2 als Marker für verkehrsbezogene Umweltbelastung und der $\text{PALM}_{\text{LTB}_4}$ -Konzentration zeigte sich in NRW in städtischen Gebieten. Zwischen dem Majorallergen der Birke Bet v 1 und NO_2 fand sich keine Korrelation.

Die Gesamtprotein-Daten zeigten in allen Jahren und in allen Gebieten keine signifikanten Unterschiede.

Mit Hilfe der Elektrophorese konnten neben dem Majorallergen Bet v 1 noch weitere Bet v-Allergene im Extrakt nachgewiesen werden. In der Raster- und Transmissions-Elektronenmikroskopie zeigten sich morphologische Veränderungen der Birkenpollen, die an Standorten mit hoher Verkehrsbelastung gesammelt wurden.

Im Vergleich der Jahre 2002 bis 2004 begann der Birkenpollenflug jeweils im Westen Deutschlands am frühesten und dauerte auch mit 63 bis 111 Tagen am längsten. Im Süden dauerte die Birkenpollensaison zwischen 61 und 71 Tagen. Im Osten, wo die Studie nur 2004 durchgeführt wurde, lag die Dauer der Birkenpollensaison mit 39 Tagen am niedrigsten und begann im Vergleich zum Süden und Westen Deutschlands am spätesten.

In Nordrhein-Westfalen begann die Birkenpollensaison in jedem Jahr früher als in den anderen Sammelgebieten.

Dieser Trend lässt sich durch Klimaunterschiede erklären, da es im Westen und Süden wärmer und feuchter ist, als im Norden und Osten Deutschlands. So zeigen sich aufgrund dieser Unterschiede auch geografische Variationen der Vegetation mit einem frühzeitigeren Blühbeginn im Westen im Gegensatz zum Osten Deutschlands. Der geografische Blühbeginn für alle Pollen liegt im Südwesten Deutschlands. Er setzt sich nach Nordosten fort. Dieser Trend ist für Birken am ausgeprägtesten. Es konnte epidemiologisch nachgewiesen werden, dass der Blühbeginn der Birken im Südwesten zwei Monate früher beginnt als im Nordosten [Krämer 2001].

Außerdem zeigte sich in den letzten Jahrzehnten, dass die Pollenflugzeiten für verschiedene Baum- und Gräserpollen insgesamt an Dauer zunehmen, was unter anderem an einer früher beginnenden Pollensaison liegt und im Zusammenhang mit einem Ansteigen der Temperatur im Frühjahr in den letzten Jahren steht. Änderungen im Beginn und der Dauer des Birkenpollenfluges sind in vielen Studien untersucht worden. Emberlin et al. zeigten, dass eine frühere Birkenpollensaison im Zusammenhang mit höheren Temperaturen steht. Die Temperaturen waren in den letzten Jahren über die Monate Januar, Februar und März über 5,5°C wärmer als in den vorangegangenen Jahrzehnten [Emberlin 1997]. Auch andere Studien aus der Schweiz [Frei 1998], Italien [D'Amato 2002] und Dänemark [Rasmussen 2002] konnten bestätigen, dass die Birkenpollensaisonen in den letzten Jahrzehnten früher begannen und insgesamt länger waren [Menzel 2001].

Aufgrund der relativ kurzen Studiendauer kann unsere Studie keine Trends angeben. In Nordrhein-Westfalen variierten die Gesamtpollenzahlen in den drei aufeinanderfolgenden Beobachtungsjahren von 2002 bis 2004 sehr stark. Ein Jahr mit einer sehr hohen Birkenpollenproduktion wurde von einem mit einer niedrigeren abgelöst. In Bayern lagen die Gesamtpollenzahlen 2002 und 2003 ungefähr gleich hoch. 2004 zeigte sich eine um über das zweifache gesteigerte Anzahl der Pollen pro Pollenflug-saison. 2004 waren sowohl in NRW, als auch Bayern die Gesamtpollenzahlen am höchsten.

Zwar handelt es sich bei den untersuchten Jahren um einen nur relativ kurzen und damit statistisch gesehen nicht relevanten Zeitraum, doch scheinen sich hier zwei Tendenzen, die bislang zu den Mustern der jährlichen Gesamtpollenzahl in der Literatur beschrieben worden waren, abzuzeichnen. Hiernach unterliegt die Pollenaus-

schüttung einem zweijährigen Rhythmus [Atkinson 1990, Jäger 1991]. Detand et al. berichten von einem dreijährigen Muster, bei dem einem Jahr mit hoher Birkenpollenfreisetzung zwei Jahre mit schwächerer Birkenpollenproduktion folgen [Detand 2000]. Um jedoch diese Ergebnisse bestätigen zu können, müsste eine Langzeitstudie durchgeführt werden.

Die Allergie gegenüber Birkenpollen ist neben der Graspollenallergie eine der häufigsten Typ - I - Sensibilisierungen in Europa [Movérare 2002], was auch mit einer sehr hohen Präsenz der Birken in unseren Breitengraden zu erklären ist. Die Birken repräsentieren ein Drittel der Gesamtzahl aller Baumpollen in der Luft [Detand 2000].

Nach Clot kam es innerhalb der letzten Jahrzehnte im Gegensatz zu anderen Pflanzen, wie z.B. Ragweed [Jäger 2003, Puc 2004, Rybnicek 2000] nicht zu einer Erhöhung der Gesamtpollenzahl der Birken pro Jahr [Clot 2003]. Andere Studien zeigen jedoch, dass ein leicht positiver Trend zur Erhöhung der jährlichen Gesamtzahl von Birkenpollen besteht [D' Amato 1998, ISAAC 1998, Spiexma 2003], was zum einen von der verlängerten Blühzeit der Birken abhängt, aber auch von einem gehäuften Vorkommen von Birken z.B. in Parks und Alleen [Frei 2000]. Allerdings ist die Rate des allergischen Asthmas und der allergischen Rhinokonjunktivitis seit Beginn der 1990er Jahre stabil geblieben [Braun-Fahrländer 2004]. Die Konzentration der Pollen ist nicht nur assoziiert mit allergischen Symptomen, sondern es besteht auch ein Zusammenhang mit kardiovaskulären und respiratorischen Mortalitäten [Brunekreef 2000].

In den Jahren 2002 und 2004 wurden mit Hilfe einer Pollenfalle in Bochum (Nordrhein-Westfalen) 23960 bzw. 27297 Pollen pro Saisondauer gemessen. Es zeigte sich im Vergleich zu Bayern höhere Birkenpollenkonzentrationen. In Bayern betrug die Anzahl in den Jahren 2002, 2003 und 2004 2666, 2972 und 6889 Pollen pro Saison. Besonders hohe Gesamtpollenzahlen können fälschlicherweise auch dann auftreten, wenn sich die Pollenfalle in zu großer Nähe von pollenproduzierenden Pflanzen befindet [Arobba 2000, Puc 2004]. Dies konnte in unserem Fall durch Abgleichen mit Daten anderer regionaler Pollenfallen ausgeschlossen werden. In Bocholt, Borken, Duisburg und Wesel waren die Burkard-Pollenfallen über einen Zeitraum von 21 Tagen zur Zeit der höchsten Pollenflugzahl aufgestellt. Die Auswertung entsprach unter Berücksichtigung der Beobachtungszeit von 21 Tagen in etwa den Pollenzahlen, die auch in Bochum gemessen worden waren.

Zur Sammlung wurden Tage gewählt, an denen der Pollenflug besonders hoch war. In Nordrhein-Westfalen, München und Leipzig wurden PM 2,5-/10- und NO₂-Werte bestimmt. NO₂ gilt als guter Indikator für Kfz-bedingte Schadstoffbelastung [Ärztewoche 2001, Krämer 2000]. NO₂ ist ein hochreaktives Molekül, das sich in der Lungenperipherie entfaltet. Asthmatiker reagieren auf NO₂ besonders empfindlich, da NO₂ zu einer Erhöhung der bronchialen Reagibilität gegenüber Bronchokonstriktion und Kaltluft führt [Ärztewoche 2001]. Verkehrsverursachte Luftverschmutzung kann zu erhöhter allergenspezifischer IgE - Produktion [Diaz-Sanchez 1997], erhöhten Prävalenzraten bei Sensibilisierungen und Symptomen allergischer Rhinitis führen [Behrendt 1995, Krämer 2000].

Sowohl PM10, als auch PM2,5 können in das Lungensystem eindringen und dort respiratorische Symptome und Erkrankungen hervorrufen. Besonders betroffen sind Kinder, ältere Menschen und Patienten mit Asthma [Behrendt 1997].

Eine finnische Studie zeigte eine Assoziation zwischen Erniedrigung der Peak flow - Werte bei Kindern mit allergischem Asthma bronchiale und erhöhten PM10-Konzentrationen auf [Timonen 1997].

Während der Beprobung der Birkenbäume wurden Himmelsrichtung, Temperatur, und relative Luftfeuchtigkeit festgehalten. Bei der Sammlung wurde darauf geachtet, dass die Kätzchen möglichst von der Südseite der Birke entnommen wurden. In der Literatur wurde beschrieben, dass Birkenkätzchen, die in Richtung Süden gesammelt wurden, den höchsten Allergengehalt an Bet v 1 zeigten, was vermutlich teilweise an höheren Temperaturen auf der Südseite liegt [Hjelmroos 1995].

Die Lufttemperatur hat einen indirekten Einfluss auf den Pollenflug: Sie wirkt auf die Freisetzung der Pollen aus dem Anther. Die Emissionstemperatur beträgt für Birkenpollen 15 Grad Celsius [MURL 1990].

Es gibt Modelle, in denen versucht wird, die Stärke einer Pollensaison aus den Daten des vorangegangenen Jahres (Temperatur von Mai bis Juli), der Gesamtpollenzahl und der Temperatur während der Blühphase vorauszusagen [Dahl 1996].

Feuchtigkeit spielt eine große Rolle im Keimungsprozess von Pollen. Es konnte gezeigt werden, dass Pollenschläuche von Birkenpollen in Regenwasser rupturieren und das Majorallergen der Birke Bet v 1 freisetzen können [Schäppi 1997]. Während der Pollenflugzeit können Birkenpollen allergenhaltige Aerosolpartikel freisetzen [Taylor 2004]. Diese Aerosolpartikel sind kleiner als ganze Pollenkörner und klein

genug, um in die tieferen Atemwege zu gelangen, wo sie beispielsweise zu asthmatischen Beschwerden führen können [Schäppi 1999].

Außerdem wurden Straßennähe, Birkenart, mit jeweiliger Bestimmung der Blätter, Zweige, Umfang des Stammes und Höhe des Baumes festgehalten. Birken aus verkehrsbelasteten Gebieten exprimieren in ihren Blättern deutlich mehr Bet v 1 als Bäume in ländlichen Gebieten [Breiteneder 1990].

Nach der Pollensammlung wurden die Birkenpollen verarbeitet und extrahiert. Aus diesen Extrakten erfolgten Messungen von verschiedenen Bestandteilen, die aus Birkenpollen freigesetzt werden. Neben dem Majorallergen der Birke Bet v 1 gibt es noch andere Substanzen aus Birkenpollen, die die allergische Immunantwort bei Pollenallergikern beeinflussen können, wie z. B. die pollenassoziierten Lipidmediatoren PALM_{LTB4} und PALM_{PGE2}.

Die Bioverfügbarkeit von PALM_{LTB4} und PALM_{PGE2} wurde in wässrigen Extrakten mit Hilfe eines LTB₄- bzw. PGE₂- ELISAs gemessen. In vorausgegangenen Studien konnte gezeigt werden, dass Pollen in flüssiger Phase sowohl PALM_{LTB4}, als auch PALM_{PGE2} freisetzen, was durch Kreuzreaktion im LTB₄- bzw. PGE₂- ELISA nachgewiesen werden kann [Behrendt 1999, Behrendt 2001, Kasche 2002].

Im Vergleich zwischen München und Nordrhein-Westfalen waren die PALM_{LTB4}-Konzentrationen 2002 in München signifikant höher als in NRW. 2003 hingegen waren die Konzentrationen von PALM_{LTB4} signifikant niedriger in München als in NRW. Die PALM_{LTB4} - Konzentrationen variieren von Jahr zu Jahr und scheinen unabhängig vom Pollenflug zu sein.

Wenn man 2002 und 2003 vergleicht, zeigt sich, dass die Werte 2002 insgesamt und in jeder einzelnen Studienregion signifikant höher waren als 2003. Im Jahr 2004 waren die PALM_{LTB4}-Konzentrationen in München und NRW höher als 2003, aber niedriger als 2002. In Leipzig wurden 2004 im Vergleich zu den anderen Studienregionen die höchsten Konzentrationen gemessen.

Vergleicht man ländliche und städtische Bereiche, so zeigt sich im Jahr 2004, dass die PALM_{LTB4} - Konzentrationen in den städtischen Bereichen höher waren als in den ländlichen Bereichen. Dieses Ergebnis passt zu vorangegangenen *in vivo* - Studien von Behrendt et al., wonach *Phleum Pratense* Pollen, die in nächster Nähe zu einer stark befahrenen Straße gesammelt wurden, einen höheren Gehalt an PALM_{LTB4} aufwiesen [Behrendt 2001].

Bei PALM_{LTB4} handelt es sich zwar nicht um ein Allergen, aber um einen proinflammatorisch wirkender Botenstoff mit chemotaktischen Effekten auf eosinophile und neutrophile Granulozyten, die zu einer Verstärkung einer allergischen Reaktion führen können [Plötz 2004, Traidl-Hoffmann 2002]. Mit diesem Hintergrundwissen sollte diskutiert werden, ob eine verstärkte Bioverfügbarkeit von PALM_{LTB4} in schadstoffbelasteten Regionen nicht unter anderem Ursache für eine stetig steigende Prävalenzrate für allergische Erkrankungen in den letzten Jahrzehnten sein kann [Gaudermann 2004, Henneberger 2005, Nygaard 2005, Ried 2005, Saxon 2005].

Im Gegensatz zu PALM_{LTB4} zeigten sich bei PALM_{PGE2} keine erhöhten Konzentrationen in städtischen Regionen, wobei sich bei *Phleum Pratense* Pollen, die in luftverschmutzten Gebieten gesammelt worden waren, ein höherer Gehalt an PALM_{PGE2} gezeigt hatte [Behrendt 2001].

Wenn man die PALM_{PGE2} - Werte der einzelnen Jahre in München vergleicht, kann man sagen, dass die geometrischen Mittel von PALM_{PGE2} in den Jahren 2002 und 2003 nicht stark voneinander abweichen. Im darauffolgenden Jahr lag das geometrische Mittel von PALM_{PGE2} um fast ein Drittel niedriger als in den beiden Vorjahren.

In NRW zeigte sich das höchste geometrische Mittel der PALM_{PGE2} - Werte 2003. Um ein Viertel niedriger lag das geometrische Mittel der PALM_{PGE2} - Werte im Jahr 2004 und um über die Hälfte niedriger 2002.

Im Vergleich zwischen München und Nordrhein-Westfalen lässt sich sagen, dass sich bei den Konzentrationen von PALM_{PGE2} 2002 keine signifikanten Unterschiede zeigten.

Im Vergleich der Konzentrationen des Majorallergens Bet v 1 zwischen München und Nordrhein-Westfalen ergaben sich 2002 keine signifikanten Unterschiede. 2003 hingegen waren die Konzentrationen von Bet v 1 in NRW signifikant niedriger als in München.

Wenn man 2002 und 2003 vergleicht, zeigt sich, dass die Werte 2002 insgesamt und in jeder einzelnen Studienregion signifikant niedriger waren als 2003. Im Jahr 2004 wurden in allen Regionen die höchsten Werte gemessen. Diese Beobachtungen waren unabhängig von den Pollenzahlen während des Pollenfluges.

Der Anteil Bet v 1 an der Gesamtpollenmasse betrug 0,05%, was auch mit den Untersuchungen von Schäppi et al., der Anteile von 0,07% feststellte, übereinstimmt [Schäppi 1997]. Der Anteil Bet v 1 an extrahiertem Gesamtprotein lag zwischen 1 und 7,4%, wobei andere Studien einen doppelt so hohen Anteil zeigten [Schäppi

1997]. Diese Differenz zwischen unseren Ergebnissen und denen von Schäppi et al. könnte dadurch erklärt werden, dass die Extraktionszeit der Birkenpollen in unserem Fall länger war, um eine möglichst hohe Freisetzung von Bet v 1 zu erreichen. Dies führte auch zu einer erhohnten Freisetzung von Gesamtprotein, so dass zwar das Gesamt-Bet v 1 erhohlt war, aber einen relativ geringeren Bet v 1-Gehalt an Gesamtprotein ergab.

Autoren, die andere Extraktionspuffer nutzten, berichten über eine schnellere Freisetzung von Bet v 1 aus Pollen [Vrtala 1993]. Weil das Bet v 1-Protein in dem Ammoniumbicarbonat-Puffer stabil war, einigten wir uns auf eine komplette Bet v 1-Extraktion. Unser Extraktpuffer mit einem pH-Wert von 8,1 imitiert den pH-Wert der nasalen Flüssigkeit von allergischen Patienten, der auch im alkalischen Bereich liegt [Podoshin 1991]. Maximale Bet v 1 – Konzentrationen erhält man bei einem pH-Wert von 7,4 [Behrendt 1999].

Obwohl Bet v 1 einen Teil des Gesamtproteins aus Pollen darstellt, zeigten sich für das Gesamtprotein im Vergleich zum Majorallergen insgesamt weniger Unterschiede im räumlichen und zeitlichen Vergleich. So gab es bei den Gesamtprotein-Konzentrationen in allen drei Jahren weder in den ländlichen, noch in den städtischen Regionen signifikante Unterschiede.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Bioverfügbarkeit sowohl von PALM_{LTB4}, als auch Bet v 1 aus Birkenpollen in verschiedenen Regionen Deutschlands und unterschiedlich schadstoffbelasteten Gebieten variieren.

Im Vergleich der Bet v 1- und der PALM_{LTB4}-Konzentrationen der Birkenpollenextrakte in den Jahren 2002 und 2003, korrelieren die Bet v 1- und PALM_{LTB4}-Konzentrationen negativ miteinander.

Dies zeigt sich auch im Vergleich zwischen ländlichen und städtischen Gebieten. Die Bet v 1-Werte lagen in den ländlichen höher als in den städtischen Gebieten. Dies bestätigt vorangegangene Studien [Behrendt 1997], in denen nachgewiesen werden konnte, dass das Majorallergen der Birke Bet v 1 aus ländlichen Gebieten höhere Konzentrationen aufwies als aus städtischen Regionen. Der Effekt von Luftschadstoffen auf den Allergengehalt in Birkenpollen wird verschiedentlich diskutiert. Einige Studien zeigen nach einer Exposition von Luftschadstoffen eine Akkumulation [Ahlholm 1998, Tashpulatov 2004], andere eine Reduktion von Allergenen [Behrendt 1997, Motta 2005]. In dieser Studie fand sich keine Korrelation zwischen dem Majorallergen der Birke Bet v 1 und Parametern für Luftverschmutzung, wie NO₂.

Um den möglichen Einfluss der Luftschadstoffbelastung auf die PALM_{LTB4}-Konzentrationen in den Birkenpollen zu überprüfen, wurden die NO₂-Konzentrationen in Bayern und Nordrhein-Westfalen (ländlich und städtisch) gemessen. 2002 zeigten sich keine Korrelationen zwischen PALM_{LTB4} und NO₂ in Bayern und ländlichen Bereichen in Nordrhein-Westfalen. In städtischen Bereichen in NRW jedoch, zeigte sich eine positive Korrelation zwischen PALM_{LTB4} und NO₂. Auch im Jahr 2003 zeigten sich in den ländlichen Bereichen in Nordrhein-Westfalen und in Bayern keine Korrelationen zwischen PALM_{LTB4} und NO₂. In den städtischen Bereichen in Nordrhein-Westfalen zeigte sich eine, jedoch geringer als 2002 ausgeprägte, positive Korrelation zwischen PALM_{LTB4} und NO₂.

In vorausgegangenen epidemiologischen Untersuchungen sind Assoziationen zwischen verkehrsverursachter Luftverschmutzung, wobei hier NO₂ einen guten Marker darstellt, und atopischen Erkrankungen und Symptomen beobachtet worden [Brunekeef 1997, Duhme 1996, Ishizaki 1987, Krämer 1998].

Bei Expositionsstudien mit Probanden mit nasaler Provokation bzw. in kontrollierten Expositionsräumen konnte nachgewiesen werden, dass verkehrsverursachte Luftverschmutzung die allergische Immunantwort bei sensibilisierten Individuen erhöhen kann [Devalia 1994, Strand 1997]. Direkten Einfluss auf inflammatorische Effekte haben nur sehr hohe NO₂-Konzentrationen (2000 µg/m³) [Blomberg 1997]. Auf der Ebene des Immunsystems konnte gezeigt werden, dass Diesel exhaust particles (DEP) die nasale Zytokinproduktion erhöhen können [Diaz-Sanchez 1996].

Eine andere Erklärung für den Effekt von verkehrsverursachter Schadstoffbelastung bei der allergischen Immunantwort stellt die Veränderung der Allergenträger, also den Pollen durch Umweltverschmutzung dar. Wenn Pollen mit NO₂ exponiert werden, kommt es zu keiner Veränderung der Bioverfügbarkeit von Allergenen [Behrendt 1997].

Bei der Standortcharakterisierung wurden auch die Entfernungen der Birkenbäume zur nächsten verkehrsreichen Straße erhoben. So zeigten sich bei einer Distanz von unter 150 Metern der Birke zur nächsten stark befahrenen Straße bei den Standorten in den Jahren 2002 und 2003 in München eine signifikant höhere Konzentration von PALM_{LTB4}, als bei den Standorten, die sich über 150 Meter von einer stark befahrenen Straße befanden.

In den vergangenen Jahren untersuchten, wie oben erwähnt, einige epidemiologische Studien verkehrsverursachte Luftverschmutzung und Atemwegserkrankungen,

sowie Symptome bei Erwachsenen und Kindern [Brunekreef 1997, Ishizaki 1987, Krämer 1998]. In mehreren vorangegangenen Studien wurde eine Assoziation zwischen Straßenverkehr, insbesondere erhöhten NO₂-Werten und Entwicklung atopischer Erkrankungen berichtet [Studnicka 1997]. Van Vliet et al. zeigten, dass bei Kindern, die im Umkreis von 100 Metern zu einer Straße lebten im Vergleich zu Kindern, die weiter von der Straße entfernt lebten, öfter ein Asthma bronchiale diagnostiziert wurde [van Vliet 1997]. Eine weitere Studie aus der Schweiz belegt, dass es bei Erwachsenen, die länger als 10 Jahre an einer stark befahrenen Straße wohnten, häufiger zu Sensibilisierungen kam [Wyler 2000]. Eine Studie aus Deutschland zeigte eine höhere Sensibilisierung gegenüber Allergenen und entsprechenden Symptomen auf bei Bewohnern von vielbefahrenen Hauptstraßen als von Nebenstraßen [Ranft 1992].

Gerade in schadstoffbelasteten Regionen findet man sogar außerhalb der Pollenflugzeit Schwebestaubpartikel, die mit Allergenen beladen sind [Emberlin 1995, Spieksma 1990]. Die freigesetzten allergenen Proteine stammen aus Pollen, die beispielsweise bei Gewittern durch osmotischen Schock aufplatzen, von den Pollen freigesetzt werden und sich an Schwebestäube, insbesondere an Dieselrußpartikel, binden [Knox 1996]. Diese allergenbeladenen Partikel, deren Größe unter 5 µm im Durchmesser betragen kann, können tief in die unteren Atemwege [Monn 1994] eindringen und zu asthmatischen Beschwerden führen. Diese allergenen Proteine können von Birkenpollenallergiker - Seren erkannt werden [Schäppi 1999].

Als mögliche Einflussfaktoren auf die PALM_{LTB4} - Konzentration wurden Klimafaktoren (Temperatur, relative Luftfeuchtigkeit), Beschaffenheiten von Birkenbäumen (Höhe, Stammumfang, Art) und -kätzchen (Höhe und Himmelsrichtung der Birkenkätzchenentnahme, Reifegrad, Trockenheit) gewählt. Die Höhe der Birken korrelierte im Jahre 2003 sowohl in NRW, als auch in München positiv mit dem Gehalt an PALM_{LTB4}.

In einer trockenen Atmosphäre sind Pollen sehr stabil und können ihre Allergene über Jahrhunderte im Inneren behalten [Stanley 1974]. Zur Freisetzung dieser Allergene benötigt es verschiedene äußere Bedingungen wie hohe relative Luftfeuchtigkeit, Gewitter oder starken Regenfall. Unter feuchten Bedingungen werden Allergene aus den Pollenkörnern freigesetzt, wie dies auch unter physiologischen Bedingungen während der Befruchtung stattfindet [Behrendt 1997].

Außerdem ist die Allergenfreisetzung temperaturabhängig. Maximale Allergenkonzentrationen erhält man bei einer Temperatur von 37°C [Behrendt 1999].

Viele epidemiologische Studien zeigen einen Anstieg von allergischen Erkrankungen in luftverschmutzten Regionen [Behrendt 1995, ISAAC 1998, Ring 1997, von Mutius 1994, Taylor 1985]. Eine höhere Bioverfügbarkeit von PALM_{LTB4} in diesen Arealen kann zu Aggravation der allergischen Reaktion durch den proinflammatorischen Effekt von PALM_{LTB4} führen.

Ahlholm et al. verglichen die Quantität des Majorallergens der Birke Bet v 1 von Birken, die in unterschiedlichen Höhen und bei unterschiedlichen Temperaturen gewachsen waren. Sie fanden eine signifikant höhere Allergenität bei den Bäumen, die bei höheren Temperaturen gewachsen waren [Ahlholm 1998]. Auch dieses Ergebnis konnte in dieser Studie nicht bestätigt werden.

Es wurden Birkenpollen elektronenmikroskopisch untersucht, die in Gebieten mit besonders hoher oder besonders niedriger NO₂-Konzentration gesammelt wurden.

Bei den Pollen, die aus besonders schadstoffbelasteten Regionen stammten, zeigten partikuläre Auflagerungen teils in agglomerierter Form, insbesondere im Bereich der Exine porennah.

Diese Beobachtung bestätigten vorangehende elektronenmikroskopische Untersuchungen, bei denen Pollen, die in industriellen Regionen gesammelt worden waren, agglomerierte Partikel auf der Oberfläche zeigten [Behrendt 1991]. *In vitro*-Exposition von Pollen mit Partikeln führt zu Veränderungen der Morphologie und zu einem vermehrten Austritt allergenhaltiger Proteine mit veränderten immunchemischen Charakteristika [Behrendt 1991, 1992, 1997]. Außerdem wurden bei Exposition von Pollen gegenüber Stickstoffoxid und Ozon unter Laborbedingungen erhebliche chemische Veränderungen der Pollenoberfläche beobachtet, die Freisetzung von Allergenen aus den Pollen begünstigen [Chehregani 2004, Goschnik 1996]. Es waren auch Ausbildungen von Pollenschläuchen zu sehen. Pollenschläuche, die normalerweise zur Befruchtung wachsen, können sich auch pH-abhängig durch sauren Regen ausbilden. Hierbei spielen nicht nur der pH-Wert, sondern auch die Quantität des sauren Regens eine große Rolle [Munzuroglu 2003]. Auch Herbizide haben einen spezifischen Effekt auf das Pollenschlauchwachstum, so dass die Ausbildung von Pollenschläuchen als Bioindikator für die Toxizität der Luftverschmutzung fungieren können [Ovidi 2001]. Unsere Elektronenmikroskopbilder mit Birkenpollen aus stark ver-

schmutzten Gebieten zeigten auch Pollenschläuche, weswegen diese als Indikatoren für eine Exposition mit Luftschadstoffen dienen könnten.

Birkenpollen, die an Standorten niedriger Verkehrsbelastung gesammelt wurden, stellten sich in ihrer Struktur regelrecht dar. Insbesondere fanden sich keine Auflagerungen auf der Exine, keine Ausbildung von Pseudopollenschläuchen und eine regelrechte Porenmorphologie.

Die Patientenserum erfassten alle das korrespondierende Birkenpollenallergen Bet v 1 mit einer Bande auf Höhe von 17 kD, was auch dem spezifischen Gewicht von Bet v 1 entspricht. Außerdem zeigte sich bei dem Standort M32 zusätzliche eine Bande auf Höhe von 9,3 kD, was dem Allergen Bet v 4 entsprechen würde.

Die IgE - Reaktivität von Birkenpollenallergikern zu individuellen Birkenpollenallergenen wurde mit Hilfe des Immunoblots auch schon in anderen Studien untersucht [Jarolim 1989, Movérare 2002].

Mehr als 95% aller Birkenpollenallergiker erkennen das Majorallergen der Birke Bet v 1. Es gibt jedoch noch eine Reihe anderer Bet v – Allergene, die weniger häufig erkannt werden, jedoch wichtig sind, da sie IgE-Epitope mit homologen Allergenen von nicht verwandten Allergenquellen teilen, die für klinisch relevante Kreuzreaktionen verantwortlich sein können [Mahler 2001].

Bei Bet v 4 handelt es sich um ein kalziumbindendes Protein, das kreuzreagierende Allergene in Gras-, Baum- und Getreidepollen repräsentiert [Seiberler 1994, Twardosz 1997]. Das 9,3 kD große Protein reagiert mit IgE von ungefähr 20% der pollenallergischen Individuen [Twardosz 1997]. Bei einer Studie mit Seren von verschiedenen europäischen Birkenpollenallergikern wurde nachgewiesen, dass sich vor allem bei italienischen Probanden IgE – Antikörper gegen Bet v 4 zeigten und interessanterweise 17% der Bet v 4 – sensitiven Patienten keine Antikörper gegen Bet v 1 aufwiesen.

Das Extrakt des Standortes M3 wurde nicht von den Patientenserum erkannt.

Im Pricktest zeigte ein Extrakt mit einer hohen Bet v 1 – Konzentration im ELISA eine starke Rötung bzw. eine große Quaddel. Ein anderes Extrakt mit einer geringeren Majorallergenkonzentration zeigte entsprechend geringere Rötung und eine kleinere Quaddel im Vergleich. Im Pricktest korrelierten somit die Bet v 1-Konzentrationen mit den entsprechenden klinischen Symptomen einer Pollenallergie. Allerdings wies eine Lösung mit hohem Bet v 1 – Gehalt gar keine Reaktion auf.

Im Pricktest lösten die Birkenpollenextrakte aus Pollen, bei denen die Bet v 1-Konzentration im ELISA unter 6,2 ng/ml lagen, keinerlei Hautreaktionen in Form von Quaddeln oder Erythemen aus.

Somit konnte gezeigt werden, dass diese Pollen, deren Bet v 1-Werte unter der Nachweisgrenze lagen, auch keinerlei allergische Hautreaktionen auslösen konnten.

Es stellt sich die Frage, durch welche Faktoren es bei diesen Birken zu solch geringer Bet v 1-Konzentration kam. Möglich wäre z.B., dass diese Bäume durch Pilze oder andere Parasiten befallen sind, was jedoch einer genaueren Beobachtung dieser Birken bedarf. Außerdem müssten diese Bäume jährlich beprobt werden, um diese niedrigen Bet v 1-Werte auch weiterhin zu bestätigen. Eine genetische Untersuchung wäre hier zur genaueren Bestimmung von Nutzen.

6 Zusammenfassung

In den letzten Jahrzehnten hat die Prävalenz von atopischen Erkrankungen weltweit zugenommen. Viele Hypothesen wurden aufgestellt, um diese Tatsache zu erklären. Als eine Ursache wird die zunehmende Umweltbelastung diskutiert. Ziel dieser Doktorarbeit war es den Zusammenhang von Umweltbelastung und deren Wirkung auf die Freisetzung von Pollen-assoziierten Lipidmediatoren und Allergenen darzustellen. Als Grundlage hierfür diente die These, dass Umweltschadstoffe die Eigenschaften von Allergenträgern, wie z.B. Pollen, so verändern können, dass sie durch eine veränderte Allergenität verstärkte allergene Effekte bei Menschen aufweisen könnten.

In den Jahren 2002, 2003 und 2004 wurden die Birkenpollenflugsaisonen verschiedener Regionen Deutschlands (Westen und Süden, sowie 2004 auch der Osten) miteinander verglichen. Hierbei wurden die Dauer des Pollenfluges, die Gesamtpollenzahl und Pollenpeaks berücksichtigt.

In allen Jahren begann der Pollenflug in Nordrhein-Westfalen früher und dauerte länger als in Bayern. In Sachsen war die Dauer des Birkenpollenfluges im Vergleich zu den anderen Regionen kürzer und begann später.

Im Jahre 2002 war der Birkenpollenflug in Bochum um den Faktor 10 stärker als in München. Im Jahr 2003 zeigte sich sowohl in Bochum, als auch in München ein vergleichbar niedriger Pollenflug. Im Jahr 2004 war der Birkenpollenflug in Bochum 5-fach stärker als in München und war in Jena am niedrigsten.

Große Unterschiede fanden sich aber auch in Nordrhein-Westfalen selbst. So wurden die höchsten Birkenpollenzahlen in Bochum gemessen, gefolgt von Bocholt, Wesel, Duisburg und Borken.

2002 waren im Süden vier Peaks zu verzeichnen, die immer wieder von Tagen mit mäßigem Pollenflug unterbrochen wurden; im Westen fanden sich zwei Peaks, deren Pollenzahl pro Kubikmeter Luft und Tag wesentlich höher lagen als im Süden Deutschlands.

2003 gab es in jeder Region je zwei Peaks. Zwei Peaks fanden sich 2004 in Nordrhein-Westfalen, je ein Peak in Bayern und Sachsen.

Von Bet v 1, dem Hauptallergen der Birke, Gesamtprotein und den Pollen-assoziierten Lipidmediatoren wurden die Bioverfügbarkeiten bestimmt.

Die Bioverfügbarkeit von Bet v 1 war in München und NRW im Jahr 2002 statistisch nicht signifikant verschieden. Im Jahr 2003 fanden sich jedoch in München signifikant höhere Werte als in NRW. Im Vergleich der Jahre 2002 und 2003 lagen die Bet v 1-Konzentrationen 2002 signifikant niedriger verglichen mit 2003. Im Jahr 2004 waren die Werte in München am höchsten und in Leipzig am niedrigsten; es zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede.

Zudem fand sich interessanterweise in den Jahren 2002 und 2003 eine negative Korrelation zwischen dem Majorallergen der Birke Bet v 1 und PALM_{L_{TB4}}.

Die Gesamtprotein-Daten zeigten in allen Jahren und in allen Gebieten keine signifikanten Unterschiede.

Signifikant verschieden war jedoch im Jahr 2002 die Bioverfügbarkeit von proinflammatorisch wirksamen, LTB₄-ähnlichen Pollen-assoziierten Lipidmediatoren (PALM_{L_{TB4}}), die in München insgesamt höher als in NRW war und deren höchsten Werte an Standorten in unter 150 Metern Entfernung zu einer verkehrsreichen Straße gemessen wurden. Im Jahr 2003 und 2004 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der PALM_{L_{TB4}} in den verschiedenen Regionen (NRW, München und Leipzig). Es zeigten sich aber 2004 Stadt-/Land-Unterschiede in den jeweiligen Regionen: in städtischen Bereichen waren die PALM_{L_{TB4}}-Konzentrationen höher als in ländlichen, bei den Bet v 1-Werten zeigte sich eine inverse Situation: hier waren die Bet v 1-Werte am höchsten in ländlichen Bereichen.

Mit Hilfe der Elektrophorese konnten neben dem Majorallergen Bet v 1 noch weitere Bet v-Allergene im Extrakt nachgewiesen werden. So konnte neben Bet v 1 mit einer Bande auf Höhe von 17 kD, eine Bande auf Höhe von 9,3 kD, die dem Allergen Bet v 4 entspricht, erfasst werden.

Im Jahr 2002 befanden sich bei Birkenpollenextrakten von elf Standorten die Bet v 1-Konzentrationen im ELISA unter der Nachweisgrenze von 6,2 ng/ml. Um die allergene Aktivität von Birkenpollen, die im Bet v 1-ELISA wenig Allergen enthielten, in vivo zu überprüfen, wurde die Methode des Prick-Tests angewandt.

Hinsichtlich des Einflusses der verkehrsbedingten Umweltbelastung zeigte sich in städtischen Bereichen in Nordrhein-Westfalen eine positive Korrelation zwischen NO₂ als Marker für verkehrsbezogene Umweltbelastung und der PALM_{L_{TB4}}-Konzentration. Zwischen dem Majorallergen der Birke Bet v 1 und NO₂ fand sich keine Korrelation.

Veränderungen der Morphologie von Birkenpollen und der Formation von Pollenschläuchen erfolgten mit Hilfe von Raster- und Transmissions- Elektronenmikroskopie. Pollen, die an Standorten mit hoher Verkehrsbelastung (NO_2 : $50,64 \mu\text{g}/\text{m}^3$; $\text{PM}_{2,5}$: $17,51 \mu\text{g}/\text{m}^3$) gesammelt wurden, zeigten an Porenöffnungen Partikelagglomerationen und Ausbildungen von Pseudopollenschläuchen als Zeichen von Umweltbelastung. Im Gegensatz hierzu zeigten sich bei Pollen aus schadstoffarmen Regionen (NO_2 : $19,8 \mu\text{g}/\text{m}^3$; $\text{PM}_{2,5}$: $11,95 \mu\text{g}/\text{m}^3$) keine Veränderungen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Birkenpollen aus schadstoffbelasteten städtischen Gebieten wie in NRW verstärkt $\text{PALM}_{\text{LTB4}}$ freisetzen. Elektronenmikroskopische Bilder haben gezeigt, dass sich Schwebestaub und feinste Partikel auf der Pollenoberfläche in stark umweltbelasteten Gebieten festsetzen.

Die genauen Mechanismen, über welche die Umweltschadstoffe mit den Allergenträgern interagieren und eine Allergieentstehung fördern bzw. verstärken können, müssen weiter untersucht werden, damit perspektivisch ein sinnvolles Präventionskonzept erstellt werden kann. Insbesondere könnte bei Auffinden des PALM-Rezeptors auf Zellen des Immunsystems ein entsprechender Inhibitor entwickelt werden und allergische Symptome mindern.

7 Literaturverzeichnis

Ahlholm, J., Helander, M., Savolainen, J.

Genetic and environmental factors affecting the allergenicity of birch (*Betula pubescens* ssp. *czerepanovii* [Orl.] Hämet-Ahti) pollen

Clin Exp Allergy 28 (1998) 1384-1388

Atkinson, H., Larson, K.A.

A 10-year record of the arboreal airborne pollen in Stockholm, Sweden

Grana 29 (1990) 229-237

Baratelli, F., Krysan, K., Heuzé-Vourc'h, N., Zhu, L., Escudro, B., Sharma, S., Reckamp, K., Dohadwala, M., Dubinett, S.

PGE₂ confers survivin-dependent apoptosis resistance in human monocyte-derived dendritic cells

J Leukoc Biol 78 (2005) 555-564

Bedinger, P.

The remarkable biology of pollen

The Plant Cell 4 (1992) 879-887

Behrendt, H.

Allergien und Umwelteinflüsse

In: "Allergie 2000: Probleme, Strategien und praktische Konsequenzen"

Dustrie-Dustrie-Verlag, Dr. Karl Feistle, München-Deisenhofen (2000) 40-45

Behrendt, H., Becker, W.M.

Localization, release and bioavailability of pollen allergens: the influence of environmental factors

Curr Opin Immunol 13 (2001) 709-715

Behrendt, H., Becker, W.M., Friedrich, K.H., Darsow, U., Tomingas, R.

Interaction between aeroallergens and airborne particulate matter

Int Arch Allergy Immunol 99 (1992) 425-428

Behrendt, H., Becker, W.M., Fritzsche, C., Sliwa-Tomczok, W., Tomczok, J., Friedrichs, K.H., Ring, J.
Air pollution and allergy: Experimental studies on modulation of allergen release from pollen by air pollutants
Int Arch Allergy Immunol 113 (1997) 69-74

Behrendt, H., Ewers, H.-J., Hüttl, R.F., Jänicke, M., Pläßmann, E., Rehbinder, E., Sukopp, H.
Allergien und Umwelteinflüsse
In: "Sondergutachten: Umwelt und Gesundheit"
Metzler-Poeschel, Stuttgart (1999) 114-115

Behrendt, H., Friedrich, K.H., Kainka-Stänicke, F., Darsow, U., Becker, W., Tomingas, R.
Allergen and pollutants in the air - A complex interaction
In "New Trends in Allergy III"
Ring, J., Przybilla, B. (Hrsg.),
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg (1991) 467-478

Behrendt, H., Friedrichs, K.H., Krämer, U., Hitzfeld, B., Becker, W.M., Ring, J.
The role of indoor and outdoor air pollution in allergic diseases
Propren Allergy Clin. Immunol. 3 (1995) 83-89

Behrendt, H., Kasche, A., Ebner von Eschenbach, C., Risse, U., Huss-Marp, J., Ring, J.
Secretion of proinflammatory eicosanoid-like substances precedes allergen release from pollen grains in the initiation of allergic sensitization
Int Arch Immunol 124 (2001) 121-125

Behrendt, H., Kasche, A., Traidl, C., Plötz, S., Huss-Marp, J., Risse, U., Ebner von Eschenbach, C., Ring, J.
Pollen grains contain and release not only allergens, but also eicosanoid-like substances with neutrophil chemotactic activity: A new step in the initiation of allergic sensitization?

In: "New Trends in Allergy IV"

Ring, J., Behrendt, H., Vieluf, D. (Hrsg.),
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg (1997) 25-35

Behrendt, H., Krämer, U., Schäfer, T., Kasche, A., Eberlein-König, B., Darsow, U.,
Ring, J.

A research concept to study the role of environmental pollutants in allergy
Allergy Clin Immunol Int 13 (2001) 122- 127

Behrendt, H., Tomczok, J., Sliwa-Tomczok, W., Kasche, A., Ebner von
Eschenbach, C., Becker, W.M., Ring, J.

Timothy Grass (*Phleum pratense* L.)
Pollen as allergen carriers and initiators of an allergic response
Int Arch Immunol 118 (1999) 414-418

Berger, A., Monnard, I., Baur, M., Charbonnet, C., Safonova, I., Jomard, A.
Epidermal anti-inflammatory properties of 5, 11, 14 20:3: Effects on mouse ear
edema, PGE₂ levels in cultured keratinocytes, and PPAR activation
Lipids in Health and Disease 5 (2002) 1-12

Betz, M., Fox, B.S.

Prostaglandin E₂ inhibits production of Th 1 lymphokines but not of Th 2 lymphoki-
nes
J Immunol 146 (1991) 108-113

Björgstén, B.

Environmental risk factors for atopy
In: "New Trends in Allergy IV"
Ring, J., Behrendt, H., Vieluf, D. (Hrsg.),
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 1997 (25-35)

Blackley, C.H.

Experimental researches on the causes and nature of *catarrhus aestivus* (hay fe-
ver or hay-asthma)

In: "Ballière, Tindall and Cox" (eds)
Ltd, London (1873)

Blomberg, A., Krishna, M.T., Bocchino, V., Biscione, G.L., Shute, J.K., Kelly, F.J.,
Frew, A.J., Holgate, S.T., Sandström, T.
The inflammatory effects of 2 ppm NO₂ on the airways of healthy subjects
Am J Respir Crit Care Med 156 (1997) 418-424

Braback, L., Breborowicz, A., Dreborg, S., Knutsson, A., Pieklik, H., Bjorksten, B.
Atopic sensitization and respiratory symptoms among Polish and Swedish school
children
Clin Exp Allergy 24 (1994) 826-835

Bradford, M.
A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein
utilizing the principle of protein-dye binding
Anal Biochem 72 (1976) 248-254

Braun-Fahrländer, C., Gassner, M., Grize, L., Takken-Sahli, K., Neu, U., Stricker,
T., Varonier, H., Wüthrich, B., Sennhauser, F. and the Swiss study on childhood
allergy and respiratory symptoms with respect to air pollution (SCARPOL) team
No further increase of asthma, hay fever and atopic sensitisation in adolescents
living in Switzerland
Eur Respir J 23 (2004) 407-413

Braun-Fahrländer, C., Riedler, J., Herz, U., Eder, W., Waser, M., Grize, L., Maisch,
S., Carr, D., Gerlach, F., Bufe, A., Lauener, R.P., Schierl, R., Renz, H., Nowak, D.,
von Mutius, E.
Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age
children
The New England Journal of Medicine 347 (2002) 869-877

Braun-Fahrländer, C., Vuille, J., Sennhauser, F., Neu, U., Kunzle, T., Grize,
L., Gassner, M., Minder, C., Schindler, C., Varonier, H., Wuthrich, B.
Respiratory health and long-term exposure to air pollutants in Swiss schoolchil-

dren. SCARPOL Team. Swiss study on childhood allergy and respiratory symptoms with respect to air pollution, climate and pollen
Am J Respir Crit Care Med 155 (1997) 1042-1049

Bray, M.A., Ford-Hutchinson, A.W., Smith, M.J.H.
Leukotriene B₄: Biosynthesis and biological activities
In: "SRS-A and leukotrienes"
Piper, P.J. (Ed.)
Wiley, Chichester (1981) 253–270

Brunekreef, B., Hoek, G., Fischer, P., Spieksma, F.T.M.
Relation between airborne pollen concentrations and daily cardiovascular and respiratory-disease mortality
The Lancet 355 (2000) 1517-1518

Brunekreef, B., Janssen, N.A.H., de Hartog, J., Marssema, H., Knappe, M., van Vliet, P.
Air pollution from truck traffic and lung function in children living near motorways
Epidemiology 8 (1997) 298-303

Bufe, A., Spangfort, M.D., Kahlert, H., Schlaak, M., Becker, W.M.
The major birch pollen allergen, Bet v 1, shows ribonuclease activity
Planta 199 (1996) 413–415

Cadot, P., Diaz, J.F., Proost, P., Van Damme, J., Engelborghs, Y., Stevens, E.A.M., Ceuppens, J.L.
Purification and characterization of an 18-kD allergen of birch (*Betula verrucosa*) pollen: Identification as a cyclophilin
J Allergy Clin Immunol 105 (2000) 286-291

Chehregani, A., Majde, A., Moin, M., Gholami, M., Shariatzadeh, M.A., Nassiri, H.
Increasing allergy potency of *Zinnia* pollen grains in polluted areas
Ecotoxicol Environ Saf 58 (2004) 267-272

Clot, B.

Trends in airborne pollen: An overview of 21 years of data in Neuchatel (Switzerland)

Aerobiologia 19 (2003) 227-234

Coca, A.F., Cooke, R.A.

On the classification of the phenomena of hypersensitiveness

J Immunol 8 (1922) 163-182

D'Amato, G., Russo, M., Liccardi, G., Saggese, M., Gentili, M.,
Mistrello, G., D' Amato, M., Falagiani, P.

Comparison between outdoor and indoor airborne allergenic activity

Ann Allergy Asthma Immunol 77 (1996) 147-152

D'Amato, G., Spieksma, F.T., Liccardi, G., Jager, S., Russo, M., Kontou-Fili, K.,
Nikkels, H., Wüthrich, B., Bonini, S.

Pollen-related allergy in Europe

Allergy 53 (1998) 567-578

D'Amato, G., Liccardi, G., D'Amato, M., Cazzola, M.

Outdoor air pollution, climatic changes and allergic bronchial asthma

Eur Respir L 20 (2002) 763-776

Dahl, A., Strandhede, S.O.

Predicting the intensity of the birch pollen season

Aerobiology 12 (1996) 97-106

Darsow, U.

Wirkung von atmosphärischen Schwebestäuben auf Morphologie und allergene Eigenschaften von Gräserpollen (*Dactylis glomerata*) in vitro

Dissertation

Medizinisches Institut für Umwelthygiene an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf 1992

Demeure, C.E., Yang, L.P., Desjardins, C., Raynauld, P., Delespesse G.
Prostaglandin E₂ primes naive T cells for the production of anti-inflammatory cyto-
kines
Eur J Immunol 27 (1997) 3526-3531

Detandt, M., Nolard, N.
The fluctuations of the allergenic pollen content of the air in Brussels (1982 to
1997)
Aerobiologia 16 (2000) 55-61

Devalia, J.L., Bayram, H., Ruznak, C., Calderon, M., Sapsford, R.J., Abdelaziz,
M.A., Wang, J., Davies, R.J.
Mechanisms of pollution-induced airway disease: in vitro studies in the upper and
lower airways
Allergy 52 (1997) 45-51

Devalia, J.L., Rusznak, C., Herdman, M.J., Trigg, C.J., Tarraf, H., Davies, R.J.
Effect of nitrogen dioxide and sulphur dioxide on airway response of mild asth-
matic patients to allergen inhalation
Lancet 344 (1994) 1668-1671

Diaz-Sanchez, D., Tsien, A., Casillas, A., Dotson, A.R., Saxon, A.
Enhanced nasal cytokine production in human beings after *in vivo* challenge with
diesel exhaust particles
J Allergy Clin Immunol 98 (1996) 114-123

Dockery, D.W., Pope, C.A., Xu, X., Spengler, J.D., Ware, J.H., Fay, M.E., Ferris,
B.G., Speizer, F.E.
An association between air pollution and mortality in six U.S. cities
New Engl J Med 329 (1993) 1753-1759

Dorsch, W., Ring, J., Riepel, H.
Effect of 15-hydroxyeicosatetraenoic acid (15-HETE) on anti-immunoglobulin E
and calcium ionophore-induced histamine release from human leukocytes. Com-

parison with the effects of eicosatetraenoic acid and nordihydroguaiaretic acid
Int Arch Allergy Appl Immunol 73 (1984) 274-279

Drews, G.N., Lee, D., Christensen, C.A.

Genetic analysis of female gametophyte development and function
The Plant Cell 10 (1998) 5-17

Duhme, H., Weiland, S.K., Keil, U., Kraemer, B., Schmid, M., Stender, M., Cham-
bles, L.

The association between self-reported symptoms of asthma and allergic rhinitis
and self-reported traffic density on street of residence in adolescents
Epidemiology 7 (1996) 578-582

Eberlein-König, B., Przybilla, B., Kühnl, P., Pechak, J., Gebefugi, I., Kleinschmidt,
J., Ring, J.

Influence of airborne nitrogen dioxide or formaldehyde on parameters of skin func-
tion and cellular activation in patients with atopic eczema and control subjects
J Allergy Clin Immunol 101 (1998) 141-143

Ebner, C., Hirschwehr, R., Bauer, L., Breiteneder, H., Valenta, R., Ebner, H., Kraft,
D., Scheiner, O.

Identification of allergens in fruits and vegetables: IgE cross-reactivities with the
important birch pollen allergens Bet v 1 and Bet v 2 (birch profilin)
The Journal of Allergy and Clinical Immunology 95 (1995) 962-969

Eigenmann, P.A.

Diagnosis of allergy syndromes: Do symptoms always mean allergy?
Allergy 79 (2005) 6-9

Elstner, E., Hippeli, S.

Schadstoffe aus der Luft

In: "Schadwirkungen auf Pflanzen"

Berthold Hock und Erich F. Elstner (Hrg.)

Akademischer Verlag, Heidelberg (1995) 79-115

Emberlin, J.

The effects of patterns in climate and pollen abundance on allergy

Allergy 49 (1994) 15-20

Finkelstein, M.M., Jerrett, M., Sears, M.R.

Environmental inequality and circulatory disease mortality gradients

J Epidemiol Community health 59 (2005) 481-487

Fogh, K., Herlin, T., Kragballe, K.

Eicosanoids in skin of patients with atopic dermatitis: Prostaglandin E₂ and leukotriene B₄ are present in biologically active concentrations

J Allergy Clin Immunol 83 (1989) 450-455

Ford-Hutchinson, A.W.

Leukotriene B₄ in inflammation

Crit Rev Immunol 10 (1990) 1-12

Ford-Hutchinson, A.W., Bray, M.A., Doig, M.V., Shipley, M.E., Smith, M.J.H.

Leukotriene B₄, a potent chemokinetic and aggregating substance released from polymorphonuclear leukocytes

Nature 286 (1980) 264-265

Freeland, H.S., Schleimer, R.P., Schulman, E., Lichtenstein, L.M., Peters, S.P.

Generation of leukotriene B₄ by human lung fragments and purified human lung mast cells

Am Rev Respir Dis 138 (1988) 389-394

Frei, T.

The effects of climate change in Switzerland 1969-1996 on airborne pollen quantities from hazel, birch and grass

Grana 37 (1998) 172-179

Frei, T., Leuschner, R.M.

A change from grass pollen induced allergy to tree pollen induced allergy: 30

years of pollen observation in Switzerland

Aerobiologia 16 (2000) 407-416

Gauderman, W.J., Avol, E., Gilliland, F., Vora, H., Thomas, D., Berhane, K., McConnell, R., Kuenzli, N., Lurmann, F., Rappaport, E., Margolis, H., Bates, D., Peters, J.

The effect of air pollution on lung development from 10 to 18 years of age

New Eng J Med 351 (2004) 1057-1067

Gioulekas, D., Papakosta, D., Damialis, A., Spieksma, F., Giouleka, P., Patakas, D.

Allergenic pollen records (15 years) and sensitization in patients with respiratory allergy in Thessaloniki, Greece

Allergy 59 (2004) 174-184

Gleich, G.J., Kita, H.

Bronchial asthma: Lessons from murine models

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94 (1997) 2101-2102

Grote, M., Hayek, B., Reichelt, R., Kraft, D., Valenta, R.

Immunogold electron microscopic localization of the cross-reactive two-EF-hand calcium-binding birch pollen allergen Bet v 4 in dry and rehydrated birch pollen

Int Arch Allergy Immunol 120 (1999) 287-294

Grote, M., Valenta, R., Reichelt, R.

Abortive pollen germination: A mechanism of allergen release in birch, alder, and hazel revealed by immunogold electron microscopy

J Allergy Clin Immunol 111 (2003) 1017-1023

Guderian, R.

Von lokaler Belastung zum globalen Problem

Essener Unikate 4/5 (1994) 59-74

Heinrich, J., Topp, R., Gehring, U., Thefeld, W.

Traffic at residential address, respiratory health, and atopy in adults: the National German Health Survey 1998

Environmental Research 98 (2005) 240-249

Henneberger, A., Zareba, W., Ibalid-Mulli, A., Rückerl, R., Cyrys, J., Couderc, J.-P., Mykings, B., Woelke, G., Wichmann, H.-E., Peters, A.

Repolarization changes induced by air pollution in ischemic heart disease patients
Environmental Health Perspectives 113 (2005) 440-446

Henricks, P.A., Engels, F., Van der Linde, H.J., Nijkamp, F.P.

13-hydroxy-linoleic acid induces airway hyperreactivity to histamine in guinea-pigs
Eur J Pharmacol 197 (1991) 233-234

Herrmann-Kunz, E., Thierfelder, W.

Allergische Rhinitis und Sensibilisierungsraten - Nimmt die Prävalenz wirklich zu?
Wie sicher sind unsere Informationen?

In: "Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz"
Springer-Verlag 44 (2001) 643-653

Hjelmroos, M., Schumacher, M.J., Van Hage-Hamsten, M.

Heterogeneity of pollen proteins within individual *Betula Pendula* trees
Int Arch Allergy Immunol 108 (1995) 368-376

Hoek, G., Brunekreef, B., Goldbohm, S., Fischer, P., van den Brandt, P.A.

Association between mortality and indicators of traffic-related air pollution in the Netherlands: a cohort study
Lancet 360 (2002) 1203-1209

Hoffmann-Sommergruber, K.

Pathogenesis-related (PR)-proteins identified as allergens
Biochem Soc Trans. 30 (2002) 930-935

Huss-Marp, J.

Untersuchung zur Bedeutung der relativen Luftfeuchte für die Allergenfreisetzung

aus Pollen
Dissertation 2000

Hwang, B.F., Lee, Y.L., Lin, Y.C., Jaakkola, J.J., Guo, Y.L.
Traffic related air pollution as a determinant of asthma among Taiwanese school children
Thorax 60 (2005) 467-473

International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)
Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema. The international study of asthma and allergies in childhood (ISAAC) steering committee
Lancet 351 (1998) 1225-1232

Ishizaki, K., Ishizaki, T., Hornbrook, M.M.
Physico-chemical properties of human reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity
J Immunol 97 (1966) 75-85

Ishizaki, T., Koizumi, K., Ikemori, R., Ishiyama, Y., Kushibiki, E.
Studies of prevalence of Japanese cedar pollinosis among the residents in a densely cultivated area
Ann Allergy 58 (1987) 265-270

Jäger, S.
Are the current trends of pollen charges in Europe
Poster, XXII. Congress EAACI Paris 2004

Jäger, S. Spieksma, F.T.M., Nolard, N.
Fluctuations and trends in airborne concentrations of some abundant pollen types, monitored at Vienna, Leiden and Brussels
Grana 30 (1991) 309-312

Jato, V., Aira, M.J., Dopazo, A., Iglesias, M.I., Mendez, J., Rodriguez-Rajo, F.J.

Aerobiology of *Castanea* pollen in Galicia

Aerobiologia 17 (2001) 223-240

Johansson, S.G.O., Bennich, H.

Immunological studies of an atypical (myeloma) immunoglobulin

Immunology 13 (1967) 381-394

Kalinski, P., Hilkens, C.M.U., Snijders, A., Snijdewint, F.G.M., Kasperberg, M.L.

IL-12-deficient dendritic cells, generated in the presence of prostaglandin E₂, promote type 2 cytokine production in maturing human naive T helper cells

J Immunol 159 (1997) 28-35

Kanda, N., Mitsui, H., Watanabe, S.

Prostaglandin E₂ suppresses CCL27 production through EP2 and EP3 receptors in human keratinocytes

J Allergy Clin Immunol 114 (2004) 1403-1409

Karamloo, F., Wangorsch, A., Kasahara, H., Davin, L.B., Haustein, D., Lewis, N.G., Vieths, S.

Phenylcoumaran benzylic ether and isoflavonoid reductases are a new class of crossreactive allergens in birch pollen, fruits and vegetables

Eur J Biochem 268 (2001) 5310- 5320

Kasche, A.

Wechselwirkungen zwischen Birkenpollen und humanen polymorphonukleären Granulozyten von Atopikern und Normalpersonen:

Bedeutung für die Initialphase der allergischen Entzündung

Dissertation 2002

Knight, J., Rowley, A.F.

Immunoregulatory activities of eicosanoids in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Immunology 85 (1995) 389-393

Knox, RB.

Pollen and Allergy

In: "Studies in biology"

Edward Arnold Verlag, London; 107 (1979) 23-32

Koro, O., Furutani, K., Hide, M., Yamada, S., Yamamoto, S.

Chemical mediators in atopic dermatitis: Involvement of leukotriene B₄ released by a type I allergic reaction in the pathogenesis of atopic dermatitis

Allergy Clin Immunol 103 (1999) 663-670

Krämer, U., Behrendt, H., Dolgner, R., Oppermann, H., Ranft, U., Ring, J., Schlipkötter, HW.

Prävalenzen von Atemwegserkrankungen, Allergien und Sensibilisierungen

Allergologie 22 (1999) 27-37

Krämer, U., Behrendt, H., Dolgner, R., Willer, H., Schlipkötter, H.W.

Impact of SO₂ and TSP on allergic manifestations and non-allergic respiratory diseases – results from the study on school-beginners in east and west Germany 1991-1994

In: "New Trends in Allergy IV"

Ring, J., Behrendt, H., Vieluf, D. (Hrsg.),

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg (1997) 43-47

Krämer, U., Heinrich, J., Wjest, M., Wichmann, H.

Age of entry to day nursery and allergy in later childhood

Lancet 352 (1999) 450-454

Krämer, U., Koch, T., Ranft, U., Ring, J., Behrendt, H.

Traffic-related air pollution is associated with atopy in children living in urban areas

Epidemiology 11 (2000) 64-70

Krämer, U., Koch, T., Ranft, U., Ring, J., Behrendt, H.

Verkehrsbelastung und Allergie

In: "Allergie 2000: Probleme, Strategien und praktische Konsequenzen"

Dustrie-Verlag Dr. Karl Feistle München-Deisenhofen (2000) 51-57

Krämer, U., Lemmen, C., Behrendt, H., Link, E., Schäfer, T., Gostomzyk, J., Scherer, G., Ring, J.

The effect of environmental tobacco smoke on eczema and allergic sensitization in children

British Journal of Dermatology 150 (2004) 111

Krämer, U., Link, E., Behrendt, H.

Geografische und zeitliche Trends der Birken-, Gras- und Beifußpollenbelastung in Deutschland

Pneumologie 55 (2001) 229-230

Krämer, U., Schäfer, T., Behrendt, H., Ring, J.

The influence of cultural and educational factors on the validity of symptom and diagnosis questions for atopic eczema

Br J Dermatol 139 (1998) 1040-1046

Krombach, J., Kampe, S., Keller, C., Wright, P.

Pharaoh Menes' death after an anaphylactic reaction –the end of a myth

Allergy 59 (2004) 1234-1235

Küster, W., Petersen, M., Christophers, E., Goos, M., Sterry, W.

A family study of atopic dermatitis

Clinical and genetic characteristics at 188 patients and 2.151 family members

Arch Dermatol Res 282 (1990) 98-102

Laemmli U.K.

Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4

Nature 227 (1970) 680-685

Laffer, S., Hamdi, S., Lupinek, C., Sperr, W.R., Valent, P., Verdino, P., Keller, W., Grote, M., Hoffmann-Sommergruber, K., Scheiner, O., Kraft, D., Rideau, M., Va-

lenta, R.

Molecular characterization of recombinant T1, a non-allergenic periwinkle (*Catharanthus roseus*) protein, with sequence similarity to the Bet v 1 plant allergen family

Biochem J 373 (2003) 261-269

Laitinen, L.A., Laitinen, A., Haahtela, T., Vilkkka, V., Spur, B.W., Lee, T.H.

Leukotriene E₄ and granulocytic infiltration into asthmatic airways

The Lancet 341 (1993) 989-990

Legler, D.F., Krause, P., Scandella, E., Singer, E., Groettrup, M.

Prostaglandin E₂ is generally required for human dendritic cell migration and exerts its effect via EP2 and EP4 receptors

J Immunol 176 (2006) 966-973

Leitner, A., Jensen-Jarolim, E., Grimm, R., Wüthrich, B., Ebner, H., Scheiner, O., Kraft, D., Ebner, C.

Allergens in pepper and paprika. Immunologic investigation of the celery-birch-mugwort-spice syndrome

Allergy 53 (1998) 36-41

Li, N., Sioutas, C., Cho, A., Schmitz, D., Misra, C., Sempf, J., Wang, M., Oberley, T., Froines, J., Nel, A.

Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage

Environmental Health Perspectives 111 (2003) 455-460

Lindberg, R.E., Pinnas, J.L., Jones, J.F.

Pollen-induced chemiluminescence: Inhibition by serum from allergic individuals

J Allergy Clin Immunol 69 (1982) 388-396

Mahler, V., Fischer, S., Heiss, S., Duchêne, M., Kraft, D., Valenta, R.

cDNA cloning and characterization of a cross-reactive birch pollen allergen: Identification as a pectin esterase

Int Arch Allergy Immunol 124 (2001) 64-66

Markovic-Housley, Z., Degano, M., Lamba, D., von Roepenack-Lahaye, E., Clemens, S., Susani, M., Ferreira, F., Scheiner, O., Breitender, H.

Crystal structure of a hypoallergenic isoform of the major birch pollen allergen Bet v 1 and its likely biological function as a plant steroid carrier

J Mol Biol 325 (2003) 123–133

Marks, G.B., Colquhoun, J.R., Girgis, S.T., Hjelmroos, M., Treloar, A.B.A., Hansen, P., Downs, S.H., Car, N.G.

Thunderstorm outflows preceding epidemics of asthma during spring and summer

Thorax 56 (2001) 468-471

May, C.D.

The ancestry of allergy: being an account of the original experimental induction of hypersensitivity recognizing the contribution of Paul Portier

J Allergy Clin Immunol 75 (1985) 485-495

McMillan, R.M., Foster, S.J.

Leukotriene B₄ and inflammatory disease

Agents and Actions 24 (1988) 114-119

Menzel, A.

Trends in phenological phases in Europe between 1951 and 1996

Int J Biometeorol 44 (2000) 76-81

Menzel, A., Estrella, N.

Plant phenological changes

In: "Fingerprints of climate change"

Walther et al (ed)

New York, Kluwer Academic/plenum Publishers (2001) 123-137

Menzel, A., Estrella, N., Fabian, P.

Spatial and temporal variability of the phenological seasons in Germany from 1951-1996

Global Change Biol 7 (2001) 657-666

Midoror-Horiuti, T., Brooks, E.G., Goldblum, R.M.

Pathogenesis-related proteins of plants as allergens

Ann Allergy Asthma Immunol 87 (2001) 262-271

Miyahara, N., Miyahara, S., Takeda, K., Gelfand, E.W.

Role of the LTB₄/BLT1 pathway in allergen-induced airway hyperresponsiveness and inflammation

Allergology International 55 (2006) 91-97

Miyamoto, T.

Epidemiology of pollen-induced airway disease in Japan

Allergy 52 (1997) 30-36

Movérare, R., Westritschnig, K., Svensson, M., Hayek, B., Bende, M., Pauli, G., Sorva, R., Haahtela, T., Valenta, R., Elfman, L.

Different IgE reactivity profiles in birch pollen-sensitive patients from six European populations revealed by recombinant allergens: an imprint of local sensitization

Int Arch of Allergy Immunol 128 (2002) 325-335

Müller, M.

Insektenstichallergie

Gustav Fischer Verlag Stuttgart, New York (1988) 1

Müller, M.J.

Radically novel prostaglandins in animals and plants: the isoprostanes

Chem Bio 12 (1998) 323-333

Munzuroglu, O., Obek, E., Geckil, H.

Effects of simulated acid rain on the pollen germination and pollen tube growth of apple (*Malus Sylvestris* Miller cv. Golden)

Acta Biol Hung 54 (2003) 95-103

MURL (Ministerium für Umwelt, Raumordnung und Landwirtschaft des Landes Nordrhein-Westfalen)

Pilotstudie "Allergie", Wirkungskataster zu den Luftreinhalteplänen
Rheinschiene Süd und Rheinschiene Mitte
MURL, Düsseldorf (1990) 157-189

Nagy, L., Lee, T.H., Goetzel, E.J., Pickett, W.C., Kay, A.B.
Complement receptor enhancement and chemotaxis of human neutrophils and
eosinophils by leukotrienes and other lipoxygenase products
Clin Exp Immunol 47 (1982) 541-547

Nicolai, T.
Pollution, environmental factors and childhood respiratory allergic disease
Toxicology 181-182 (2002) 317-321

Nicolai, T., Carr, D., Weiland, S.K., Duhme, H., von Ehrenstein, O., Wagner, C.,
von Mutius, E.
Urban traffic and pollutant exposure related to respiratory outcomes and atopy in a
large sample of children
Eur Respir J 21 (2003) 956-963

Nygaard, U.C., Aase, A., Lovik, M.
The allergy adjuvant effect of particles—genetic factors influence antibody and cy-
tokine responses
BMC Immunol 6 (2005) 11

O' Driscoll, B.R.C., Cromwell, O., Kay, A.B.
Sputum leukotrienes in obstructive airways diseases
Clin exp Immunol 55 (1984) 397-404

Palmblad, J., Malmsten, C.L., Uden, A.-M., Radmark, O., Engstedt, L.,
Samuelsson, B.
Leukotriene B₄ is a potent and stereospecific stimulator of neutrophil chemotaxis
and adherence
Blood 58 (1981) 658-661

Pauli, G., Oster, J.P., Deviller, P., Heiss, S., Bessot, J.C., Susani, M., Ferreira, F., Kraft, D., Valenta, R.

Skin testing with recombinant allergens rBet v 1 and birch profilin, rBet v 2: Diagnostic value for birch pollen and associated allergies
J Allergy Clin Immunol 97 (1996) 1100-1109

Payan, D.G., Goetzel, E.J.

Specific suppression of human T lymphocyte function by leukotriene B₄
The Journal of Immunology 131 (1983) 551-553

Pene, J., Rousset, F., Brière, F., Chretien, I., Bonnefoy, J.-Y., Spits, H., Yokota, T., Arai, N., Arai, K.-I., Banchereau, J., de Vries, J.E.

IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin 4 and suppressed by interferons gamma and alpha and prostaglandin E₂
Proc Natl Acad Sci 85 (1988) 6880-6884

Peternel, R., Srncic, L., Culig, J., Zaninovic, K., Mitic, B., Vukusic, I.

Atmospheric pollen season in Zagreb (Croatia) and its relationship with temperature and precipitation
Int J Biometeorol 48 (2004) 186-191

Pierson, E., Cresti, M.

Cytoskeleton and cytoplasmic organization of pollen and pollen tubes
Int Rev Cytol 140 (1992) 73-125

Plötz, S., Traidl-Hoffmann, C., Feussner, I., Kasche, A., Feser, A., Ring, J., Jakob, T., Behrendt, H.

Chemotaxis and activation of human peripheral blood eosinophils induced by pollen-associated lipid mediators
J Allergy Clin Immunol 113 (2004) 1152-1160

Podoshin, L., Gertner, R., Fradis, M.

Treatment of perennial allergic rhinitis with ascorbic acid solution
Ear Nose Throat J 70 (1991) 54-55

Prausnitz, C., Küstner, H.
Studies in hypersensitivity
Chem Abs 15 (1921) 3676

Puc, M.
Ragweed pollen in the air of Szczecin
Ann Agric Environ Med 11 (2004) 53-57

Puc, M., Puc, M.
Allergenic airborne grass pollen in Szczecin, Poland
Ann Agric Environ Med 11 (2004) 237-244

Radon, K., Windstetter, D., Eckart, J., Dressel, H., Leitritz, L., Reichert, J., Schmid, M., Praml, G., Schosser, M., von Mutius, E., Nowak, D.
Farming exposure in childhood, exposure to markers of infections and the development of atopy in rural subjects
Clin Exp Allergy 34 (2004) 1178-1183

Rasmussen, A.
The effects of climate change on the birch pollen season in Denmark
Aerobiologia 18 (2002) 253-265

Rehbinder, E., Sukopp, H., Behrendt, H., Ewers, H.-J., Hüttl, R., Jänicke, M., Plaßmann, E.
Der Rat der Sachverständigen für Umweltfragen (SRU)
In: "Umwelt und Gesundheit Risiken richtig einschätzen – Sondergutachten"
Metzler-Poeschel-Verlag Stuttgart (1999) 107-109

Resch, A., Schlipkötter, U., Crispin, A., Behrendt, H., Heinrich, J., Wichmann, H.E., Ring, J., Schafer, T. and the KORA study group
Atopic disease and its determinants-a focus on the potential role of childhood infection
Clin Exp Allergy 34 (2004) 1184-1191

Riboldi, E., Musso, T., Moroni, E., Urbinati, C., Bernasconi, S., Rusnati, M., Adorini, L., Presta, M., Sozzani, S.

Cutting edge: proangiogenic properties of alternatively activated dendritic cells
J Immunol 175 (2005) 2788-2792

Riedl, M., Diaz-Sanchez, D.

Biology of diesel exhaust effects on respiratory function
J Allergy Clin Immunol 115 (2005) 221-228

Riedler, J., Braun-Fahrländer, C., Eder, W., Schreuer, M., Waser, M., Maisch, S., Carr, D., Schierl, R., Nowak, D., von Mutius, E.

Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey
Lancet 358 (2001) 1129-1133

Riedler, J., Eder, W., Oberfeld, G., Schreuer, M.

Austrian children living on a farm have less hay fever, asthma and allergic sensitization
Clin Exp Allergy 30 (2000) 194-200

Ring, J.

In: "Angewandte Allergologie" Pathomechanismen allergischer Reaktionen IgE und Atopie

Ring, J., (Hrsg.)

MUW Taschenbuch München, 3. Auflage (2004) 90-92

Ring, J., Kramer, U., Schäfer, T., Behrendt, H.

Why are allergies increasing?
Curr Opin Immunol 13 (2001) 701-708

Roitt, I.

Typ-V-stimulatory hypersensitivity

Roitt's Essential Immunology

Roitt I. Ed. Blackwell science ninth edition (1997) 348-349

Rojido, G.M.

One hundred years of anaphylaxis

Allergol Immunol Clin 16 (2001) 364-368

Ruffin, R.E., Crockett, A.J., Alpers, J.H.

The effect of bucindolol on the airway function of asthmatics

Eur J Clin Pharmacol 30 (1986) 559-565

Rybnicek, O., Novotna, B., Rybnickowa, E., Rybnicek, K.

Ragweed in the Czech Republic

Aerobiologia 16 (2000) 287-290

Samuelsson, B., Borgeat, P., Hammarström, S., Murphy, R.C.

Introduction of a nomenclature: Leukotrienes

Prostaglandines, Geron-X 17 (1979) 785-786

Saxon, A., Diaz-Sanchez, D.

Air pollution and allergy: you are what you breathe

Nature Immunology 6 (2005) 223-226

Schäfer, T., Heinrich, J., Böhler, E., Klemm, E., Merkl, J., Ruhdorfer, S., Weigl, L.,

Wessner, D., Wichmann, H.E., Ring, J.

Allergien bei Erwachsenen

In: "Gesundheitswesen"

Georg Thieme Verlag KG Stuttgart, New York 67 (2005) 187-192

Schäfer, T., Krämer, U., Behrendt, H., Kunz, B., Überla, K., Vieluf, D., Ring, J.

Epidemiology of Atopic Eczema

In: "New Trends in Allergy IV"

Ring, J., Behrendt, H., Vieluf, D. (Hrsg.)

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg (1997) 25-35

Schäfer, T., Ring, J.

Epidemiologie des atopischen Ekzems

Allergologie 21 (1998) 259-271

Schäppi, G.F., Suphioglu, C., Taylor, P.E., Knox, R.B.
Concentrations of the major birch tree allergen Bet v 1 in pollen and respirable fine particles in the atmosphere
J Allergy Clin Immunol 100 (1997) 656-661

Schäppi, G.F., Taylor, P.E., Staff, I.A., Rolland, J.M., Suphioglu, C.
Immunologic significance of respirable atmospheric starch granules containing major birch allergen Bet v 1
Allergy 54 (1999) 478-483

Schäppi, G.F., Taylor, P.E., Staff, I.A., Suphioglu, C., Knox, R.B.
Source of Bet v 1 loaded inhalable particles from birch revealed
Sex Plant Reprod 10 (1997) 315-323

Schenker, M.
Air pollution and mortality
New Engl J Med 329 (1993) 1807-1808

Seiberler, S., Scheiner, O., Kraft, D., Valenta, R.
Homology of two cDNAs coding for birch pollen allergens with calmodulin: Protein-bound Ca^{2+} affects the IgE-binding capacity
Int Arch Allergy Immunol 99 (1992) 380-381

Seiberler, S., Scheiner, O., Kraft, D., Lonsdale, D., Valenta, R.
Characterization of a birch pollen allergen, Bet v III, representing a novel class of Ca^{2+} binding proteins; specific expression in mature pollen and dependence of patients' IgE binding on protein-bound Ca^{2+}
EMBO J 13 (1994) 3481-3486

Serhan, C.N., Prescott, S.M.
The scent of a phagocyte: Advances on leukotriene B_4 receptors
J Exp Med 192 (2000) 5-8

Shaheen, S.O., Aaby, P., Hall, A.J., Barker, D.J., Heyes, C.B., Shiell, A.W., Goudiaby, A.

Measles and atopy in Guinea-Bissau
Lancet 347 (1996) 1792-1796

Silverstein, A.

Clemens Freiherr von Pirquet: Explain immune complex disease in 1906
Nature Immunology 1 (2000) 453-455

Soberman, R.J., Harper, T.W., Betteridge, D., Lewis, R.A., Austen, K.F.

Characterization and separation of the arachidonic acid 5-lipoxygenase and linoleic acid omega-6 lipoxygenase (arachidonic acid 15-lipoxygenase) of human polymorphonuclear leucocytes
J Biol Chem 260 (1985) 4508-4515

Sparks, T.H., Menzel, A.

Observed changes in seasons: an overview
Int J Climatol 22 (2002) 1715-1725

Spieksma, F.T.M., Kramps, J.A., van der Linden, A.C., Nikkels, B.H., Plomb, A., Koerten, H.K., Dijkman, J.H.

Evidence of grass-pollen allergenic activity in the smaller micronic atmospheric aerosol fraction
Clin Exp Allergy 20 (1990) 273-280

Spieksma, F.Z.M., Corden, J.M., Detandt, M., Millington, W.M., Nikkels, H., Nollard, N., Schoenmakers, C.H.H., Wachter, R., de Weger, L.A., Willems, R., Embertin, J.

Quantitative trends in annual totals of five common airborne pollen types (*Betula*, *Quercus*, *Poaceae*, *Urtica* and *Artemisia*), at five pollen-monitoring stations in western Europe
Aerobiologia 19 (2003) 171-184

Steinsvik, T.E., Ormstad, H., Gaarder, P.I., Aaberge, I., Bjonness, U., Lovik, M.

Human IgE production in hu-PBL-SCID mice injected with birch pollen and diesel exhaust particles

Toxicology 128 (1998) 219-230

Strachan, D.P.

Hay fever, hygiene and household size

BMJ 299 (1989) 1259-1260

Strachan, D.P.

Lifestyle and atopy

Lancet 353 (1999) 1457-1458

Strachan, D., Sibbald, B., Weiland, S., Ait-Khaled, N., Anabwani, G., Anderson, H.R., Asher, M.I., Beasley, R., Bjorksten, B., Burr, M., Clayton, T., Crane, J., Ellwood, P., Keil, U., Lai, C., Mallol, J., Martinez, F., Mitchell, E., Montefort, S., Pearce, N., Robertson, C., Shah, J., Stewart, A., von Mutius, E., Williams, H.

Worldwide variations in prevalence of symptoms of allergic rhinoconjunctivitis in children: the international study of asthma and allergies in childhood (ISAAC).

Pediatr Allergy Immunol 8 (1997) 161-176

Strand, V., Rak, S., Svartengren, M., Bylin, G.

Nitrogen dioxide exposure enhances asthmatic reaction to inhaled allergen in subjects with asthma

Am J Respir Crit Care Med 155 (1997) 881-887

Studnicka, M., Hackl, E., Pischinger, J., Fangmeyer, C., Haschke, N., Kühr, J., Urbanek, R., Neumann, M., Frischer, T.

Traffic-related NO₂ and the prevalence of asthma and respiratory symptoms in seven years olds

Eur Resp J 10 (1997) 2275-2278

Subiza, J.

How to interpret pollen counts

Alergol Immunol Clin 16 (2001) 59-65

- Sugimoto, M., Sugiyama, S., Yanagita, N., Ozawa, T.
Laser high performance liquid chromatography determination of prostaglandins in nasal lavage fluid in allergic rhinitis
Clinical and Experimental Allergy 24 (1994) 324-329
- Takafuji, S., Suzuki, S., Koizumi, K., Tadokoro, K., Miyamoto, T., Ikemori, R., Muranaka, M.
Diesel-exhaust particulates inoculated by the intranasal route have an adjuvant activity for IgE production in mice
J Allergy Clin Immunol 79 (1987) 639-645
- Tashpulatov, A.S., Clement, P., Akimecheva, S.A., Belogradova, K.A., Barinova, I., Rakhmawaty, F.D., Heberle-Bors, E., Touraev, A.
A model system to study the environment-dependent expression of the Bet v 1a gene encoding the major birch pollen allergen
Int Arch Allergy Immunol 134 (2004) 1-9
- Taylor, B., Wadsworth, J., Wadsworth, M.E., Peckham, C.S.
Rising incidence of eczema
Lancet 23 (1985) 464-465
- Taylor, P.E., Flagan, R.C., Miguel, A.G., Valenta, R., Glovsky, M.M.
Birch pollen rupture and the release of aerosols of respirable allergens
Clin Exp Allergy 34 (2004) 1591-1596
- Timonen, K.L., Pekkanen, J.
Air pollution and respiratory health among children with asthmatic or cough symptoms
Am J Respirat Crit Care Med 156 (1997) 546-552
- Tinghino, R., Twardosz, A., Barletta, B., Puggioni, E.M.R., Iacovacci, P., Butteroni, C., Afferni, C., Mari, A., Hayek, B., Di Felice, G., Focke, M., Westritschnig, K., Valenta, R., Pini, C.
Molecular, structural and immunologic relationships between different families of

recombinant calcium-binding pollen allergens

J Allergy Clin Immunol 109 (2002) 314–320

Toborek, M., Blanc, E.M., Kaiser, S., Mattson, M.P., Hennig, B.

Linoleic acid potentiates TNF-mediated oxidative stress, disruption of calcium homeostasis and apoptosis of cultured vascular endothelial cells

J Lipid Res 38 (1997) 2155-2167

Traidl-Hoffmann, C., Kasche, A., Menzel, A., Jakob, T., Thiel, M., Ring, J., Behrendt, H.

Impact of pollen on human health: More than allergen carriers?

Int Arch Allergy Immunol 131 (2003) 1-13

Traidl-Hoffmann, C., Kasche, A., Jakob, T., Behrendt, H.

Pollen-assoziierte Lipidmediatoren (PALMs): Botenstoffe aus Pollen mit proinflammatorischer und immunmodulatorischer Wirkung auf Zellen der allergischen Entzündung

Aktuelle Themen GSF (2005) 61-66

Traidl-Hoffmann, C., Kasche, A., Jakob, T., Huger, M., Plötz, S., Feussner, I., Ring, J., Behrendt, H.

Lipid mediators from pollen act as chemoattractants and activators of polymorphonuclear granulocytes

J Allergy Clin Immunol 5 (2002) 831-838

Traidl-Hoffmann, C., Kasche, A., Jakob, T., Huger, M., Plötz, S., Feussner, I., Ring, J., Behrendt, H.

Lipid mediators from pollen act as chemoattractants and activators of polymorphonuclear granulocytes

J Allergy Clin Immunol 109 (2002) 831-838

Traidl-Hoffmann, C., Mariani, V., Hochrein, H., Karg, K., Wagner, H., Ring, J., Mueller, M., Jakob, T., Behrendt, H.

Pollen-associated phytoprostanes inhibit dendritic cell interleukin-12 production

and augment T helper type 2 cell polarization

JEM 201 (2005) 627-636

Twardosz, A., Hayek, B., Seiberler, S., Vangelista, L., Elfman, L., Grönlund, H., Kraft, D., Valenta, R.

Molecular characterization, expression in *Escherichia coli*, and epitope analysis of a two EF-hand calcium-binding birch pollen allergen, Bet v 4

Biochem biophys res commun 239 (1997) 197–204

U.S. Environmental Protection Agency

Particulate matter (PM-10)

In: "Air Trends 1995 Summary Report"

Brochure on national air quality: Status and trends (1995) 7-38

Umwelt: Stickstoffoxid

Ärzte Woche 2001; Nr. 27

Valenta, R., Duchene, M., Ebner, C., Valent, P., Sillaber, C., Deviller, P., Ferreira, F., Tejkl, M., Edelman, H., Kraft, D., Scheiner, O.,

Profilins constitute a novel family of functional plant plan-allergens

J Exp Med 175 (1992) 377-385

Valenta, R., Duchene, M., Pettenburger, K., Sillaber, C., Valent, P., Bettelheim, P., Breitenbach, M., Rumpold, H., Kraft, D., Scheiner, O.

Identification of profilin as a novel pollen allergen; IgE autoreactivity in sensitized individuals

Science 253 (1991) 557-560

Van Loon, LC, Rep, M., Pieterse, CM

Significance of inducible defense-related proteins in infected plants

Annu Rev Phytopathol 44 (2006) 135-162

Van Vliet, P., Knape, M., de Hartog, J., Janssen, N., Harssema, H., Brunekreef, B.

Motor vehicle exhaust and chronic respiratory symptoms in children living near

freeways

Environmental research 74 (1997) 122-132

Vetter, R.

Wasp or hippopotamus?

J Allergy Clin Immunol 106 (2000) 196

Von Mutius, E.

The rising trends in asthma and allergic disease

Clin Exp Allergy 28 (1998) 45-49

Von Mutius, E., Martinez, F.D., Fritsch, C., Nicolai, T., Roell, G., Thiemann, H.H.

Prevalence of asthma and atopy in two areas of West and East Germany

Am J Respir Crit Care Med 149 (1994) 358-364

Von Pirquet, C.

Allergie

Münchener Med Wochenschrift 53 (1906) 1457-1458

Vrtala, S., Grote, M., Duchene, M., van Ree, R., Kraft, D., Scheiner, O., Valenta, R.

Properties of tree and grass pollen allergens: reinvestigation of the linkage between solubility and allergenicity

Int Arch Allergy Immunol 102 (1993) 160-169

Walther, G.-R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T.J.C.,

Fromentin, J.-M., Hoegh-Guldberg, O., Bairlein, F.

Ecological responses to recent climate change

Nature 416 (2002) 389-395

Wardmann, A.E., Stefani, D., MacDonald, J.C.

Thunderstorm-associated asthma or shortness of breath epidemic: a Canadian case report

Can Respir J 9 (2002) 267-270

WHO/IUIS (Allergen Nomenclature Subcommittee)

Allergen nomenclatur

Bull World Health Org 72 (1994) 797–806

Wickman, M., Bylin, G., Lindfors, A., Strand, V.

Allergen exposure and pollutants of the indoor and outdoor environment–
interaction in allergic disease

Progress in Allergy and Clinical Immunology 4 (1997) 150-152

Wilhelmi, L.K., Preuss, D.

The mating game: pollination and fertilization in flowering plants

Current Opinion in Plant Biology 2 (1999) 18-22

Wills-Karp, M.

Immunologic basis of antigen-induced airway hyperresponsiveness

Annu Rev Immunol 17 (1999) 255-281

Wüthrich, B.

Epidemiology of the allergic diseases: are they really on the increase?

Int Arch Allergy Appl Immunol 90 (1989) 3-10

Wüthrich, B.

Zur Häufigkeit der Pollenallergie in der Schweiz

In: “Epidemiologie allergischer Erkrankungen – Nehmen Allergien zu?“

Ring, J.

MMV Medizin Verlag München (1991) 119-123

Wyler, C., Braun-Fahrlander, C., Künzli, N., Schindler, C., Ackermann-Liebrich, U.,
Perruchoud, A., Leuenberger, P., Wüthrich, B.

Exposure to motor vehicle traffic and allergic sensitization. The Swiss study on air
pollution and lung diseases in adults (SAPALDIA)

Team Epidemiology 11 (2000) 450-456

Yamane, H., Sugimoto, Y., Tanaka, S., Ichikawa, A.

Prostaglandin E₂ receptors, EP2 and EP4, differentially modulate TNF-alpha and IL-6 production induced by lipopolysaccharide in mouse peritoneal neutrophils
Biochem Biophys Res Com 278 (2000) 224-228

Internetreferenzen

Aas, G.

Hängebirke (*Betula pendula*) und andere einheimische Birken – Dendrologische Anmerkungen

http://www.lwf.bayern.de/imperia/md/content/lwf-internet/veroeffentlichungen/lwf-wissen/28/lwf_wissen_28_01.pdf#search=%22aas%20betula%20pendula%20%22

Pollenvorhersage – der Weg ihrer Entstehung

http://www.pollenstiftung.de/index.php?inhalt=pollenvorhersage_funktionsweise

Schutzgemeinschaft Deutscher Wald e.V.

Die Birken

www.sdw.de/wald/baum_infos/faltblatt-birke/betula.htm

Steinecke, H., Schubert, P.

Die Pflanzen des Jahres 2000

http://www.palmengarten-frankfurt.de/deutsch/botanik/wissen/pfl_2000/betula.htm

<http://www.env-it.de/umweltbundesamt/luftdaten/pollutant.fwd?comp=SO2>

<http://www.env-it.de/umweltbundesamt/luftdaten/regulations.fwd?comp=NO2>

<http://www.env-it.de/umweltbundesamt/luftdaten/pollutant.fwd?comp=PM1>

Ein Reizgas gerät in Vergessenheit

Ärztewoche 27 (2001)

<http://www.aerztewoche.at/viewArticleDetails.do?articleId=2179>

8 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen herzlich bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank geht an meine Doktormutter Frau Professor Dr. Heidrun Behrendt, Leiterin des Zentrums Allergie und Umwelt, an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Technischen Universität München, für die Überlassung des Themas sowie die wissenschaftliche Unterstützung und Förderung während der Anfertigung der vorliegenden Arbeit, sowie Herrn Professor Dr. Dr. Johannes Ring, Direktor der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Technischen Universität München, für seine Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Anna Kasche für die ausgezeichnete und außerordentlich engagierte Betreuung meiner Doktorarbeit, sowie die ausdauernde Unterstützung und die vielen wertvollen Ratschläge.

Desweiteren danke ich besonders Frau Privatdozentin Dr. Claudia Traidl-Hoffmann für ihre stete Förderung und wissenschaftliche Unterstützung.

Für die statistische Auswertung der Daten möchte ich Frau Privatdozentin Dr. Ursula Krämer und Frau Elke Link, Institut für Umweltmedizinische Forschung GmbH der Heinrich Heine Universität, Düsseldorf, danken.

Für die freundschaftliche Atmosphäre und die Hilfestellung in vielfältiger Weise danke ich allen MitarbeiterInnen des Zentrums Allergie und Umwelt, insbesondere der Arbeitsgruppe um Herrn Privatdozent Dr. Jeroen Buters für die Messung des Majorallergens der Birke Bet v 1 und Frau Dr. Ingrid Weichenmeier für die elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Bei meiner Familie und Herrn Felix Brandl möchte ich mich herzlich für ihre Unterstützung bedanken.

9 Lebenslauf

Geboren als Tochter von Ortwin Klaus, Diplom-Ingenieur und Maria-Luise Klaus, Lehrerin, am 01.10.1977 in Freiburg im Breisgau. Schulausbildung an der Grundschule Vorderes Kandertal und am Hebel-Gymnasium Lörrach. Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität München und an der Technischen Universität München. Von August 2005 bis März 2007 Anstellung als Assistenzärztin in der dermatologischen Abteilung an der Hochgebirgsklinik Davos. Seit April 2007 Anstellung als Assistenzärztin an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie des Universitätsklinikums Leipzig.