

Effekte der Gießener Neurodermitisschulung auf Hautzustand und Stresserleben

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Michael Hartmut Schock
aus Gießen

Gießen 2017

Aus dem medizinischen Zentrum für Psychoneuroimmunologie

Klinik für Psychosomatik

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Kruse
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: Prof. Dr. med. Eva Peters

Gutachter: Prof. Dr. med. Thilo Jakob

Tag der Disputation: 07.08.2018

Für meine Eltern

1 EINFÜHRUNG **1**

1.1 DIE ATOPISCHE DERMATITIS – EINE VIELSCHICHTIGE ERKRANKUNG ERFORDERT EINE UMFASSENDE THERAPIE	1
1.1.1 EINFLUSSFAKTOREN AUS VERSCHIEDENEN FORSCHUNGSFELDERN BILDEN DIE THEORIEN ZU ÄTIOLOGIE UND PATHOGENESE DER ATOPISCHEN DERMATITIS	2
1.1.2 DIE HETEROGENEN BELASTUNGEN DER ATOPISCHEN DERMATITIS ERFORDERN EIN EDUKATIVES THERAPIEKONZEPT	5
1.2 DIE STRESSTHEORIEN UND IHRE HISTORISCHE ENTWICKLUNG	6
1.2.1 PSYCHISCHE UND KÖRPERLICHE BELASTUNGEN BEEINFLUSSEN DIE AKTIVITÄT DER ATOPISCHEN DERMATITIS	7
1.2.2 ABLAUF DER STRESSANTWORT VOR DEM IMMUNOLOGISCHEN HINTERGRUND	10
1.2.3 NEUROTROPHINE UND EINE WEITERE STRESSACHSE	12
1.2.4 ACETYLCHOLIN ERLEBT EINE RENAISSANCE IN DER STRESSFORSCHUNG	13
1.3 IMMUNZELLPOPULATIONEN UNTERLIEGEN DEM EINFLUSS DER STRESSANTWORTEN	15
1.3.1 DIE MONOZYTEN UND NATÜRLICHEN KILLERZELLEN SIND UNIVERSELLE AKTEURE IM IMMUNSTATUS	16
1.3.2 T-REGULATORISCHE ZELLEN KONTROLLIEREN DIE ABWEHRMECHANISMEN	18
1.3.3 DIE DENDRITISCHEN ZELLEN VERSTÄRKEN DIE IMMUNANTWORT	19
1.4 MESSUNG DER PSYCHONEUROIMMUNOLOGISCHEN EFFEKTE DES GIEßENER SCHULUNGSPROGRAMMS AUF DEN KRANKHEITSVERLAUF	20
1.5 FRAGESTELLUNG DER VORLIEGENDEN ARBEIT	23

2 METHODIK **24**

2.1 ORGANISATORISCHE VORAUSSETZUNGEN	24
2.2 ETHIK	24
2.3 STUDIENDESIGN	24
2.4 KOLLEKTIV	25
2.5 EINSCHLUSSKRITERIEN	26
2.6 AUSSCHLUSSKRITERIEN	26
2.7 STUDIENVERLAUF	27
2.8 ZIELPARAMETER	28
2.8.1 HAUPTZIELPARAMETER SCORAD	28
2.8.2 FRAGEBÖGEN	28

2.8.3	ELISA-MESSUNGEN (ENZYME-LINKED-IMMUNOASSAY)	31
2.8.4	FACS (FLUORESCENCE-ACTIVATED CELL SORTING)	32
2.9	DATENERHEBUNG UND MESSMETHODEN	37
2.9.1	LABORMATERIAL UND ARBEITSMITTEL	37
2.9.2	PROBENGEWINNUNG	41
2.9.3	ELISA-MESSUNGEN	42
2.9.4	FACS-MESSUNGEN	46
2.10	STATISTIK	49
2.10.1	DATENMANAGEMENT	49
2.10.2	ANALYSEFORM UND STICHPROBENUMFANG	49
2.10.3	DESKRIPTIVE ANALYSE	50
2.10.4	STATISTISCHE AUSWERTUNG	50
3	ERGEBNISSE	52
3.1	BASISDATEN	52
3.2	UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE	53
3.2.1	PRIMÄRER ZIELPARAMETER SCORAD	53
3.2.2	FRAGEBÖGEN	54
3.2.3	CORTISOL, BDNF, SLURP-1 UND IGE	58
3.2.4	IMMUNSTATUS	60
3.2.5	T-REGULATORISCHE LYMPHOZYTEN	62
3.2.6	DENDRITISCHE ZELLEN	64
3.3	UNERWARTETE EREIGNISSE	66
4	DISKUSSION	67
4.1	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	67
4.1.1	DER HAUTZUSTAND VERBESSERT SICH DURCH DIE SCHULUNGSTEILNAHME	67
4.1.2	VERMINDERTE ÄNGSTLICHKEIT DURCH SIGNIFIKANTEN ABFALL DES STAI-X1 SCORES	68
4.1.3	KEINE ÄNDERUNGEN DER STRESS- UND COPINGScores	70
4.1.4	GERINGE ÄNDERUNGEN IN DEN SERUMKONZENTRATIONEN DER STRESSMEDIATOREN	71
4.1.5	DIE FACS-ANALYSEN ZEIGEN VERÄNDERUNGEN IN POPULATIONEN VON MONOZYTEN UND T- GEDÄCHTNISZELLEN	75
4.2	LIMITATIONEN DER ARBEIT	79

4.3	FAZIT	83
4.4	AUSBlick AUf UNBEANTWORTETE UND NEUE FRAGESTELLUNGEN	85
5	ZUSAMMENFASSUNG	87
6	SUMMARY	88
7	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	89
8	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	91
9	TABELLENVERZEICHNIS	92
10	LITERATURVERZEICHNIS	94
11	ANHANG	114
11.1	VERWENDETES FRAGEBOGENSET	114
12	PUBLIKATIONSVERZEICHNIS	125
13	EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG	126
14	DANKSAGUNG	127

1 Einführung

Chronische Erkrankungen stellen große Belastungen für das Leben der Patienten, jedoch auch erhebliche Herausforderungen für das Gesundheitssystem und das behandelnde Personal dar [1]. Um eine tägliche, krankheitsgerechte Therapie mit gleichzeitiger Reduzierung von langfristigen Risiken, sowie von Arztbesuchen und Krankenhausaufenthalten, sicherzustellen, sind in den letzten Jahren vermehrt patientenorientierte Schulungskonzepte für chronische Erkrankungen entwickelt worden [2]. In Gießen wurde ein solches Schulungsprogramm für Patienten mit atopischer Dermatitis (AD), einem Vertreter der chronischen Erkrankungen aus dem Bereich der Dermatologie, geschaffen und in die ambulante Patientenversorgung integriert [3].

In der vorgelegten Arbeit soll die Beziehung zwischen der atopischen Dermatitis und der Schulungsintervention eingeführt, untersucht und diskutiert werden. Hierzu wird zunächst der Hintergrund durch eine Charakterisierung der Erkrankung und eine Beschreibung des Gießener Schulungskonzepts eingeführt. Der Einfluss von psychischen und körperlichen Belastungen auf die Erkrankung wird erläutert und die Begriffe „Stress“ und „Stressachsen“ vor dem Hintergrund des Immunsystems definiert und näher erklärt. Im Anschluss werden für das Krankheitsgeschehen wichtige Immunzellpopulationen vorgestellt und nach einer kurzen Zusammenfassung die Zielsetzung der Arbeit entwickelt.

1.1 Die atopische Dermatitis – eine vielschichtige Erkrankung erfordert eine umfassende Therapie

Die Inzidenz der AD (Synonym: Neurodermitis constitutionalis sicca atopica, endogenes Ekzem, atopisches Ekzem u.a.) nimmt als häufigste chronische, nicht kontagiöse entzündliche Dermatose besonders in den westlich-orientierten Ländern stetig zu. Zurzeit weisen dort im Durchschnitt 20% aller Neugeborenen Symptome einer AD auf, in 3% der Fälle persistiert die Erkrankung in unterschiedlicher Schwere, Morphologie und Lokalisation bis in das Erwachsenenalter [4]. Die AD bildet, mit allergischem Asthma und Rhinitis allergica, den „Formenkreis der Atopien“ (griech.: a-topos - am falschen Ort). Aufgrund fehlender pathognomonischer Marker wird die Diagnose aus einem Symptomenkomplex aus Haupt- und Nebenkriterien gestellt. Ursprünglich wurden diese von Hanifin und Rajka 1980 verfasst [5], zur Verbesserung der Spezifität jedoch von der American Academy of Dermatology überarbeitet [6].

Tabelle 1: Klinische Kriterien zur Diagnosestellung der AD (American Academy of Dermatology)

Hauptkriterien	Nebenkriterien
1. Pruritus (Juckreiz) 2. Lichenifizierung (Hautvergröberung) <ul style="list-style-type: none"> ○ bei Kindern im Gesicht und streckseitig ○ bei Erwachsenen in Gelenkbeugen 3. positive Familienanamnese für: <ul style="list-style-type: none"> ○ atopische Dermatitis ○ allergisches Asthma ○ allergische Rhinokonjunktivitis 	1. Krankheitsbeginn in früher Kindheit 2. Auslösung durch <ul style="list-style-type: none"> ○ Schwitzen ○ Nahrungsmittel ○ Wolle und Fettlöser ○ Stress 3. Typ-1 Sofort-Reaktion beim Hauttest 4. Anatomische Merkmale: <ul style="list-style-type: none"> ○ Weißer Dermographismus ○ Danny Morgan Lidfalte ○ Halsfalten vorne ○ Dunkle Augenhöhlen ○ Cheilitis (Lippenekzem) ○ Mamillenekzem ○ Xerosis (trockene Haut) ○ Ichthyosis (Schuppige Haut) ○ Rezidivierende Konjunktivitis ○ Unspezifische Handdermatitis
4. chronisch-rezidivierender Verlauf	5. Gehäufte bakterielle Hautinfektionen

1.1.1 Einflussfaktoren aus verschiedenen Forschungsfeldern bilden die Theorien zu Ätiologie und Pathogenese der atopischen Dermatitis

Die genaue Ätiologie konnte bisher nicht vollständig geklärt werden aber die Ergebnisse aus klinischen Studien und Labordaten der letzten Jahre deuten auf ein multifaktorielles Geschehen mit Einflüssen aus Genetik und Umwelt hin [7], [8]. Zusammengefasst finden sich genetische, dermatologische und immunologische Einflussfaktoren, auch haben jedoch Allergien und besonders die Psyche maßgebliche Einflüsse auf Auftreten und Erscheinung der AD.

Studien mit genetischer Fragestellung konnten bereits eine familiäre Belastung aufzeigen. Im Falle eines an AD erkrankten Elternteils ist das Risiko für eine Erkrankung der Nachkommen bereits doppelt so hoch, sollten beide Eltern an AD leiden, ist das Risiko bereits dreifach erhöht [8]. Veränderte Genomstrukturen konnten in Genbereichen, verantwortlich für die Aufrechterhaltung eines gesunden Hautmilieus über Filaggrine, für Regulation von Immunglobulin-E-(IgE)-Levels, sowie für die Produktion der Th2-Zytokine Interleukin-(IL)-3, IL-4 und IL-13 festgestellt werden [9]. Zur detaillierten Aufschlüsselung dieser Zytokine und der Th2 Antwort wird auf die Kapitel 1.2.2 und 1.3 verwiesen.

Diese genetischen Veränderungen spielen in der aktuellen Diskussion über die Störung der Barrierefunktion der Haut, dem nächsten Einflussfaktor, eine Rolle. Hauptverantwortlich ist hier Filaggrin (FG), ein essentielles, hautstrukturbildendes Protein, welches überdies noch für die Regulierung der Hautfeuchtigkeit verantwortlich ist. Zwei Hypothesen dazu werden diskutiert und der verringerte Gehalt an kutanem FG steht bei beiden Konstrukten im Mittelpunkt, jedoch ist unklar ob die Veränderungen Folge oder Auslöser der Erkrankung sind [10].

Die „inside-out“-Hypothese besagt, dass systemische Fehlregulationen in der Entzündungskaskade der Haut (kutane Inflammation) zu Schrankenstörungen und dem vermehrten Eindringen von Keimen und Allergenen führt. Diese Theorie wird durch Studien unterstützt, die Mutationen bei AD-Patienten in, für systemische Inflammation verantwortlichen, Genen von IL-4, IL-13, CD14 und verschiedenen Serinproteasen gefunden haben [11]. Die kutane Entzündung führt dann zur Verminderung der FG-Produktion [12].

Der Gegenspieler dieses Konstruktes, die „outside-in“-Hypothese beschreibt, dass es aufgrund eines primären, lokalen Versagens der Hautbarriere und der damit einhergehenden antimikrobiellen Funktion zur zytokinbedingten systemischen Inflammation kommt. Studienergebnisse zu Veränderungen in FG-Genen, unterstützen die Therapie einer gestörten Barriere als primären Erkrankungsgrund [13].

Unabhängig dieses Disputes besteht über die weiteren Schritte der Pathogenese weitgehende Einigkeit. Immunologisch spielt eine Dysbalance zwischen T-Helferzellen, einer Subgruppe der T-Zellen, die zentrale Rolle. In akuten Schüben überwiegt eine Antwort von T-Helferzellen vom Typ 2 (Th2), was mit einer vermehrten Produktion von IL-4, IL-5, IL-10 und IL-13 einhergeht. Das Resultat ist die vermehrte Antikörperbildung von IgE und die daraus entstehende Vermehrung von eosinophilen Granulozyten (Eosinophilie) mit Mastzelldegranulation, verantwortlich für die typischen Juckreizschübe. Im chronischen, subakuten Stadium wiederum überwiegt die Th1-Zellantwort mit erhöhten Interferon- γ (IFN- γ) Konzentrationen, welche über eine Erhöhung der Immunozyten zu einem Weiterschwenen der Erkrankung führt [14]. Die Bereitschaft zu einem erneuten Wechsel zur akuten Th2-Antwort ist so jederzeit gegeben.

Die erhöhten eosinophilen Granulozyten- und Mastzellzahlen, sowie die IgE-Aktivitäten zeigen zudem eine Verbindung zu diversen Allergenen, die mit der AD in Verbindung gebracht werden. Hierzu gehören Nahrungsmittel wie Nüsse, Soja, Weizen, Milch und Hühnereiweiss, sowie aerogene Allergene wie Pollen, Milben und Hausstaub [15].

An dieser Stelle soll IgE etwas genauer beleuchtet werden, da es in der AD Forschung eine wichtige Rolle spielt. Für IgE, einen Antikörper der von diversen Lymphozytenklassen produziert wird und verantwortlich für die Abwehr von Endoparasiten durch Aktivierung von Mastzellen und basophilen Granulozyten ist, konnten in der Vergangenheit Zusammenhänge zwischen Serumkonzentrationen und dem Ausprägungsgrad der AD aufgezeigt werden [16], [17]. Anhand der Konzentrationen kann die AD zudem in die Formen der intrinsischen (<100 IU/ml) und extrinsischen AD (>100 IU/ml) unterteilt werden [18]. Patienten mit extrinsischer Atopie haben hohe IgE-Konzentrationen im Serum, verbunden mit einer Familienanamnese von allergischer Rhinitis und Nahrungsmittelunverträglichkeiten [19]. Atopiker mit intrinsischer Erkrankung zeigen normale IgE-Werte, zudem sind weitere Allergien selten. Im Verhältnis treten die Formen Extrinsisch – Intrinsisch 80 % zu 20 % auf, in der weiblichen Population ist der Anteil der intrinsischen Form jedoch deutlich höher [20]. Mit den Formen gehen unterschiedliche Entzündungsmuster einher, bei der intrinsischen Form korrelieren IFN- α mit der Krankheitsaktivität, in der extrinsischen Form ist es das IgE [21]. Beiden Formen liegt jedoch die erhöhte Th2-Zellantwort zugrunde, außerdem ist der klinische Eindruck derselbe, sodass eine sichere Diagnose nur über eine Messung der IgE-Konzentration möglich ist. Eine klare Aussage, ob dies eine Indikation für die Anwendung unterschiedlicher Therapiekonzepte ist, steht aus [22], [21]. Fest steht, dass beide Formen eine Therapie benötigen, dementsprechend werden die Formen in dieser Studie nicht unterschiedlich analysiert. Zur Aussagekraft bezüglich eines Therapieerfolges gibt es widersprüchliche Aussagen, so konnten positive Korrelationen zwischen Serumkonzentration und Hautzustand aufgezeigt werden [23], jedoch gibt es auch Studien, bei denen erfolgreiche topische Therapien zu keiner Veränderung der IgE-Serumwerte führten [24].

Die letzte wichtige Rolle in der Ätiopathogenese der AD wird der Psyche zugeschrieben. Bereits seit den fünfziger Jahren werden Versuche unternommen, Atopiker in ein Persönlichkeitsprofil einzuordnen. Man ging davon aus, dass bei jeder chronischen Erkrankung eine spezifische Persönlichkeit zu finden war [25], [26]. Diverse Studien haben unterschiedlichste Profile erstellt, die von verstärktem Neurozitisismus, Überempfindlichkeit, Unsicherheit und Charakterrigidität über erhöhte Intelligenz, sozialem Feingefühl bis zu vermindertem Erfolgsstreben und selbstgewählter Isolierung reichen [27], [28]. Die widersprüchlichen Aussagen sind neben den vielfältigen Auswirkungen und heterogenen Symptomen auch unterschiedlichen Messmethoden und Interpretationen geschuldet [29].

Letzten Endes zeigten sich bis dato alle Versuche, ein pathognomonisches Persönlichkeitsprofil von AD-Patienten zu erstellen, frustan, jedoch führen die

Symptome der Erkrankung zu typischen Belastungen des Alltagslebens. Es liegt auf der Hand, dass alleine die optische Erscheinung, die häufig das Gesicht betrifft, aufgrund der sozialen Stigmatisierung ein Gefühl der Unattraktivität hervorruft, was psychisch extrem belastend sein kann. Hinzu kommt der kaum zu unterbindende Juckreiz, der Nachtschlaf und die Konzentrationsfähigkeit deutlich beeinträchtigt, was zu Problemen in Alltag und Beruf führen kann [15]. Aufgrund der rezidivierenden, teilweise nicht vorhersagbaren Symptomatik und der vielen Einflussfaktoren empfinden die Patienten Hilflosigkeit und Frustration [30], [31]. Diese Auswirkungen führen zu sozialer Isolation und psychischen Problemen wie Depressionen [32] bis hin zu erhöhtem Suizidrisiko [33], [34].

1.1.2 Die heterogenen Belastungen der atopischen Dermatitis erfordern ein edukatives Therapiekonzept

Der Einfluss der Erkrankung auf alle Lebensbereiche erfordert ein multimodales Therapiekonzept, welches neben der Behandlung der dermatologischen Symptome auch Einfluss auf den Lebensstil und Tagesablauf des Patienten nimmt. Der Patient soll „Spezialist“ für seine Erkrankung werden und in der Lage sein, seine Therapie selbständig an die aktuellen Erfordernisse anzupassen [35]. Dieses Therapiekonzept wird in der Diabetestherapie bereits seit Jahrzehnten erfolgreich eingesetzt [36], die Erkrankungen und ihre Einflüsse auf das Alltagsleben sind durchaus vergleichbar [37].

Die Wirksamkeit von Schulungsprogrammen bei chronischen Hauterkrankungen ist ein interessantes Thema, das in den letzten Jahren eine Vielzahl von Studien motiviert hat. Auch auf dem Gebiet der AD hat es zuletzt diverse Veröffentlichungen, zunächst im pädiatrischen Umfeld [38], [39] und [40], nun aber auch vermehrt bei adulten Patientengruppen [41], [42] gegeben. In diesem Jahr konnten die Ergebnisse einer großen, multizentrischen Studie veröffentlicht werden [43]. Auch hier wurde der langfristige Erfolg der Schulungsmaßnahmen untersucht, im Ergebnis zeigte sich ein langfristig gebesserter Hautzustand nach einem Jahr. Auch die Krankheitslast sank, sodass sich die Lebensqualität verbesserte.

Um das Ziel der Stärkung von Eigenständigkeit und Krankheitsbewusstsein der Teilnehmer zu erreichen, werden im Gießener Schulungsmodell medizinische Grundkenntnisse, Hautpflege, Ernährungsberatung und psychologische Aspekte vom den Fachleuten aus den entsprechenden Bereichen Dermatologie/Pädiatrie, Psychologie und Pädagogik sowie Ökotrophologie, vermittelt. Ein Großteil aller eine Schulung leitenden Kräfte hat die Zusatzausbildung „Neurodermitstrainer“ absolviert, die eine krankheitsspezifische Ausbildung mit regelmäßiger Supervision beinhaltet. Die Patienten sollen dazu befähigt werden, anhand umfassendem praktischem Wissen von

Pathophysiologie und Therapieoptionen selbständig einen Stufenplan der Lokalthherapie anzuwenden, der von Basispflege bis zu immunomodulatorischen, topischen Anwendungen reicht. Überdies werden Techniken zur Kratzkontrolle, sowie Informationen über Ernährungsumstellung, Sonnenschutz und alternative Medizin vermittelt.

In den letzten Jahrzehnten konnte in zahlreichen Studien nachgewiesen werden, dass die Krankheitsaktivität stark mit persönlichem Stresserleben zusammenhängt. Diese Aussage deckt sich auch mit Patientenerfahrungen. Somit gehören zum Therapiekonzept neben dermatologischen Therapieplänen und Ernährungsberatung auch ein Stressbewältigungstraining sowie Entspannungstechniken [44], [45]. Der Nutzen dieser Maßnahmen konnte bereits nachgewiesen werden [46], [47].

Die folgenden Abschnitte widmen sich nun dem Phänomen des Stresses, um mehr Licht in die besondere Beziehung zwischen der atopischen Dermatitis und dem Stresserleben, sowie in die Stressreaktionen des Körpers im Allgemeinen zu bringen.

1.2 Die Stresstheorien und ihre historische Entwicklung

Der Begriff „Stress“ ist im heutigen allgemeinen Sprachgebrauch hauptsächlich negativ besetzt obwohl seiner ursprünglichen Definition und Verwendung in diversen Bereichen Unrecht getan wird. Aus dem Englischen stammend, wurde mit „stress“ in der Physik Zugbeanspruchung auf ein unbelebtes Material beschrieben [48]. Im letzten Jahrhundert prägten Biologen und Mediziner den Begriff im Humanbereich jedoch zur Charakterisierung von äußeren Einflüssen auf Körper und Psyche ungeachtet positiver oder negativer Bewertungen.

Heute wird Stress als eine Reaktion verschiedener Systeme (Stressreaktion) auf Stimuli (Stressoren) unterschiedlicher Qualität, seien diese psychisch oder physisch, mit dem Ziel der Wiederherstellung des Gleichgewichtes (Homöostase), definiert. Der Begriff Homöostase war in den fünfziger Jahren des letzten Jahrhunderts von Walter Cannon definiert worden und beschreibt kybernetische Regelkreise aus Ist- und Sollwerten, die innerhalb der physiologischen Grenzen Parameter wie Blutdruck, -zucker oder Herz- und Atemfrequenz den aktuellen Anforderungen anpassen [49]. Vor dem Hintergrund der „Kampf- oder Flucht“-Reaktion (Engl. „Fight or flight“) erkannte er, dass unter Adrenalineinfluss Steigerungen von Herz- und Atemfrequenz mit einem erhöhten Muskeltonus einhergingen. Dies kann als erster Beweis für eine Existenz der Sympathikus-Nebennierenmark Achse (SA) gesehen werden. Hans Selye beschrieb 1953 die Theorie des Allgemeinen Adaptations Syndrom (AAS), die besagt, dass der Körper mit einer Abfolge spezieller Reaktion auf äußere Anforderungen reagiert. Selye

entwickelte CANNONS Theorien weiter und postulierte vor dem Hintergrund des AAS, dass sich diese akute Stressreaktion in chronischem Zustand unter Wirkung des Cortisols erschöpft und negative Effekte in den Vordergrund treten [50]. Nach der Entdeckung der SA-Achse mit ihren Produkten Adrenalin/Noradrenalin durch Cannon beschrieb Selye also die erstmalig die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPT) mit Cortisol als Endprodukt. Die Aktivierung dieser Achsen spielt eine zentrale Rolle in der Aufrechterhaltung als auch in der Exazerbation der AD und wird im späteren Kapitel 1.2.2 im Detail besprochen.

Cannon und Selye konzentrierten sich in ihren Forschungen lediglich auf körperliche Reaktionen, die Bedeutung von Stresseinflüssen auf kognitiver Ebene wurde erstmals von Lazarus und Folkman untersucht. Sie maßen der subjektiven Bewertung eines Stressors und der Wahl dessen möglicher Bewältigungsformen eine zentrale Rolle bei. So prägten sie den heute vielfach verwendeten Begriff Coping als ständig wechselnde kognitive Bewertungen um unterschiedliche interne oder externe Anforderungen in Anbetracht der eigenen Ressourcen verarbeiten zu können. Kaluza hat 2004 die Theorien von Lazarus und Folkman mit denen von Cannon und Selye zusammengefasst und unterteilt Stressoren in soziale und Leistungsstressoren, jedoch auch physikalische und körperliche Stressoren. Chronische Erkrankungen wie die AD spielen hier eine Doppelrolle, da sie sozial und körperlich wirken. Kaluza unterteilt auch die Antworten in kognitive, behaviorale und körperliche Stressreaktionen. Somit bestehen Kaluza zufolge auch drei Ansatzmöglichkeiten zur Stressbewältigung: Stressoren können gemieden, die subjektive Bewertung verändert oder die Stressreaktion vermindert werden [51].

1.2.1 Psychische und körperliche Belastungen beeinflussen die Aktivität der atopischen Dermatitis

AD-Patienten berichten seit jeher, dass die Krankheitsaktivität stark mit emotionalem, aber auch körperlichem Stresserleben einhergeht. Franz Alexander, einer der Urväter der Psychosomatik, beschrieb bereits 1950 die AD als eine der klassischen psychosomatischen Krankheiten und prägte vor diesem Hintergrund den Begriff der somatischen Labilität, also die Fähigkeit der Krankheit, auf Stress zu reagieren bzw. sich durch Stress zu verändern [52]. In den folgenden Jahrzehnten wurden unzählige Studien mit dem gemeinsamen Ziel publiziert, die allgemein anerkannte somatische Labilität wissenschaftlich zu bestätigen. Whittkower und Edgell berichteten bereits 1951 von einer Korrelation zwischen Stress und AD-Exazerbationen bei 77 von 90 Patienten [53]. Beare versuchte 1977, Zusammenhänge zwischen Inzidenz von Hauterkrankungen und traumatischen Ereignissen im Rahmen sozialer Unruhen und

Terroranschlägen in Irland aufzuzeigen [54]. Das Kobe-Erdbeben von 1991 war Anlass für eine großangelegte Studie, in der gezeigt werden konnte, dass erlebter Stress die Aktivität der AD maßgeblich beeinflusst. AD-Patienten aus der Erdbebenregion wurden hinsichtlich des Hautzustandes befragt und mit Patienten aus weniger und nicht betroffenen Gebieten verglichen. Es zeigten sich signifikante Verschlechterungen des Hautbildes, jedoch berichteten nicht alle Studienteilnehmer über Verschlechterungen des Hautzustandes, in einigen Fällen verringerte sich die Entzündungsaktivität in den Tagen nach der Katastrophe sogar. Stress als prinzipiell negativen Einfluss auf die Erkrankung zu bewerten, gestaltete sich dementsprechend schwierig [55].

Diesen Studien lag ein retrospektives Design mit Interviews, Fragebögen oder anekdotischer Evidenz zugrunde. Daraus ergaben sich einige Nachteile: Häufig war die Stichprobengröße zu gering, bei anekdotischer Evidenz waren es meistens einzelne Berichte. Aufgrund der individuellen Unterschiede im Stressempfinden jedes Patienten lassen sich kaum generalisierte Aussagen treffen. Auch neigen Patienten im Nachhinein dazu, als Erklärung für die Verschlechterung ihres Hautzustandes im Rahmen der Suggestion Stress als am nächstliegende Erklärungsmöglichkeit zu ergreifen und so dem erlebten Stress einen zu großen Einfluss zuzuschreiben. So ließe sich die erhobenen Beobachtungen nach dem Kobe-Erdbeben auch durch zerstörte Infrastrukturen, wie Wasserleitungen und Einkaufsmöglichkeiten, erklären, sodass die Exazerbationen fehlender Hautpflege zugeschrieben werden könnten. So könnten auch die psychischen Belastungen während der Terroranschläge in Irland die subjektive Einschätzung des Hautzustandes stark beeinflusst haben. Generell verhindert das häufige Fehlen von Kontrollgruppen und unabhängiger Beobachter eine objektive Bewertung der Stresseinflüsse [56].

King und Wilson wählten 1991 ein prospektives Studiendesign, um Störungen durch rückblickende Wiedergaben zu minimieren, und statteten 50 AD-Patienten mit Tagebüchern aus, in denen sie täglich interpersonellen Stress dokumentieren sollten. Es konnte eine Korrelation zwischen erlebtem Stress und vermehrter Krankheitsaktivität am Folgetag aufgezeigt werden [57]. Trotz allem fehlte auch hier ein objektiver Vergleich, entweder durch eine Kontrollgruppe oder einen unabhängigen Beobachter.

Trotz ihren Schwächen wiesen die Studien jedoch alle in eine Richtung; die AD-Aktivität hängt mit subjektiv erlebtem Stress zusammen. In aktuellen Studien konnten durch Verbesserung der Methoden und Analysen weniger kompromittierbare Ergebnisse produziert werden. Longitudinale Kohortenstudien, wie z.B. von Rod et. al. 2012 boten über einen zehnjährigen Studienzeitraum eine klare Korrelation der

empfundenen Stressdosis mit dem Ausprägungsgrad der AD, sowie mit allergischem Asthma und Rhinitis [58]. Eine große Metaanalyse aus 16 Studien zeigte im letzten Jahr, dass bereits pränataler, durch die Mutter erlebter Stress das Risiko für eine spätere Entwicklung einer AD beim Kind erhöht [59]. Auch nach der Geburt erhöhen soziale Stressoren wie z.B. geschiedene Eltern das AD-Risiko deutlich, was in einer Längsschnittstudie gezeigt werden konnte [60].

Obwohl, wie in Kapitel 1.1.1 bereits erwähnt, Versuche zur Erstellung eines eindeutigen AD-Persönlichkeitsprofils scheiterten, konnten einzelne Eigenschaften bei erkrankten Patienten im experimentellen Setting herausgestellt werden. Wiederholt belegt werden konnte, dass AD-Patienten grundsätzlich erhöhte geistige und körperliche Anspannung in Alltagssituationen im Vergleich zu Hautgesunden empfinden und dies besonders in belastenden Situationen zum Ausdruck kommt [61]. Dies konnte experimentell mittels eines standardisierten Stress-Tests, bei denen Probanden sich unter Beobachtung in einer komplexen Prüfungssituation wiederfanden [62], bewiesen werden [63]. Gleichzeitig konnte ein vermindertes Selbstwirksamkeitsgefühl und schlechtere Fähigkeiten zur Erholung und Verarbeitung von Stress gezeigt werden. In einem weiteren Experiment, in dem die Lösung von Konfliktsituationen in Partnerschaften von Hautgesunden und Atopikern verglichen wurden, reagierten die Atopiker inadäquater was zu der resultierenden Vermutung führte, dass Atopiker Schwierigkeiten in der Stressverarbeitung haben [64]. Die Störungen der Stressverarbeitung (Engl. Coping) sind bei Atopikern vor allem in Bezug auf den Umgang mit dem Juckreiz untersucht worden, da dieser als allzeit gegenwärtiger Stressfaktor Priorität hat [4]. So konnte gezeigt werden, dass eine Reihe verschiedener Techniken zur Verminderung des Juckreizes und Vermeidung des Kratzens unterschiedlichen Erfolg haben [42], [46] und [65]. Zum Einsatz kamen kognitiv-behaviourale Techniken sowie Entspannungstechniken um den Fokus vom Juckreiz abzulenken und den Drang zum Kratzen zu unterbinden. Der positive Einfluss der Reduktion des Kratzens auf den Stress spielt in der Bewältigung der Krankheit die Hauptrolle [66], bisher wurde jedoch kaum untersucht, ob, unabhängig vom Juckreiz, veränderte kognitive Prozesse in Konfliktsituationen Einfluss auf den Krankheitsverlauf haben. Hinweise auf veränderte Denkmuster finden sich bei Atopikern durch eine verstärkte Somatisierungsneigung. Dieses Konzept besagt, dass zwischen körperlichen und kognitiven Sensationen Erklärungsmöglichkeiten gesucht werden, die jedoch nicht immer den Gegebenheiten entsprechen. So werden zum Beispiel äußere Einflüsse wie Allergene für empfundenen Druck am Arbeitsplatz verantwortlich gemacht, psychische Konflikte werden also in eher akzeptierte, körperliche Symptome konvertiert [67]. Dies kann dauerhaft zu pathologischen Denkprozessen über

Alpträumen bis hin zu unkontrollierbaren somatischen Sensationen mit dissoziativen Reaktionen führen [68]. Ganz praktisch führt dies zu Verminderung der Schwelle des Juckreizes und somit in einen Teufelskreis.

Zusammenfassend lässt sich aus diesen Studienergebnissen schließen, dass Stress und dessen Verarbeitung eine zentrale Rolle in der Entstehung und Aufrechterhaltung der AD spielen. Um einen Bogen aus dem klinischen Erscheinungsbild zu somatischen Vorgängen zu spannen, soll in den nächsten Abschnitten der genaue Ablauf von Stressreaktionen über die Stressachsen besprochen und die Besonderheiten in Bezug auf die AD aufgezeigt werden.

1.2.2 Ablauf der Stressantwort vor dem immunologischen Hintergrund

Im Falle des Auftretens eines plötzlichen Stressors reagiert die SA-Achse innerhalb von kürzester Zeit: In den ersten Sekunden führt die Sekretion von Adrenalin und Noradrenalin aus Nebennierenmark und sympathischen Nervenfasern zu Cannons „Kampf oder Fluchtreaktion“, die auch im Immunsystem durch Ausschüttung von Zytokinen, wie Tumor Nekrose Faktor α (TNF- α) sowie IL-1, nachzuweisen ist [69]. Über Aktivierung von Adrenorezeptoren wird die Aktivität und Migration der zellulären Abwehr (neutrophile Granulozyten und natürliche Killerzellen (NK)) gesteigert um möglichen Verletzungen frühzeitig entgegenzuwirken [70].

Nach einigen Minuten führt der bestehende Stressreiz über die HPT-Achse zur Sekretion von Cortisol aus der Nebennierenrinde, die sich dämpfend auf die Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- α auswirkt, mit dem Ziel, die Antwort auf den Stressreiz zu begrenzen. Die dauerhafte Aktivierung der SA-Achse hätte nämlich weitreichende Gewebeschäden. Gleichzeitig mobilisiert die HPT-Achse längerfristig Energie über Gluconeogenese und Lipolyse, steigert den Blutdruck und senkt das Schmerzempfinden. Auf kognitiver Ebene werden parallel Prozesse zum Speichern der Stresssituation und Abgleichen mit älteren Situationen angestoßen [71].

Die Wirkdauer des Stresses hat weitreichende Folgen, so hat akuter Stress aufgrund der kurzfristigen Aktivierung des Immunsystems protektive Wirkungen besonders durch Bekämpfung von Verletzungen und Infektionen. Physiologisch wäre diese Aufrechterhaltung dieser Form der Stressreaktionen über längere Zeiträume jedoch energieraubend und die bereits angesprochene zelluläre Aktivierung würde zu großen Kollateralschäden führen. Nachdem der Körper den längerfristig bestehenden Stressor erkannt hat, kann die Reaktion auf diesen angepasst werden. So wird die Inflammationsreaktion durch einen Zytokinwechsel auf Tumor growth factor beta (TGF- β) sowie IL-10 unterdrückt und gleichzeitig die Lymphozytenaktivierung mit

Antikörperproduktion gefördert um den Stressor gezielt und ressourcenschonend bekämpfen zu können [72]. Bleibt diese Stressantwort bei andauerndem Stress, wie z.B. am Arbeitsplatz oder durch eine chronische Erkrankung, langfristig bestehen, bleibt die Basissekretion von Cortisol erhöht, wodurch die HPT-Achse an Responsivität verliert. Im Falle des Auftretens eines erneuten, akuten Stressors sind die Reserven zur Sekretion schneller ausgeschöpft. Obwohl die hohen Cortisollevels durch Zytokinsekretion von IL-4, IL-10 oder IL-13 zunächst antiinflammatorisch wirken, steigern diese gleichzeitig das Risiko für Allergien und autoimmune Prozesse, denn im Rahmen der ressourcenschonenden Abwehr durch z.B. Antikörperproduktion kann es zur fehlerhaften Ausrichtung auf körpereigene Strukturen kommen [73].

Die vielfältigen, teils widersprüchlichen Effekte des Stresshormons Cortisol konnten im letzten Jahrzehnt zunehmend aufgeklärt werden, wenn auch nicht vollständig. Die Funktion von Cortisol als Biomarker zur Quantifizierung von körperlichen Effekten von Stressoren aller Art kann jedoch akzeptiert werden [74], der Zusammenhang zwischen Stress und endogenen Cortisollevels ist in der Vergangenheit vielfach Ziel von Studien gewesen [75], [76]. Zuletzt konnte zudem nachgewiesen werden, dass die Konzentration auch bei chronisch Erkrankten nach Stress-reduzierenden Therapien häufig abfällt [77], jedoch nicht immer signifikant [78]. Zu beachten ist, dass Cortisol im Serum bis zu 95% an Eiweiße gebunden ist und abhängig davon die messbare Konzentration schwanken kann. Zudem kann bereits der Stress einer bevorstehenden Blutentnahme die Konzentration kurzfristig erhöhen und damit langfristige Aussagen verfälschen [79]. Da die Serumwerte des Cortisols einer circadianen Rhythmik unterworfen sind, ist eine genaue Einhaltung der Abnahmezeiten erforderlich [75].

Das Phänomen der abgestumpften HPT-Antwort mit erhöhter Basissekretion von Cortisol ist in der AD besonders ausgeprägt und konnte mehrfach in experimentellen Tests mit akuter Stressexposition nachgewiesen werden [80]. Gleichwohl fand sich eine Hyperreagibilität der SA-Achse, mit deutlich erhöhter Adrenalinausschüttung und Effekten wie erhöhter Herzfrequenz unter Stresseinfluss [81], [82]. Das Zusammenspiel von erhöhten Cortisolkonzentrationen bei deutlich verstärkter Adrenalinsekretion bedingt über eine von beiden Hormonen ausgelöste, parallele Inhibition von IL-12 eine verringerte Produktion von den Th1 Zytokinen TNF- α und IFN- γ , was zur AD-typischen Dominanz der bereits genannten Th2 Zytokine IL-4, IL-10 und IL-13 führt [83].

Der Körper ist somit nicht mehr in der Lage, auf Stressreize (z.B. Infektionen und maligne Geschehen) mit präzisen Antworten zu reagieren, was neben einer erhöhten Infektanfälligkeit auch die bereits erwähnten Risiken für Entwicklungen von diversen Autoimmun- oder Tumorerkrankungen weiter erhöht.

1.2.3 Neurotrophine und eine weitere Stressachse

In den letzten Jahren mehren sich die Hinweise auf das mögliche Vorhandensein einer parallel agierenden, dritten Stressachse über die Erforschung der Neurotrophine. Diese gehören, zusammen mit den Neuropeptiden zu einer Gruppe von Stoffen, die zunächst im Gehirn, später jedoch auch in der Peripherie gefunden wurden. Neuropeptide, wie z.B. Substanz P (SP) haben modulierende Einflüsse auf zentrale und periphere Nervenzellen, jedoch über Rezeptoren auch auf Immunzellen und werden durch Stressempfindung vermehrt sezerniert [84]. Ähnliche Funktionen konnten auch den Neurotrophinen, wie nerve growth factor (NGF) und brain derived neurotrophic factor (BDNF) nachgewiesen werden. Sie wirken als Wachstumsfaktoren für zentrale und periphere Nervenzellen und dienen der Entwicklung und Differenzierung, jedoch auch der Ernährung der Neurone. Gleichsam finden sich diese Stoffe jedoch unabhängig von Nervenzellen in peripheren Geweben und auch im Blut, wo sie über hochaffine Rezeptoren wie den Tyrosin-Kinasen A und B (TrkA und B) Einfluss auf diverse Immunzellpopulationen nehmen können [85], [86].

Die vermehrte Sekretion unter verschiedenen Stresseinflüssen konnte bereits nachgewiesen werden und findet parallel zur Aktivierung der SA und HPT-Achsen statt, sodass bereits vereinzelt von einer neurogenen Achse (NNA) gesprochen wird [87], [88]. Die NNA wird also parallel zu den beiden anderen Achsen aktiviert und agiert auf lokaler Ebene durch Ausschüttung von BDNF und SP aus peripheren Nervenendigungen. Es zeigte sich, dass die Konzentrationen dieser Stoffe lokal, aber auch systemisch in Serum und Plasma positiv mit der AD-Aktivität korrelieren [89], [90]. BDNF und SP sind mitunter für die typischen lokalen Auswirkungen der AD, wie Juckreiz, Vergrößerung der Hautstruktur und vermehrtem Feuchtigkeitsverlust verantwortlich [88]. Im Detail geschieht dies unter anderem durch eine Erhöhung der Sensibilität aufgrund einer Vermehrung der peptidergen Nervenfasern und somit der neuroimmunen Innervation [91]. So bilden sich vermehrt Kontakte zwischen SP-Nervenfasern und in der Haut ansässigen Mastzellen aus [92], was zu einer erhöhten Histamin- oder TNF- α Sekretion führen kann [93]. Gleichzeitig ist SP in der Lage, Endothelzellen zu aktivieren, was die Migration von T-Zellen ins Gewebe ermöglicht [94].

Erhöhte Konzentrationen von BDNF konnten in Biopsien von läSIONALER Haut sowie im Serum nachgewiesen werden [95] und korrelieren mit dem Ausprägungsgrad der AD [96]. Als periphere Hauptproduzenten von BDNF konnten eosinophile Granulozyten nachgewiesen werden, denen wie bereits erwähnt, eine treibende Kraft in der Aufrechterhaltung der AD zugesprochen wird. Darüber hinaus bewirkte die Stimulation

dieser Zellreihe mit BDNF eine Verlängerung des Überlebens durch Inhibition der Apoptose (programmierter Zelltod) sowie eine deutliche Steigerung des Migrationsverhaltens [95]. Zudem kann das Protein nach neueren Studien aus den Gebieten von Schizophrenie- und Depressionsforschung als Indikator für die Flexibilität und Anpassung von kognitiven Lernprozessen fungieren [97], [98]. Hier konnte nachgewiesen werden, dass die neuronalen Konzentrationen von BDNF mit der Lernfähigkeit einhergehen [99], [100].

Interessanterweise können sich diese Neurotrophine und -peptide durch Aktivierung von T-regulatorischen Lymphozyten auch dämpfend auf die Entzündungsvorgänge auswirken. Dieses Phänomen findet sich jedoch nur bei intermittierendem, akutem Stress sofern zwischen den Stressphasen genug Raum für Erholung bleibt [101].

So zeigt sich, dass die systemische Stressreaktion der SA- und HPT- Achsen auf lokaler Ebene durch Neuropeptide und -trophine fortgeführt und moduliert wird. Diese drei Stressachsen reagieren nicht nur auf biochemische Stressoren sondern auch auf psychosoziale Stresseinflüsse in derselben Form: Das Gleichgewicht zwischen angeborener und adaptiver Immunität verändert sich durch Änderungen von Zytokinkonzentrationen und somit den Aktivierungsgrad von pro- oder antiinflammatorischen Effektorzellen [102].

1.2.4 Acetylcholin erlebt eine Renaissance in der Stressforschung

Weiterhin werden lokale, durch Acetylcholin (ACh) und seine Derivate gesteuerte Mechanismen erforscht und als weitere Mitverursacher der AD diskutiert: ACh, weithin bekannt als Transmitterstoff in neuronalen Endplatten, ist ein entwicklungsgeschichtlich viel älterer Stoff als in der aktuellen Lehrmeinung häufig dargestellt. In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, dass ACh non-neuronalen Ursprungs vor allem in Kontaktflächen des Körpers zur Außenwelt eine wichtige Rolle bei der Anpassung an veränderte Umweltbedingungen spielt, also dort als zentraler Stressmediator wirkt. Die ACh-Rezeptoren (AChR) werden in muscarinerge (mAChR) und nicotinerge (nAChR) Rezeptoren unterteilt, wobei der nAChR bei der AD die wichtigere Rolle spielt [103]. Für diese Rezeptoren existieren Modulatoren, die eine differenzierte Antwort ermöglichen, im Wesentlichen die secreted mammalian Ly-6/urokinase-type plasminogen-activator receptor related proteine (SLURP-1 und -2). Diese Peptide mit wichtigen Funktionen bei der Kontrolle von kutaner Proliferation, Inflammation und Wundheilung [104], [105], wurden bei der Untersuchung der Erkrankung Mal-de-Meleda entdeckt, einem seltenen Gendefekt, der AD-ähnliche Läsionen an Händen und Füßen produziert [106].

Wichtige Erkenntnisse aktueller Studien belegen, dass ACh nicht nur von neuronalen Zellen, sondern von nahezu allen Zellen produziert werden kann [107]. Darüber hinaus finden sich die nAChR sowie die SLURP Familie auf diversen Immunzellpopulationen [108], sodass hier von einer neuronal-unabhängigen Kommunikationsstruktur via ACh gesprochen werden kann. Dieses System wird als das non-neuronale cholinerge System (NNCS) bezeichnet [109].

Die Anwesenheit und Funktion der nAChR- und SLURP-Familien wurde im Rahmen der AD-Forschung bereits untersucht. Peters et. al. konnten 2014 durch Biopsien zeigen, dass die Konzentrationen in läsionaler AD-Haut vermindert sind [109]. Diese Beobachtung unterstützt die allgemeine These, dass diese Mediatoren antiinflammatorische Wirkungen haben. So wurden in allergisch-entzündeten Lungen erniedrigte Konzentrationen von ACh [110] gefunden und die Aktivierung der nikotinischen AChRs über Nikotin zeigten dort antiinflammatorische Wirkungen [111]. Die Rezeptoren regulieren sich zum Teil untereinander und induzieren die Proliferation von T-regulatorischen Zellen, gleichzeitig sind sie in der Lage, die Sekretion von TNF- α aus Mastzellen zu inhibieren [112]. Eine beginnende Sepsis in Mäusen konnte durch Stimulation der nAChR auf Makrophagen durch die Blockade der Sekretion von TNF- α aufgehoben werden [113]. Ob die Modulation des Rezeptors durch SLURP-1 in beide Richtungen, also sowohl pro- als auch antiinflammatorisch, erfolgen kann, ist noch nicht sicher beantwortet. Die Ergebnisse von Peters et. al. [109] zeigen einen Anstieg in läsionaler AD-Haut durch akute Stressexposition, während die Konzentration in der Haut von gesunden Probanden abfiel. Während, wie bereits erwähnt, gesunde Probanden auf akuten Stress allgemein mit der Th1 Antwort mit Sekretion von TNF- α reagieren, zeigen AD-Patienten die typische Th2 Reaktion mit ihren antiinflammatorischen, aber proallergenischen Zytokinen IL-4 und IL-5 [72]. Da ja SLURP-1 und dem NNCS antiinflammatorische Wirkungen zugesprochen werden, arbeiten diese Wege hier synergistisch. SLURP-1 hemmt die Sekretion von TNF- α , hätte in der Th1 Antwort der Hautgesunden also kontraproduktive Effekte [109]. Hieraus lässt sich schließen, dass eine Dysbalance zwischen pro- und antiinflammatorischen Wirkungen in der Pathogenese der AD eine maßgebliche Rolle spielt, die jedoch noch nicht abschließend erforscht ist [101].

1.3 Immunzellpopulationen unterliegen dem Einfluss der Stressantworten

In den vorausgegangenen Kapiteln wurden die Abläufe von der Stressreaktionen und ihre Effekte auf systemischer und lokaler Ebene im Detail besprochen, rudimentär wurden hingegen die Arbeitstiere, die immunkompetenten sowie die strukturbildenden Zellen behandelt. Eine vollständige Abhandlung aller, im Immunsystem eine wichtige Rolle spielender, Zellen würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen, sodass im Folgenden ein Überblick über die, in der Pathogenese der AD wichtigen Zellpopulationen geboten wird. Darauffolgend wird auf drei Subpopulationen genauer eingegangen, da diese eine tragende Rolle spielen und Studienziel sind.

Um einen Überblick zu gewinnen bietet sich an, das Immunsystem in angeboren und erworben (adaptiert) zu unterteilen. Die Hauptakteure des angeborenen Immunsystems sind Monozyten/Makrophagen, dendritische Zellen, Langerhanszellen, natürliche Killerzellen und die Granulozytenpopulationen (neutrophil, basophil, eosinophil). Grundsätzlich erfolgt deren Abwehrreaktion auf Reize unspezifisch, jedoch zeitnah. Außerdem spielen sie in der Ausbildung des erworbenen Immunsystems eine zentrale Rolle, da sie dessen T- und B-Zellen über Antigenpräsentation stimulieren [114]. Wichtig in Bezug auf die Rolle dieser Populationen im Bezug zu Hauterkrankung zu erwähnen ist, dass lediglich einige Populationen wie Langerhanszellen und Keratinozyten in der Haut ständig ansässig sind und dementsprechend Wächterfunktionen haben [115]. Die übrigen Populationen werden im Falle einer Entzündung in großem Maße aus dem im Blut zirkulierenden Pool rekrutiert, die Migration von Zellen in entzündete Gebiete spielt in der Pathogenese also eine zentrale Rolle [116].

Das erworbene Immunsystem kann nach Auseinandersetzung mit dem präsentierten Fremdmaterial durch die Antikörperproduktion durch B-Zellen und deren Nachfolger sowie durch gezielte Bekämpfung durch T-Lymphozyten spezifische Immunantworten einleiten. Die T-Lymphozyten lassen sich anhand der Oberflächenmerkmale (Cluster of Differentiation; CD) in CD4 positive (CD4+) T-Helferzellen und CD8+ zytotoxische T-Zellen unterteilen. Während die zytotoxischen T-Lymphozyten direkt an der Bekämpfung von Antigenen und antigenträgenden Zellen beteiligt sind, haben die T-Helferzellen vielfältige Aufgaben: Sie unterstützen andere T-Lymphozyten, sowie B-Lymphozyten bei der Differenzierung und koordinieren die Zellen des unspezifisches Immunsystems und deren Einwanderung (Migration) in Zielgewebe [117].

T-Helferzellen lassen sich in die Subgruppen Th1 und Th2 unterteilen. Th1 Zellen wirken proinflammatorisch und antiviral, indem sie TNF- α und IL-1 β sezernieren, sowie

zytotoxische T-Lymphozyten und Monozyten aktivieren. Th2-Zellen sezernieren, wie in Kapitel 1.1.1 teilweise erwähnt, TGF- β , IL-4, IL-5, und IL-13, Zytokine über die basophile und eosinophile Granulozyten sowie B-Zellen aktiviert werden was einer antiparasitären Antwort entspricht [118]. Die beiden Th-Antworten unterdrücken sich gegenseitig, das Überwiegen einer Subgruppe ist pathognomonisch für einige Immunerkrankungen. In der Psoriasis spielt eine dominierende Th1 Aktivität die Hauptrolle [119], die antiparasitäre Th2 Antwort hingegen begünstigt die Allergieentwicklung, sowie die akuten Schübe der AD [120]. Auch der in Kapitel 1.2.2 beschriebene, chronische Stress löst eben diese Verschiebung zu einer dominierenden Th2 Antwort aus [121].

Eine Zwischenposition in der Haut nehmen Endothelzellen und Keratinozyten ein, da sie über Fähigkeiten zur Sekretion der Neurotrophine BDNF und NGF, der Neuropeptids SP sowie über Cortisol verfügen und somit eine tragende Rolle in der lokalen Regulation von Entzündungen und Wundheilung spielen [122]. Durch ihre exponierte Lokalisation sind Keratinozyten in der Haut die ersten Zellen, die mit Antigenen und Keimen in Kontakt kommen. Neben den bereits genannten Stoffen können Keratinozyten TNF- α und TGF- β sezernieren und somit bereits Th-Antworten bahnen [123]. Zudem werden T-Zellen, B-Zellen sowie unspezifische Abwehrzellen angelockt und somit die erste Stufe einer Abwehr eingeleitet. ACh-Rezeptoren zusammen mit SLURP-Liganden wurden auf Keratinozyten sowie Mastzellen und anderen Immunzellen gefunden. Deren Aktivierung über ACh löst den AD-typischen Juckreiz aus [124].

In den folgenden Kapiteln werden nun drei Immunzellpopulationen hinsichtlich ihrer Funktion und ihres Stellenwertes in der AD genauer betrachtet.

1.3.1 Die Monozyten und natürlichen Killerzellen sind universelle Akteure im Immunstatus

Die Monozyten spielen im Immunsystem als Bindeglied zwischen angeborener und erworbener Abwehr eine universelle Rolle. Zum einen können sie sich wie im vorigen Kapitel beschrieben, in eine Reihe von Effektorzellen transformieren, zum anderen spielen sie eine tragende Rolle in der Aufnahme und Verarbeitung von Antigenen sowie in der Bekämpfung von körperfremden oder erkrankten körpereigenen Zellen [114]. In neueren Studien konnten drei Subklassen von Monozyten anhand ihrer Ausbildung von CD14 und CD16 Molekülen an der Zelloberfläche unterschieden werden. Neben den klassischen Monozyten, existiert ein Zwischenstadium der intermediären Monozyten, sowie die nicht-klassischen Monozyten [125]. Es wird vermutet, dass diesen Subklassen unterschiedliche Aufgaben zugesprochen werden

können, da die Zellen ein unterschiedliches Verhalten bezüglich Antigenpräsentation und Migrationsverhalten durch die Gewebe zeigen. Eine aktuelle Studie konnte im Mäusemodell zeigen, dass deutlich erhöhte Monozytenzahlen im Gehirn nach Stressexposition zu finden waren. Diese waren zuvor vermehrt aus der Milz dorthin gewandert [126]. Besonders interessant ist hier die mittlere Klasse der intermediären Monozyten, die aktuell aufgrund ihrer Tendenz, vermehrt in entzündete Bereiche zu wandern als Indikator für z.B. die AD-Aktivität diskutiert wird. Weiterhin können sie eine zentrale Rolle in der Aktivierung von T-Lymphozyten spielen [127] und unter inflammatorischen Bedingungen große Mengen IL-10 sezernieren [128]. In der letzten Dekade war die Population von intermediären Monozyten Ziel einer ganzen Reihe von Untersuchungen aus diversen Fachrichtungen. So konnte zuletzt gezeigt werden, dass die zirkulierenden Zahlen mit dem Risiko einer koronaren Plaquebildung [129], mit dem Entzündungszustand der rheumatoiden Arthritis [130] und empfundenen Schmerzen sowie Stress bei Fibromyalgiepatienten [131] korrelieren. Immer wieder sind erhöhte Konzentrationen jener Monozytenklasse mit Krankheiten, die auf fehlgeleiteten Immunmechanismen wie Sarkoidose [132] und autoimmuner Thrombozytopenie [133] beruhen, vergesellschaftet. Interessanterweise konnte in einer aktuellen Studie ein Absinken der Konzentration in Zusammenhang mit Diät und Gewichtsverlust festgestellt werden, die Konzentration der intermediären Lymphozyten korrelierte mit hohen LDL- und Triglyceridwerten [134].

Die mehr oder weniger eigenständig agierenden, körperfremde und infizierte körpereigene Zellen abtötenden natürlichen Killerzellen sind ein weiterer Drehpunkt in der Organisation der Immunabwehr. Sie erkennen körpereigene und fremde major histocompatibility complexes (MHC), sowie mit Antikörpern markierte Zellen. Mittels Perforinen und Granzym können Zielzellen zerstört werden. Auch diese Zellen haben koordinierende Fähigkeiten, neben der Sekretion von IFN- γ und TNF- α produzieren sie IL-10, das antiinflammatorische Wirkungen hat und Makrophagen und andere antigenpräsentierenden Zellen (APCs) sowie T-Lymphozyten inhibiert. Gleichzeitig stimuliert es die über die Produktion von IL-8 die Th2-Antwort und die Ausbildung von Mastzellen und B-Lymphozyten (Letztere steigert die Antikörperproduktion) und stellt somit wie in den Kapiteln 1.1.1 und 1.2.2 beschrieben eine der Hauptsäulen in der Entstehung der Neurodermitis dar [135].

Eine Möglichkeit zur Einflussnahme des NNCS wird über das Vorhandensein des alpha-7 nicotinischen Rezeptors (nAChR α 7) vermutet. Dieser könnte ein Bindeglied zwischen dem NNCS-System und den Immunozyten darstellen und eine wichtige Rolle in deren Aktivierung und Regulierung, besonders auch im Bereich von kutaner Entzündung und Heilung [124], spielen. Die Modulation des Rezeptors wird durch

SLURP-1 beeinflusst [136], was bereits für Makrophagen, dendritische Zellen und Lymphozyten gezeigt werden konnte [137]. Inwiefern im Bereich dieses Rezeptors Veränderungen im Rahmen einer Schulungsmaßnahme auftreten, ist jedoch noch unbekannt.

1.3.2 T-regulatorische Zellen kontrollieren die Abwehrmechanismen

Grundsätzlich spielen fehlgeleitete Kontrollmechanismen der adaptiven Immunität die Hauptrolle in der Entwicklung von Autoimmunerkrankungen. Die Kontrolle von immunologischen Vorgängen obliegt u.a. der Klasse der T-regulatorischen Zellen [138], [139]. Zur Erfüllung ihrer Aufgaben hat diese Zellklasse mannigfaltige Auswirkungen auf diverse andere Immunzelltypen: Sie blockieren die Proliferation von T-Zellen, supprimieren die Aktivität von dendritischen Zellen (DCs) und können durch ein Absenken der Produktion von IgE auch die Aktivitäten von Mastzellen sowie basophilen und eosinophilen Granulozyten vermindern [140]. Darüber hinaus sind sie in der Lage, die für die atopische Dermatitis so zentrale Antwort der Th2 Zellantwort zu regulieren, besonders ausschlaggebend ist die hier die Subklasse der IL-12-produzierenden, FoxP3 positiven T-regulatorischen Zellen [141]. Als Zeichen der adaptiven Immunität bilden sich nach Auseinandersetzung mit fraglichen Erregern und Allergenen T-regulative Gedächtniszellen aus, die das Potential zur Reaktivierung über Generationen weitergeben [142]. Bereits 2001 konnten positive Korrelationen zwischen aktivierten T-regulatorischen Gedächtniszellen und dem Ausprägungsgrad der klinischen AD-Aktivität aufgezeigt werden [143].

Der Aktivierungs- und Differenzierungsgrad der T-regulatorischen Zellen lässt sich über den Chemokinrezeptor 4 (CCR4) sowie über CD45RA (Protein-Tyrosin-Phosphatase Rezeptor C) festlegen. CCR4 spielt eine wichtige Rolle bei der Migration in entzündete Gewebe [144], während CD45RA eine essentielle regulative Rolle bei der Kontrolle der Antigenpräsentation spielt [145]. Im Übrigen ist der CCR4 Rezeptor mit der Th2-Zellantwort und deren Sekretionsmuster assoziiert [120], [14]. CCR4 ist mit weiteren verwandten Rezeptoren (CCR2 und CCR5) für die Migration aktivierter T-regulatorischer Zellen in entzündete Gewebe verantwortlich. Dies konnte mit Hilfe einer Studie aus der Transplantationsmedizin mit implantierten Inselzellallografts gezeigt werden. Interessanterweise belegte diese Studie zudem, dass die T-regulatorischen Zellen ihre volle Funktion auf andere Immunteilnehmer erst nach einer anschließenden Migration in regionale Lymphknoten über die Rezeptoren CCR5 und CCR7 ausüben konnten [146], das Migrationsverhalten bestimmt also maßgeblich den Erkrankungsverlauf.

Im Übrigen ist der CCR4 Rezeptor mit der Th2-Zellantwort und deren Sekretionsmuster assoziiert, die als treibende Kraft der AD gesehen wird [120], [14]. Diese Antwort wird über die T-regulatorischen Zellen mittels Sekretion von IL-10 und TGF- β vermittelt. Es finden sich jedoch widersprüchliche Aussagen, inwiefern diese parakrinen, antiinflammatorischen Zytokine zur Aufrechterhaltung der AD-Symptomatik beitragen. Es werden erhöhte [147], als auch erniedrigte Konzentrationen [148] dieser Stoffe in den Effektorzellen, wie z.B. peripheren mononuclearen Zellen (PBMCs), beschrieben. FoxP3 ist ein Transkriptionsfaktor, der als zentrales Regulierungsglied der Aktivität von T-regulatorischen Lymphozyten gehandelt wird. Seine Aktivierung führt zur Wandlung in einen T-regulatorischen Phänotyp [149], Fehlfunktionen können das autoimmune polyendocrine Syndrom hervorrufen. In den letzten Jahren ist zudem CD127, eine IL-2 Rezeptorkette als alternativer Marker zur Identifikation erprobt worden, da FoxP3 als intrazellulärer Transkriptionsfaktor aufwändigere Färbemethoden benötigt. Die Ergebnisse beider Messungen zur Identifikation korrelieren [150]. Noch sind die Aussagen zur Bedeutung der FoxP3-Zellen in der AD-Pathogenese widersprüchlich, so zeigte eine Studie von 2004 im Vergleich zu gesunden Patienten zweifach erhöhte T-regulatorische Zellzahlen [151], in den Folgejahren wurde dieses Ergebnis jedoch durch zwei unabhängige Studien mit dem gemeinsamen Schluss fehlender Unterschiede in den Zellzahlen infrage gestellt [152], [153].

1.3.3 Die dendritischen Zellen verstärken die Immunantwort

Dendritische Zellen sind hochspezialisierte antigenpräsentierende Zellen und können Fremdproteine und Allergene in peripheren Geweben, besonders in Kontaktflächen zur Außenwelt, aufnehmen. Im Anschluss können sie in Lymphknoten die Aktivierung und Proliferation von T-Zellen sowie die Ausdifferenzierung in die, für die AD so wichtigen, Th1 und Th2 Subklassen der T-Helferzellen stimulieren [154]. Gleichzeitig wird die Migration von Monozyten und Makrophagen durch parakrine Sekretion lokal motiviert [155]. Die Zellreihen lassen sich anhand ihrer Herkunft und Funktion in aus Knochenmark entstandene myeloide dendritische Zellen (mDCs, CD11c+) die mit den Monozyten verwandt sind und den aus den lymphatischen Zellreihen entstandenen plasmazytoide dendritischen Zellen (pDCs, CD304+, CD11c-) unterteilen [156].

Die mDCs sind für Hautheilung und T-Zellstimulation verantwortlich außerdem produzieren sie IL-12, einem wichtigen Akteur von Autoimmunerkrankungen, da er eine Th2 Zellantwort induziert [157]. Die Konzentration von IL-12 korreliert zudem mit der AD-Aktivität [158]. Die Population von mDCs lässt sich weiterhin in Subpopulationen von Th1 induzierenden mDC1 (CD11c+, CD1c+) sowie in Th2 induzierenden mDC2 (CD11c+, CD141+) unterteilen [159], [160]. pDCs sind die Hauptproduzenten von

IFN- α , dem Hauptstimulus zur Bekämpfung von intrazellulären Viren sie aktivieren jedoch auch T-Lymphozyten und NKs [161]. In AD-läsionaler Haut konnten im Verhältnis zu im Blut zirkulierenden Zellen deutlich weniger pDCs festgestellt werden [162], deren Rolle in der AD ist noch umstritten. Eine Aktivierung beider Zellreihen kann über die Expressierung von CD86 identifiziert werden, ein Protein, das costimulatorische Funktionen zur T-Zell Aktivierung und deren Überleben vermittelt [163].

In Studien wird zurzeit über eine Problematik zur Identifizierung von dendritischen Zellpopulationen berichtet. Zum einen gibt es bis heute keinen exklusiven Marker für dendritische Zellen, sodass diese als MHC-II positive Lymphozyten ohne die typischen lymphozytären Marker anderen Gruppen (CD3-, CD14-, CD16-, CD19-, CD20-, CD56-) identifiziert werden [164]. Die Subgruppierung in mDC1 über CD11c (nach neueren Studien zeigt sich CD11a präziser) und mDC2 über DC141 gelingt, jedoch könnten sich hier weitere Subsets unklaren Phänotyps und unklarer Funktion verbergen. In-vitro werden beide Klassen über die Stimulation von Monozyten mit granulocyte macrophage colony-stimulating factor und IL-2 für die mDC1-Klasse, sowie IL-3 und IL-4 für die mDC2-Klasse erzeugt [165], [166]. Die vorhandenen in-vivo Studien haben aussagekräftige Ergebnisse lediglich über bioptische Untersuchungen mit optischer Identifizierung der Zellen produzieren können, denn auch ein Marker, der die Migrationsaktivität von DCs identifiziert, lässt noch auf sich warten. Überhaupt mangelt es bisher an sicheren Hinweisen, wie aktivierte dendritische Zellen das Zielorgan erreichen [167]. Klar ist nur, dass aufgrund des in migrierenden, sowie später in sesshaften DCs vorhandenen CD1c Rezeptor eine Verbindung vorliegen muss [168]. Auch im Zielorgan lässt sich aktuell nicht sicher identifizieren, welche Zellen neu migriert sind und welche sich als Wächter (engl. Sentinel) seit jeher dort befanden, da auch das dort vorhaltende Mikromilieu Einfluss auf die Zellen ausübt. Darüber hinaus findet sich kein Anhalt für den weiteren Verbleib der Zellen nach Abklingen der Entzündung, es entzieht sich bisher jeder Beobachtung, ob die Zellen in Lymphknoten oder zurück in den Blutstrom wandern, Apoptose begehen oder im Zielorgan sesshaft werden [169].

1.4 Messung der psychoneuroimmunologischen Effekte des Gießener Schulungsprogramms auf den Krankheitsverlauf

Die in den vorigen Kapitel behandelten, komplexen Interaktionen zwischen psychologischen, neuronalen und immunologischen Prozessen werden durch den, von Ader eingeführten, Begriff der Psychoneuroimmunologie beschrieben [170]. Der psychoneuroimmunologische Hintergrund soll nun in einer kurzen Zusammenfassung

dargestellt werden, um die Ableitung der Fragestellung der vorliegenden Studie nachvollziehen zu können.

Das Krankheitsbild der AD wird von einer Vielzahl unterschiedlicher Faktoren beeinflusst und benötigt deshalb einen multimodalen Therapieansatz um möglichst viele Faktoren im Alltag reduzieren zu können. Positive Effekte von Schulungsprogrammen in Bezug auf Hautverbesserung und Juckreizreduktion, sowie Verminderung von Angst und Stress konnten bereits nachgewiesen werden. Stress ist einer der Hauptfaktoren mit mannigfaltigen Auswirkungen auf kognitiver und somatischer Ebene. Generell wird Atopikern eine erhöhte Stressvulnerabilität und damit einhergehender Ängstlichkeit und Anspannung unterstellt. Gleichzeitig sind Coping-Mechanismen nicht ausreichend oder pathologisch somatisiert verändert. Die Stressvulnerabilität zeigt sich auch in Veränderungen im Immunsystem. Aufgrund einer verminderten Ansprechbarkeit der HPT-Achse und gleichzeitigen Übererregbarkeit der SA-Achse, kommt es zu inadäquaten Reaktionen mit einem erhöhten Th2-Muster durch unter anderem Cortisol. Neben den lang bekannten Stressachsen formieren sich zunehmend weitere, weniger erforschte Kommunikationswege über Neuropeptide und Neurotrophine wie zum Beispiel SP und BDNF (NNA), sowie über Acetylcholin und dessen Rezeptoren nAChR sowie Liganden wie SLURP-1 (NNCS). Anhand von Immunzellpopulationen können zentrale Einflüsse der verschiedenen Systeme aufgezeigt werden. Im Focus liegen hier die Monozyten und NKs, sowie T-regulatorische Zellen und dendritische Zellen. Aufgrund von Fortschritten in Untersuchungen des Migrationsverhaltens konnte Monozyten eine tragende Rolle in der lokalen Exazerbation der Krankheit zugestanden werden. Unzureichende, oder fehlgeleitete Kontrollmechanismen der T-regulatorischen Zellen begünstigen die überschießende Th2-Antwort. Die antigenpräsentierenden, dendritischen Zellen bieten Erklärungsmöglichkeiten für die Sensibilität für Stress durch äußere Einflüsse und sind durch Aktivierung von T-Zellen und Anlocken von Monozyten maßgeblich in der Orchestration der systemischen und lokalen Immunantwort beteiligt.

Um die Effekte des Gießener Schulungsprogramms aus der psychoneuroimmunologischen Perspektive angemessen betrachten zu können, werden Messmethoden aus unterschiedlichen Feldern rekrutiert. Offensichtlich beschreibt den Erfolg einer Therapiemaßnahme in dermatologischen Erkrankungen am besten die klinische Verbesserung des Hautzustandes. Hierzu bietet sich das Messinstrument Scoring of Atopic Dermatitis (SCORAD) an, eine Skala, die aus den klinischen Symptomen eines jeden Patienten einen Punktwert errechnet, der eine gute Vergleichbarkeit erlaubt und extensiv validiert wurde [171]. Der Stresseinfluss und dessen Coping sowie Veränderungen in Lebensqualität und allgemeinem

Gesundheitsempfinden kann auf kognitiver Ebene über Fragebogeninstrumente erhoben werden. Dem gegenüberstehend werden die Interaktionen der verschiedenen Stresssysteme über Biomarker mittels Serumanalysen untersucht und der Effekt auf Immunzellpopulationen durch Zellanalysen gemessen. Somit entsteht ein Zusammenspiel aus „weichen“ klinischen Daten und „harten“ Laborparametern. Es gibt zahlreiche Hinweise in der Literatur darauf, dass Krankheitszustand, aber auch das persönliche Stressempfinden mit den immunologischen Markern korrelieren. Jedoch wurden in der Vergangenheit noch wenige Ergebnisse publiziert, die den Erfolg der Schulungsprogramme innerhalb eines Kollektivs mit „harten“ Labor- und „weichen“ Fragebogenwerten belegen können. Viele Studien zur Effektivität sind zudem entweder multizentrisch [45] oder Metaanalysen [47], die durch Störfaktoren wie soziokulturelle oder auch umgebungsbedingte Aspekte beeinflusst werden könnten. Hier war das Ziel, ein möglichst homogenes Kollektiv von möglichst verschiedenen Ebenen zu beleuchten.

Zudem besteht besonders im Hinblick auf die Schwierigkeiten bei der Finanzierung der Schulungsteilnahmen durch die Krankenkassen weiterer Argumentationsbedarf, sodass die hier erarbeiteten Ergebnisse wertvolle Überzeugungsarbeit leisten könnten.

1.5 Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Das Ziel der vorgelegten Arbeit war, die Einflüsse des Gießener Schulungsprogrammes auf den Krankheitsverlauf der AD aus psychoneuroimmunologischer Sicht zu bewerten. Dazu sollten die im Folgenden aufgeführten Fragen beantwortet werden:

- Vermindert eine Schulungsteilnahme klinisch die Aktivität der atopischen Dermatitis?
 - Sinken die Werte des Scores für entzündliche Hautaktivität SCORAD?
- Lassen sich Veränderungen in den Selbstauskünften der Teilnehmer bezüglich Stresserleben, Stressverarbeitung sowie psychischer und körperlicher Gesundheit feststellen?
 - Zeigen sich signifikante Änderungen der Lebensqualität und des Juckreizes?
 - Zeigen sich Änderungen von Stress- und Angstepfinden?
 - Verändert sich das psychomotorische Copingverhalten?
 - Zeigen sich Änderungen in Gesundheitsempfinden und Somatisierungsneigung?
- Lassen sich Veränderungen in den Stressmediator-Level von Cortisol, BDNF, SLURP-1 und IgE feststellen?
- Zeigen sich Veränderungen in den Zellpopulationen der Monozyten, T-regulatorischen Zellen oder dendritischen Zellen?

2 Methodik

2.1 Organisatorische Voraussetzungen

Es handelte sich hier um eine klinische Studie im ambulanten Setting mit einem kontrollierten Design, die im Rahmen der Neurodermitisschulung der Neurodermitis-Akademie Hessen am Uniklinikum Gießen Marburg durchgeführt wurde. Dieses Projekt fußte auf einer Zusammenarbeit von Dermatologie und Psychosomatik. Die körperliche Untersuchung sowie die Blutentnahmen und -aufbereitung wurden in den Räumlichkeiten der dermatologischen Klinik Gießen unter Leitung von Herrn Prof. Uwe Gieler durchgeführt, die Messungen im Labor der Psychoneuroimmunologie unter Leitung von Frau PD Dr. Eva Peters sowie in der FACS-Core-Facility des Biomedizinischen Forschungsinstitut unter der Leitung von Herrn Prof. Jürgen Lohmeyer.

2.2 Ethik

Vor Studienbeginn wurde ein Votum (Aktenzeichen: 239/15) der Ethikkommission der Universität Gießen im Rahmen der Sitzung vom 21.01.2016 eingeholt. Gemäß dessen Auflagen wurden die Studienteilnehmer vor Studienbeginn ausführlich über Studienziel und -inhalte, sowie über potentielle Risiken aufgeklärt. Den Teilnehmern wurde ein angemessener Zeitraum zur Stellung von Fragen und Fassung des Entschlusses zur Teilnahme gewährt. Auf die freiwillige Teilnahme, die Möglichkeit eines jederzeitigen Ausscheidens sowie die anonymisierte Weiterverarbeitung der Daten wurde besonderer Wert gelegt. Während der Anreise und des Aufenthaltes im Klinikum zu Studienzwecken waren die Patienten über eine Haftpflichtversicherung der Allianz abgesichert. Im Studienprotokoll wurde zur Sicherung der Aussagefähigkeit anhand zweier Studien zur Bewertung des Therapieeffekts auf Hautzustand bei Neurodermitispatienten mit G-Power ein geplanter Gesamtumfang von $n=40$ Probanden pro Studienarm errechnet [172], [42].

2.3 Studiendesign

Die Studie wurde in einem ambulanten Setting prospektiv kontrolliert durchgeführt. Die Studienteilnehmer der Testgruppe wurden aus den bereits fest angemeldeten Schulungsteilnehmern über die Neurodermitis-Akademie rekrutiert. Die Kontrollgruppen wurden über Inserate in Lokalzeitungen, Aushängen sowie den Emailverteiler der Justus-Liebig-Universität Gießen rekrutiert. Die Untersuchungen

fanden am ersten Tag der Schulung, am dritten Schultag und drei Monate nach Schulungsbeginn statt. Mit diesem Schema sollten kurzzeitige Einflüsse der Schulung und langfristige Veränderungen aufgezeigt werden. Bei jedem Patienten wurde der Ausprägungsgrad der AD anhand von Lokalisation, Ausbreitung, Erythem, Lichenifikation, Exkoration und Nässen dokumentiert sowie die Blutentnahme durchgeführt. Nach Abschluss der Untersuchung erhielten die Probanden das Fragebogenset. Im Anschluss an die Blutentnahmen wurde die Aufbereitung der Proben zur Langzeitlagerung durchgeführt und die Ergebnisse der Fragebögen in eine Exceltabelle auf einem autarken Rechner eingelesen.

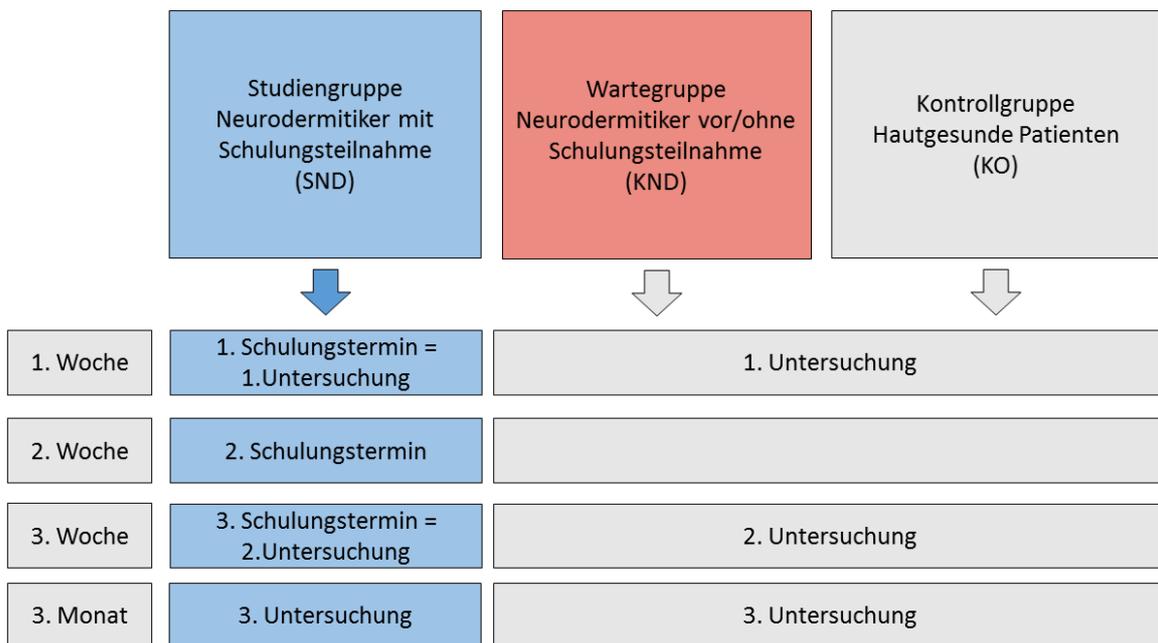


Abbildung 1: Zeitliches Ablaufschema der Studie

2.4 Kollektiv

Das Kollektiv setzte sich aus drei Gruppen zusammen: Neben der Studiengruppe mit Schulungsteilnahme wurde eine Kontrollgruppe mit AD-Patienten ohne Schulungsbesuch (Wartegruppe) und eine Kontrollgruppe mit Hautgesunden untersucht.

Die Rekrutierung der Probanden wurde auf verschiedenen Wegen durchgeführt. Interessierten Patienten wurde über verschiedene Zentren und niedergelassene Arztpraxen im mittelhessischen Raum der Kontakt mit der Neurodermitisakademie Gießen vermittelt. Im Rahmen der Schulungsanmeldung wurde die Teilnahme an der Studie angeboten, woraufhin bei Interesse eine Kontaktierung durch die Studienorganisation erfolgte. Gleichzeitig wurden Angebote zur Schulungs- und

Studienteilnahme über Lokalzeitungen und den Emailverteiler der Justus-Liebig-Universität Gießen geschaltet. Bei der Rekrutierung der Probanden wurde Wert auf eine möglichst kongruente Alters- und Geschlechterverteilung innerhalb der Gruppen gelegt.

2.5 Einschlusskriterien

Die Diagnosekriterien nach Hanifin und Rajka [5] bildeten den Grundbaustein zum Studieneinschluss. Des Weiteren sollten ein Alter von 18-65 Jahren und ein BMI von 18-30 nicht unterschritten bzw. überschritten werden.

2.6 Ausschlusskriterien

Die im Folgenden aufgeführten, AD-relevanten Kriterien führten zum Ausschluss aus der Studie:

- Fehlen der AD-Symptome seit mehr als einem Jahr
- Bereits stattgefundenene Teilnahme an einer AD-Schulungsmaßnahme
- Regelmäßige orale Einnahme bestimmter Medikamente (Cortisol/Immunmodulatoren, β -Blocker)

Aufgrund möglicher Einflüsse auf die Ergebnisse wurden zudem weitere, AD-unspezifische Ausschlusskriterien angewandt:

- Chronische Erkrankungen des Herzens, endokriner Organe oder des Immunsystems
- Schwere Grunderkrankungen, Schwangerschaft oder aktueller Kinderwunsch
- Psychische Erkrankung und psychotherapeutische Behandlung
- Stattgehabte Impfungen oder Infektionen innerhalb der letzten 4 Monate

In einem Telefoninterview wurden alle Ein- und Ausschlusskriterien erfragt, für die keine klinische Untersuchung notwendig war. Diese Untersuchung wurde am ersten Studientermin im Rahmen der Einschätzung des AD-Ausprägungsgrades durchgeführt und bei fehlender oder unsicherer AD-Diagnose der Ausschluss vorgenommen.

2.7 Studienverlauf

Die Planung der Studie begann am 24.12.2014. Nach Bewilligung des Ethikantrages am 21.01.2016 begann die Rekrutierung. Die Schulungen fanden in Gießen im Jahr durchschnittlich fünfmal statt, mit einer Teilnehmerzahl zwischen 6 bis 10 Personen. Von diesen konnten meist zwischen 6 und 8 Personen rekrutiert werden, sodass die Rekrutierung und Sammlung der Blutproben ein gutes Jahr in Anspruch nahm. Es traten zu Beginn erhöhte Dropout-Raten auf, ein Problem, das zusammen mit dessen Lösungen im Kapitel 4.2 erörtert wird.

Die Rekrutierung der Kontrollgruppen war weniger problematisch, der Großteil kam direkt aus Gießen, somit waren längere Anfahrtswege kein Problem. Auch waren zu diesem Zeitpunkt das Informationssystem sowie die Aufwandsentschädigung vollständig etabliert. Die Elisa- und FACS-Messungen wurden im Anschluss in einem relativ kurzen Zeitraum von einigen Wochen durchgeführt um äußere, durch Temperatur- und Leuchtfeuchteschwankungen bedingte Einflüsse möglichst zu minimieren.

Die im Studienprotokoll angestrebte Zahl von $n = 40$ Probanden pro Studienarm konnte aufgrund der hohen Dropoutrate nicht erreicht werden. Die Auswertung wurde mit 55 Probanden durchgeführt.

2.8 Zielparameter

Es wurden verschiedene Gruppen von Zielparametern für die Ergebnisbeurteilung festgelegt. Zum einen die immunologischen Laborparameter und Zellpopulationen, zum anderen durch Fragebögen erhobene subjektive Parameter sowie die klinische Beurteilung des Hautzustandes durch den Prüfarzt.

2.8.1 Hauptzielparameter SCORAD

Zur Errechnung dieses Scores wurde im Rahmen einer körperlichen Untersuchung der Lokalisation sowie Ausprägung in den Formen Erythem, Ödembildung, Papelbildung, Lichenifizierung und Krustenbildung dokumentiert. Weiterhin werden subjektive Symptome wie Juckreiz und Schlaflosigkeit aufgenommen. Anschließend erfolgte die Berechnung des Scores nach der im Manual genannten Formel [171]. Dieser Score gilt als objektiver klinischer Bewertungsindex des aktuellen Ausprägungsgrades einer atopischen Dermatitis [173].

2.8.2 Fragebögen

Neben der Gewinnung der Laborparameter wurden verschiedene Fragebögen ausgewählt um eine subjektive Einschätzung der psychischen Gesundheit zu erhalten sowie deren Veränderungen im Therapieverlauf aufzeigen zu können. Alle Fragebögen sind validiert und werden in verschiedenem Umfang national und international eingesetzt.

Lebens- qualität	<ul style="list-style-type: none"> • VAJ (Visuelle Analogskala Juckreiz) • ACSA (Likert-Skala Lebensqualität)
Stresserleben	<ul style="list-style-type: none"> • STAI (State-Trait Angstinventar, X1 Angst als Zustand, X2 Angst als Eigenschaft) • PSQ-30 (Stresswahrnehmung in den letzten 4 Wochen) • DHUS (daily hassles and uplifts = Wahrnehmung von möglichen Stressoren)
Ressourcen	<ul style="list-style-type: none"> • COPE (Coping Strategien) • BRCS (angepasster Umgang mit Stress) • SWOP (Selbstwirksamkeit, Optimismus, Pessimismus) • RSES (Selbstwertgefühl)
Gesundheit	<ul style="list-style-type: none"> • BI (Barsky-Index, zur Abgrenzung von Somatisierung) • SF-12 (Lebensqualität: psychische und physische Gesundheit)

Abbildung 2: Liste der verwendeten Fragebogensets, unterteilt nach Themengebieten

2.8.2.1 *Visuelle Analogskala Juckreiz (VAJ)*

Visuelle Analogskala von 1–10 zur Einschätzung der Intensität des Juckreizes in Kombination mit dem Schema eines Körpers (Vorderseite / Rückseite) zur Lokalisation des Juckreizes. Veränderungen in Intensität und Lokalisation des Juckreizes werden von Patienten im Allgemeinen am stärksten wahrgenommen und gehen gleichzeitig stark mit einer Veränderung der Lebensqualität einher [174]. Des Weiteren kann die externe Einschätzung bei der Erhebung der SCORADs durch das Empfinden des Patienten validiert werden.

2.8.2.2 *Anamnestic Comparative Self Assessment (ACSA)*

Visuelle Analogskala von -5 bis +5 zur subjektiven Einschätzung der momentanen Lebensqualität im Vergleich zur schönsten erlebten (+5) bzw. schlimmsten Zeit (-5) [175]. Studien haben in der Geschichte wiederholt einen gravierenden Einfluss der Krankheitsaktivität auf die Lebensqualität der Patienten aufgezeigt [176].

2.8.2.3 *State-Trait-Anxiety-Inventory (STAI-X1 und X2)*

Fragebogen mit 40 Items um zwischen Angst als momentanen Zustand (State) oder Eigenschaft (Trait) unterscheiden zu können [177]. Als Grundlage dient die Hull'sche Theorie von Trieb- und Gewohnheitsstärke [178]. Das Fragebogenset besteht aus zwei Selbstbeschreibungsskalen zu je 20 Items, die unabhängig voneinander eingesetzt und bewertet werden können. Die State-Skala beschreibt den momentanen Angstzustand, der durch Anspannung, Furcht, vermehrte Aktivität des vegetativen Nervensystems etc. gekennzeichnet ist. 10 der insgesamt 20 Items sind in Richtung Angstfreiheit, die anderen 10 in Richtung Angst formuliert und können in 4 Abstufungen beantwortet werden. Die Trait-Skala beschreibt neben der Angst als stabile Eigenschaft auch das Einschätzen von Situationen sowie Bewältigungstechniken. Hier sind 7 Items in Richtung Angstfreiheit und 13 Items in Richtung der Angstverstärkung formuliert. Zur Auswertung werden die jeweiligen Summenscores berechnet, je höher das Ergebnis (bis maximal 80), desto stärker beeinflusst Angst als Zustand oder Eigenschaft die Person.

2.8.2.4 *Perceived-Stress-Questionnaire (PSQ-30)*

Ein Fragebogen zur Messung des subjektiv erlebten Stresses der letzten vier Wochen, aufgeteilt in drei Skalen zur internen Stressreaktion (Anspannung, Sorgen, Freude) und einer Skala (Anforderungen) zur Reaktion auf äußere Stresseinflüsse. 30 Items in vier Abstufungen, die vier getrennte Summenscores (negative Items sind mit negativem

Wichtungsfaktor versehen) bilden, dienen der Einschätzung der vier Dimensionen [179].

2.8.2.5 Daily Hassles and Uplifts Scale (DHUS)

Dieser Fragebogen dient der Messung der psychischen Gesundheit anhand von Reaktionen auf Alltagssituationen. Neben den stärker belastenden Ereignissen wie Krankheit, Verlust, Konflikte etc. spielen auch die kleinen alltäglichen Belastungen bei der Veränderung von psychischer und körperlicher Gesundheit eine Rolle. Überdies lassen sich über den Therapieverlauf Veränderungen in der Wahrnehmung dieser Einzelsituationen feststellen. Der Fragebogen besteht aus 60 Items mit dichotomen Antwortschemata aus denen zwei getrennte Summenscores für „hassles“ (engl. für „Belastungen“; DHS) und „uplifts“ (engl. für „Aufschwung“; DUS) gebildet werden [180].

2.8.2.6 COPE Fragebogen

Dieser Fragebogen enthält 28 Items zur Erhebung des Copingverhaltens in vorangegangenen schwierigen und unangenehmen Situationen, das sich in die Komponenten Ablenkung (engl. Evasive Coping), emotionale Unterstützung (Engl. Support Seeking), positive Umdeutung (engl. Focus on Positive), aktive Bewältigung (Active Coping) und Einnahme von Alkohol und Drogen (Alcohol and Drugs) unterteilen lässt. Zu jeder Komponente finden sich Items, aus deren Summenscores sich eine Einschätzung auf die verschiedenen Ausprägungen des Copingverhaltens vornehmen lässt [181].

2.8.2.7 Brief Resilient Coping Scale (BRCS)

Der Fragebogen dient zur Erfassung verschiedener Umgangsweisen mit Stress und besteht aus 4 Items mit jeweils 5 Abstufungen. Neben dem Nachweis von Veränderungen nach kognitiv-behavioraler Therapie, lassen sich Prognosen zum Nutzen von Interventionen noch vor Therapiebeginn treffen [182].

2.8.2.8 Fragebogen zur Selbstwirksamkeit, Optimismus und Pessimismus (SWOP-K9)

Dieser Fragebogen wurden aus einer gekürzten Zusammenfassung zweier Fragebögen entwickelt: Der Optimismusfragebogen von Scheier und Carver [183] und der Fragebogen zur Erfassung von Selbstwirksamkeit von Jerusalem und Schwarzer [184]. Die 3 Konstrukte Selbstwirksamkeit, Optimismus und Pessimismus eignen sich gut zur Einschätzung des Therapieerfolgs über den Verlauf. Der Fragebogen besteht aus 9 Items, von denen 5 in Richtung Selbstwirksamkeit, und jeweils 2 in Richtung

Optimismus und Pessimismus formuliert sind. Diese können in 4 Abstufungen beantwortet und aus deren Mittelwert ein Summenscore für jede Komponente errechnet werden [185].

2.8.2.9 Rosenberg Self-Esteem-Scale (RSES)

Fragebogen zur Messung von Selbstwertgefühl mit 10 Items in 4 Abstufungen. Die Antworten erhalten einen positiven oder negativen Wichtungsfaktor aus denen der Summenscore errechnet wird. Es zeigen sich regelmäßig Veränderung während des Therapieverlaufs [186].

2.8.2.10 Short-form Questionnaire (SF-12)

Kurzform des Fragebogen SF-36 mit 12 Items, der zwischen physischer und psychischer Gesundheit bezogen auf die letzte Woche unterscheidet [187]. Der Begriff der Gesundheit wird hier aus den vier Komponenten psychisches Befinden, körperliche Verfassung, Funktionieren im Alltag sowie soziale Beziehungen in verschiedenen Abstufungen erfragt.

Die Antworten werden mit Wichtungsfaktoren umkodiert um aus deren Summenscores eine Einschätzung auf psychischen und physischen Gesundheitszustand vornehmen zu können.

2.8.2.11 Barsky-Index (BI)

Fragebogen mit 5 Items zur somatosensorischen Verstärkung. Das von Arthur Barsky entwickelte Instrument zur Erfassung von Somatisierungsneigung und Einflüssen von körperlichen Sensationen auf die Psyche heißt im englischsprachigen Raum Instrument Somatosensory Amplification Scale [188]. Positive Veränderungen konnten bei erfolgreichen Therapien chronischer Erkrankungen in verschiedenen Ländern aufgezeigt werden [189], [190].

2.8.3 ELISA-Messungen (Enzyme-linked-Immunoassay)

Als Laborparameter wurden die Blutkonzentrationen von Immunglobulin E (IU/ml), Cortisol (ng/ml), SLURP-1 (ng/ml), und Brain derived neutrophilic factor (pg/ml) mittels ELISA-Verfahren gemessen.

Bei diesem Verfahren handelt es sich um eine quantitative Analyse von Antigenen in Körperflüssigkeiten, vornehmlich Blut und Speichel. [191] Das Grundprinzip des Messverfahrens gliedert sich in folgende Schritte:

1. Ein Träger (96-Well Mikrotitrierplatte) wird mit einem Antikörper des gewünschten Antigens in einer festgelegten Menge beschichtet (Coating).
2. Das zu untersuchenden Antigen sowie eine Standardlösung werden in festgelegter Menge hinzugefügt und inkubiert. Die Standardlösung gibt die Messkurve vor und legt Ober- und Untergrenzen des Messbereiches fest, die zur Kontrolle der gemessenen Werte dienen.
3. Im Anschluss werden alle nicht gebundenen Moleküle herausgewaschen und ein Reporterenzym hinzugefügt, das an das Zielantigen bindet. Eine Sonderform ist die Doppelsandwichtechnik. Hier wird ein weiterer Antikörper hinzugefügt, der an ein anderes Epitop des Zielantigens bindet. Dieser trägt dann das Reporterenzym.
4. Zuletzt wird ein Substrat hinzugegeben, das von dem gebundenen Enzym gespalten wird und einen Farbumschlag hervorruft. Dieser Farbumschlag kann in einem Plattenlesegerät mit einer vom Hersteller angegebenen Wellenlänge gemessen und anhand der Standardkurve in Konzentration pro Volumen umgerechnet werden.

2.8.4 FACS (fluorescence-activated cell sorting)

Es wurden FACS-Analysen durchgeführt, um Veränderungen an Zellpopulationen wie T-regulatorischen Zellen, Monozyten, und dendritischen Zellen aufzuzeigen. Die im deutschen Sprachgebiet bekannte Methode der Durchflusszytometrie erlaubt parallel die qualitative und quantitative Messung von mehreren antikörpermarkierten Zellreihen. Das Prinzip beruht auf der unterschiedlichen Lichtabsorption der mit Laser angestrahlten Zellen, die durch eine hochpräzise Küvette eingesaugt und einzeln gemessen werden. Zum einen wird die Streuung des Lichtes FSC im axialen Verlauf gemessen (Forward Scatter oder Vorwärtsstreuung), die Aussagen über das Volumen der Zellen trifft. Zum anderen erhebt die quere Streuung SSC (Side Scatter) Aussage über Granularität, Größe und Struktur des Zellkerns sowie die Menge der intrazellulären Vesikel. Zur weiteren Differenzierung wird Fluoreszenz durch mit Farbstoffen markierten Antikörpern erzeugt; das erlaubt die Zuordnung in diverse Zellpopulationen. Der limitierende Faktor der Anzahl an messbaren Zellreihen stellt die Anzahl der vorhandenen Laser da, da diese mit einem fest definierten Wellenlängenbereich arbeiten und daher nur mit limitierten Farbstoffen arbeiten können ohne dass es zu Überschneidungen kommt. Das in dieser Arbeit verwendete FACS-Gerät arbeitet mit drei Lasern mit insgesamt 8 Wellenlängenbereichen. Am PC können in den Skalen der Wellenlängen Bereiche, sogenannte Gates definiert werden,

in denen die Zellen mit den gewünschten Antikörpern von anderen Zellen getrennt gemessen und deren Anzahl bestimmt wird.

Zur Kalibrierung der Messungen wird zu Beginn eine Kompensationsmessung vorgenommen. Die mit den Farbstoffen markierten Antikörper werden auf künstliche, den Zellen entsprechenden Messträgern, sogenannte Beads, aufgetragen und deren Absorption des Lichtes gemessen. So können die Bereiche für die weiter oben im Text beschriebenen Gates festgelegt werden. Darüber hinaus benötigt jede Messung eine Negativkontrolle, den Isotyp. Dieser farbstoffmarkierte Antikörper bindet unspezifisch an alle Zellen und wird mit den späteren Messergebnissen verglichen. Damit soll sichergestellt werden, dass die Zielzellen korrekt identifiziert werden können.

Im Folgenden werden anhand von Schaubildern die Gatingstrategien der Zielzellpopulationen erläutert. Anhand der, durch die Spektren der Laser gebildeten, Gates können spezifisch die antikörpermarkierten Zellen ausgewählt werden. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt jeweils in prozentualen Angaben der Zellen in Bezug zur Gesamtmenge in der vorigen Gruppe (Mutterkonzentration).

2.8.4.1 Immunstatus mit Monozytenpopulationen und natürlichen Killerzellen

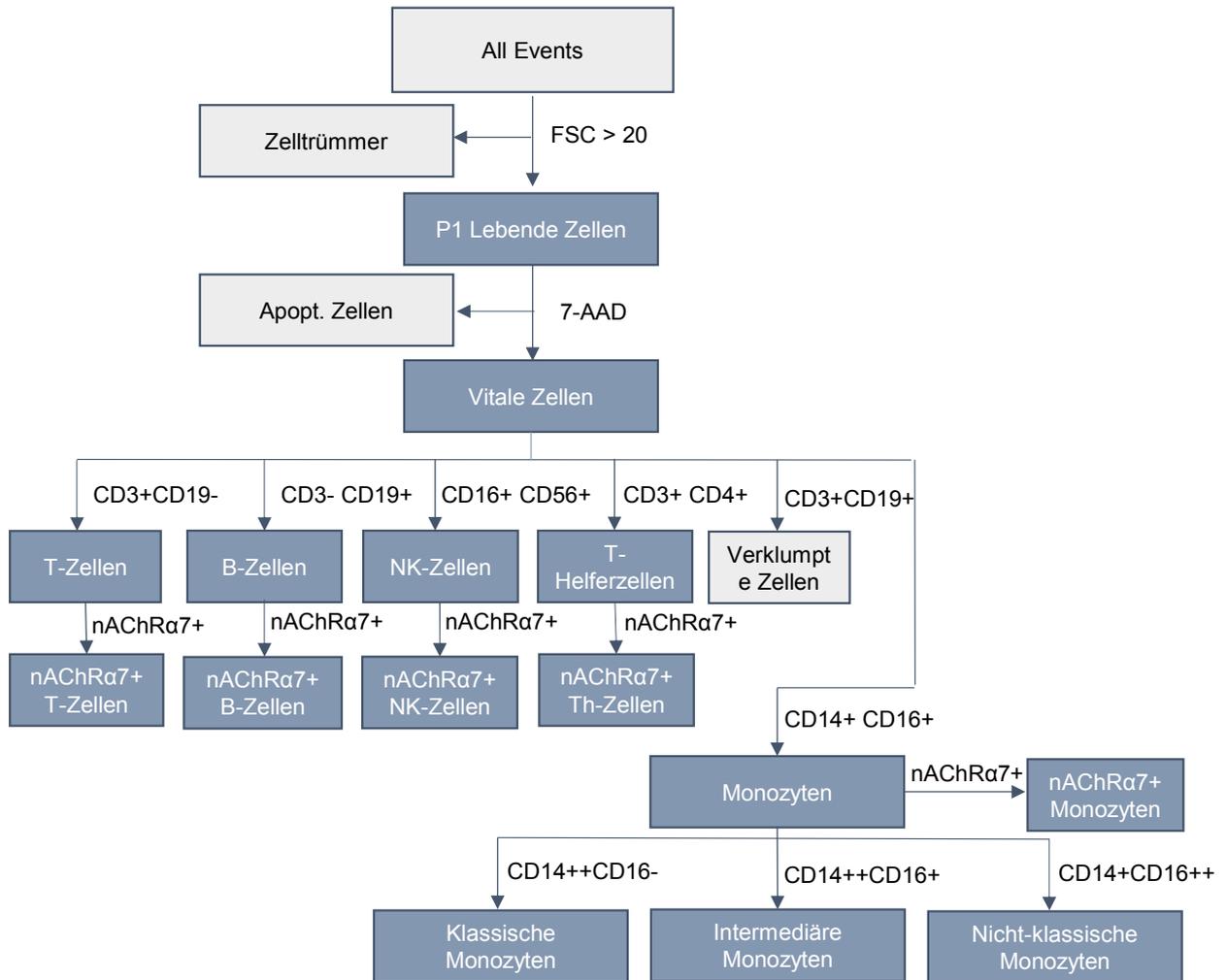


Abbildung 3: Gating-Strategie zur Messung des Immunstatus

2.8.4.2 T-regulatorische Zellen und Verwandte

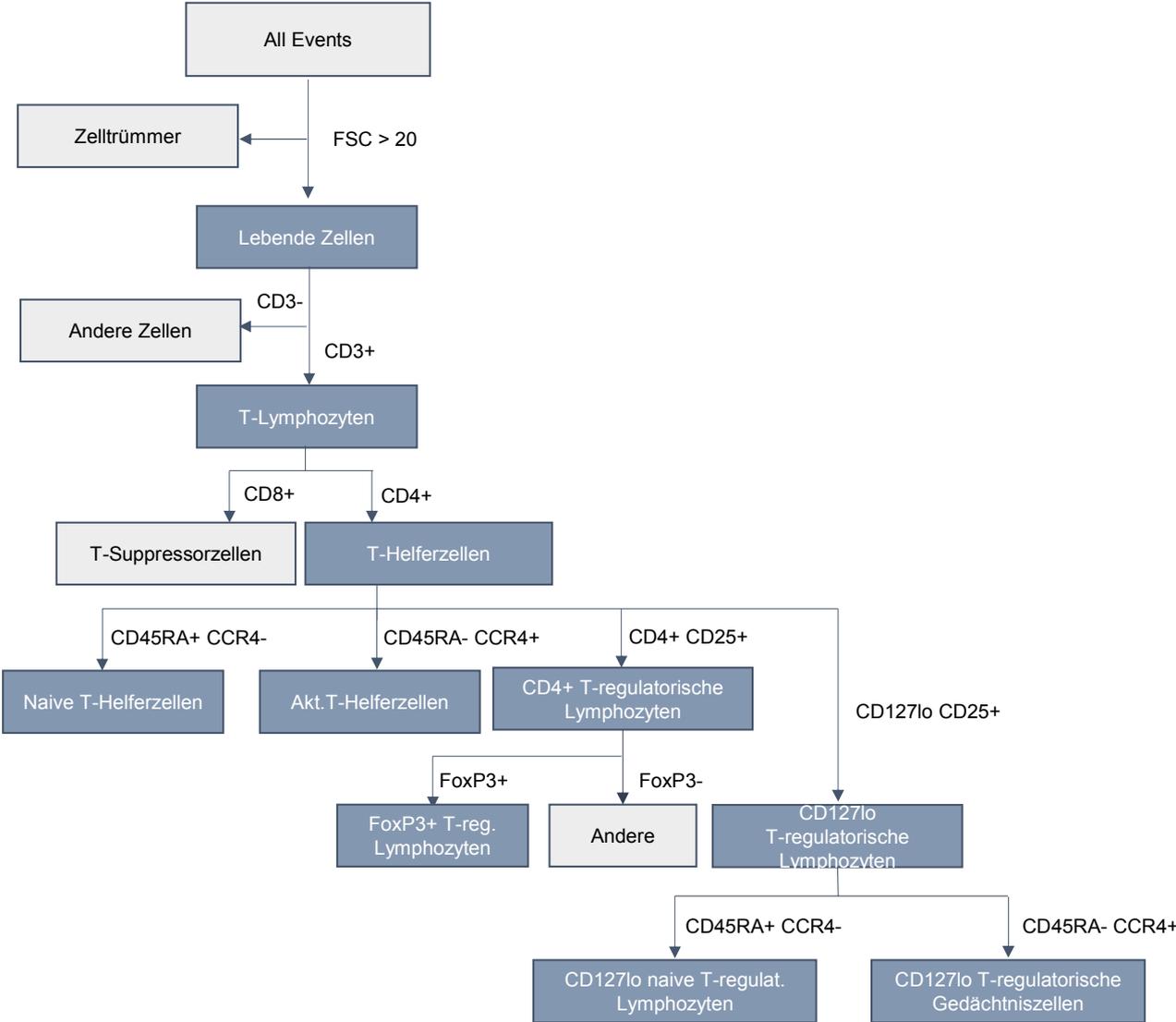


Abbildung 4:Gating Strategie zur Messung der T-regulatorischen Lymphozytenpopulationen

2.8.4.3 Myeloide und plasmazytoide dendritische Zellen

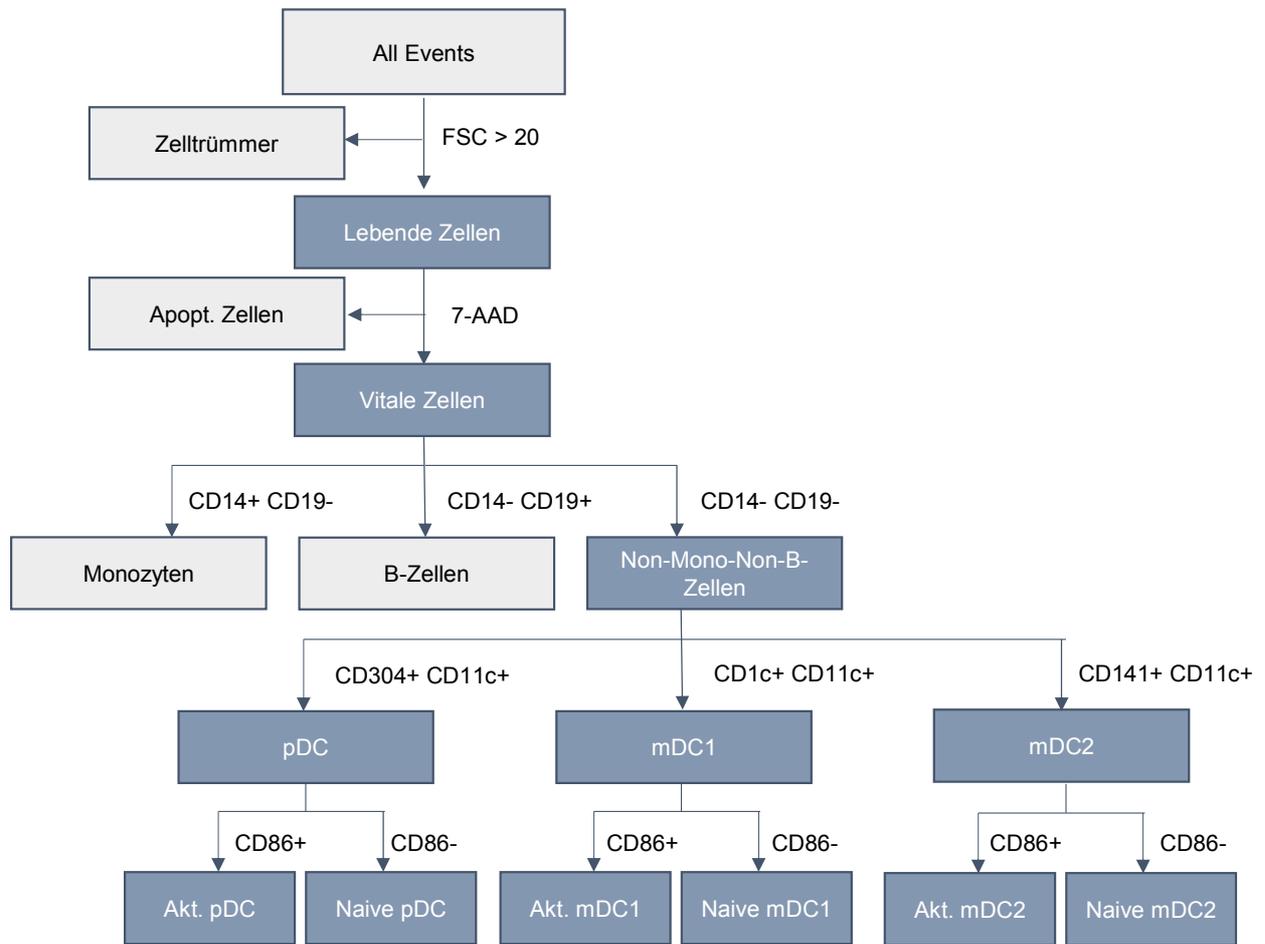


Abbildung 5: Gatingstrategie zur Identifizierung der dendritischen Zellen

2.9 Datenerhebung und Messmethoden

2.9.1 Labormaterial und Arbeitsmittel

2.9.1.1 Instrumente

Tabelle 2: Liste aller verwendeten Geräte und Instrumente

Gerät/Instrument	Modell	Hersteller
FACS-Gerät	BD Canto II	Becton, Dickinson & Co. (Franklin Lakes, USA)
Flockeneisbereiter	Flake line	Wessamat Eismaschinenfabrik GmbH (Kaiserslautern, Deutschland)
Hämatologie-Analysator	Sysmex KX-21N	Sysmex Deutschland GmbH (Norderstedt, Deutschland)
Inkubatorschrank CO2	Heraeus Typ BB 6060	Heraeus Sepatech (Osterode, Deutschland)
Magnetrührer	Ikamag RCT Magnetfeld	IKA®-Werke GmbH & Co. KG (Staufen, Deutschland)
Mikroskop	Leica DFC 295	Leica Mikroskopsystems Ltd. (Heerbrugg, Schweiz)
Plattenlesegerät	Berthold Tech TriStar	Berthold Technologies GmbH & Co. KG (Bad Wildbach, Deutschland)
Plattenmischer	Kühner Mini-Shaker Typ MSL	Adolf Kühner AG (Birsfelden, Schweiz)
Sterilw erkrankung mit Absaugung	HERA Safe KS-12	Thermo Electron LED GmbH (Langenselbold, Deutschland)
Tiefkühlschränke	Ultra Low Temperature Freezer, -80°C	Eppendorf Vertrieb, (Hamburg, Deutschland)
	TSX Series Freezer, -80°C	Thermo Fisher Scientific Inc., (Waltham, USA)
Vortex Gerät	Heidolph Reax 2000	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG (Schwabach, Deutschland)
Wasserbad	3047	Köttermann (Uetze-Hänigsen, Deutschland)
Wasserpurifikation	Milli-Q Biocel A10	Merck KG (Darmstadt, Deutschland)
Zentrifugen	Thermo Scientific Minifuge RF, Rotor 3360mm	Heraeus Sepatech (Osterode, Deutschland)
	Heraeus Megafuge 11 R	Heraeus Sepatech (Osterode, Deutschland)
	Rotina 38, Rotor 1798mm	Hettich Zentrifugen, (Mühlheim a.d. Ruhr, Deutschland)
	Hettich Mikroliter	Hettich Zentrifugen, (Mühlheim a.d. Ruhr, Deutschland)

2.9.1.2 Kits

Tabelle 3: Liste der verwendeten ELISA Kits

Kit	Bestellnummer	Hersteller
BDNF ELISA	G7610	Promega Corporation (Madison, USA)
Cortisol ELISA	RE52061	IBL International GmbH (Hamburg, Deutschland)
IgE ELISA	RE59061	IBL International GmbH (Hamburg, Deutschland)
SLURP-1 ELISA	CSB-EL021784HU	Cusabio and CusAB (Baltimore, USA)

2.9.1.3 Labormaterialien

Tabelle 4: Verwendete Labormaterialien und übrige Arbeitsmittel

Material	Modell	Hersteller
Adapter Blutentnahmeröhrchen	Vacutainer Multiple Sample Luer Adapter	Becton, Dickinson & Co. (Franklin Lakes, USA)
Deckgläser f. Neubauerzählkammer	Hämatocytometer 20x26x0,4mm	BRAND GmbH & Co KG (Wertheim, Deutschland)
Einmalhalter für Blutentnahmeröhrchen	10 x 30cm	Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK
Einmalhandschuhe	Vasco Nitril w hite, Größe S, M, L	Braun Melsungen AG (Melsungen, Deutschland)
Einmalspritzen, steril	1ml	Braun Melsungen AG (Melsungen, Deutschland)
ES-Kompressen, steril	5x5 cm	Paul Hartmann AG (Heidenheim, Deutschland)
FACS Röhrchen	551.579	Sarstedt AG (Nümbrecht, Deutschland)
Falconröhrchen, steril	50ml 15ml	STEMCELL Technologies Inc. (Vancouver, Canada) Greiner Bio-One GmbH (Frickenhausen, Deutschland)
Filzstift	Edding 140 S (schwarz)	edding Vertrieb GmbH (Wunstorf, Deutschland)
Glaswaren	Messzylinder, Flaschen	VWR International GmbH (Darmstadt, Deutschland)
Händedesinfektionslösung	Sterillium Classic Pure 500ml	BODE Chemie GmbH (Hamburg, Deutschland)
Hautdesinfektion Spray	Softasept N	Braun Melsungen AG (Melsungen, Deutschland)
Klebeband	Durapore, weiß	3M Deutschland GmbH (Neuss, Deutschland)
Kryoboxen zur Lagerung	weiß, Standard, 136x136x50mm	Ratiolab GmbH (Dreieich, Deutschland)
Multipipette	10-100ml	Eppendorf Vertrieb, (Hamburg, Deutschland)
Neubauer Zählkammer	Neubauer Improved: Kammertiefe 0,1mm, Großquadrat 1mm ²	VWR International GmbH (Darmstadt, Deutschland)
Pflaster	Durapore	servoprax GmbH (Wesel, Deutschland)
Pipetten	Research Plus 0,5-100µl, 10-100µl, 100-500µl, 1-10ml	Eppendorf AG (Hamburg, Deutschland)
Pipettenspitzen	Typ Eppendorf 5 µl, 200µl, 1000µl, 10ml	Sarstedt AG (Nümbrecht, Deutschland)
	Multitips 5,0ml mit Hub 100µl, 10ml mit Hub 200µl	Sarstedt AG (Nümbrecht, Deutschland)
Probenröhrchen	Safe Seal Tube 1,5ml	Sarstedt AG (Nümbrecht, Deutschland)
Rastereinsätze für Kryoboxen	136x136mm, Raster 10x10, Höhe 30mm	Ratiolab GmbH (Dreieich, Deutschland)
Reagent Reservoir	25ml	VWR International GmbH (Darmstadt, Deutschland)
Sicherheitskanülen zur Hautpunktion, steril	Safety- Multifly Kanüle	Sarstedt AG (Nümbrecht, Deutschland)
Spritzflasche	Kunststoff 250ml	Kautex Textron GmbH & Co. KG (Bonn, Deutschland)
Stauschlauch	Standard	Bayer AG (Leverkusen, Deutschland)
Stechkanüle	0,45mm x 13mm	Becton, Dickinson & Co. (Franklin Lakes, USA)
Styroporkiste für Eis mit Deckel	40x30x20cm	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland)
Transferpipette, steril	3,5ml	Sarstedt AG (Nümbrecht, Deutschland)
Vakuum-Blutentnahmeröhrchen	K2E EDTA, 6ml, 10ml	Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK
	SST II Serum, 8,5ml	Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK
	LH 10ml	Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK
Wellplatte ELISA, steril	96 Wells, U-Bottom	VWR International GmbH (Darmstadt, Deutschland)

Methodik

2.9.1.4 Medien

Tabelle 5: Liste der selbst hergestellten Medien

Name	Herstellung
Nährmedium	Für 500ml Nährmedium: 500ml RPMI 1640 + 50ml 10%iges FBS + 0,2ml 2U/ml Heparin auf 50ml Falconröhrchen verteilen.
Staining Buffer	Für 50ml Stainingbuffer: 50ml PBS + 500µl FBS

2.9.1.5 Reagenzien

Tabelle 6: List der verwendeten Reagenzien (ausgenommen die bereits in den Kits Enthaltenen)

Reagenz	Bestellnummer	Hersteller
0,025M Sodium bicarbonate	S7795-500g	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland)
Aprotinin	H736.1	Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
Aqua dest.	Biocel-A 10	Merck Millipore KGaA (Darmstadt, Deutschland)
Biocoll Separating Solution, Density 1,077 g/ml	L6115	Biochrom GmbH (Berlin, Deutschland)
DMSO (Dimethylsulfoxid)	D2438	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland)
Ethanol 70%, Vollst. Verg. MEK/BITREX	11162161	SAV-LIQUID PRODUKTION GmbH (Flintsbach, Deutschland)
Fetales Kälberserum (FBS) 10%	S0115	Biochrom GmbH (Berlin, Deutschland)
Foxp3 / Transcription Factor Fixation/Permeabilization Concentrate and Diluent	00-5521-00	Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA)
Isicomp Beads anti-mouse	11201D	Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA)
NaCl 0,9% 500ml Ecolav	3570470	Braun Melsungen AG (Melsungen, Deutschland)
Natronlauge 1mol/l (1N)	1.091.371.000	Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)
PBS Puffer Dulbeccos	14190-094	Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA)
RPMI-1640 w ith stab. Glutamine, w ith 2,0 g/l NaHCO ₃	PO4-18500	Pan-Biotech GmbH (Aidenbach, Deutschland)
Salzsäure 1mol/l (1N)	1090571000	Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)
Sodium carbonate 0,025mol/l	S5761-500g	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland)

2.9.1.6 Antikörper

Tabelle 7: Liste mit Funktion der verwendeten Antikörper der FACS Messungen (Hersteller Biolegend (Vertrieb Fell, Deutschland))

Ziel	Funktion	Wellenlänge (nm)	Farbe	Bestellnummer
7-AAD	Bindet freie DNA, Differenzierung von intakten und zerstörten Zellen	488/532	PerCP	559925
Anti-nAChR α 7	nicot. ACh-Rezeptor, repräsentiert NNCS auf Immunzellen	530	FITC	838401
CCR4 (CD194)	Differenzierung zwischen naiven und T-regulatorischen Gedächtniszellen	510	Brilliant Violet	359416
CD11c	Differenzierung der Subklassen von myel. Dendr. Zellen	633	APC	301614
CD127	Identifizierung von peripheren T-regulatorischen Zellen	488	PE	351320
CD14	Differenzierung der Monozyten-Subklassen	633	APC	301820
CD141	Thrombomodulin, Identifikation von dendritischen Zellen	488/532	PE-Cy	344110
CD16	Identifikation von Monozyten und natürlichen Killerzellen	488	PE	302008
CD19	Identifizierung von B-Lymphozyten	510	Brilliant Violet	302242
CD1c	Identifizierung von dendritischen Zellreihen	488	PE	331506
CD25	Identifizierung von peripheren T-regulatorischen Zellen	488	PE	356104
CD3	Identifizierung von T-Zellen	405	Pacific Blue	300330
CD304	Neuropilin-1, Identifizierung von plasmazytoiden dendr. Zellen	488	FITC	354512
CD4	Identifizierung von Th-Zellpopulationen	488/532	PerCP	317432
CD4	Identifizierung von Th-Zellpopulationen	488	PE	317414
CD45Ra	Aktivitätsmarker für T-regulatorische Lymphozyten	633	APC	304128
CD56	Identifizierung von natürlichen Killerzellen	633	APC	318310
CD8	Korezeptor von MHC-I, Identifizierung von T-Zellen, NK-Zellen	488	FITC	344704
CD86	Aktivierungsmarker von Immunozyten, hier speziell dendritische Zellen	421	Brilliant Violet	305426
FoxP3	Intrazellulär; hochsensitiv für T-regulatorische Lymphozyten	647	Alexa Fluor	320114

2.9.1.7 Verwendete Software

Tabelle 8: Liste der verwendeten Software zur Studienplanung, Laboruntersuchung und statistischen Auswertung sowie Anfertigung der Dissertation

Name	Hersteller
FACSDiva 8.0.1	Becton, Dickinson & Co. (Franklin Lakes, USA)
G*Power 3.1.9.2	Franz Faul (Universität Kiel, Deutschland)
Mendeley 1.17.9	Elsevier (New York, USA)
MikroWin 4.41	Labsis Laborsysteme (Neunkirchen-Seelscheid, Deutschland)
MS Office 2013	Microsoft (Redmond, USA)
Prism 6	Graphpad (San Diego, USA)
SPSS 23	IBM (Armonk, USA)

2.9.2 Probengewinnung

Die Blutentnahme und anschließende Aufbereitung wurde nach festem Protokoll durchgeführt. Vor der Blutentnahme wurde zunächst die Zentrifuge auf 4 °C heruntergekühlt sowie die Trennlösung Biocoll und der PBS Puffer auf Raumtemperatur gebracht. Da die verschiedenen Schritte parallel durchgeführt werden konnten, empfahl es sich, die genutzten Container zu beschriften.

Zur Gewinnung von Plasma für spätere ELISA Analysen wurde vor der Blutentnahme ein 10 ml EDTA Röhrchen mit 46,3 µl Aprotinin bestückt und auf Eis gelagert. Nach Abnahme wurde das Röhrchen in der auf 4°C temperierten Zentrifuge 10 Min. bei 2500 /Min. zentrifugiert und danach jeweils 500 µl des Überstandes in die vorbereiteten Eppendorf Reaktionsgefäße überführt. Diese wurden im Anschluss umgehend im Tiefkühlschrank bei -80 °C gelagert.

Zur Gewinnung von Serum für spätere ELISA Analysen wurden zwei 8,5 ml Serum Röhrchen verwendet. Nach der Blutentnahme und mindestens 10 Min. Standzeit wurden diese in der auf 4 °C temperierten Zentrifuge 10 Min. bei 2500 /Min. zentrifugiert und danach jeweils 500 µl des Überstandes in die vorbereiteten Eppendorf Reaktionsgefäße überführt. Diese wurden im Anschluss umgehend im Tiefkühlschrank bei -80 °C gelagert.

Zur Gewinnung von Vollblut zur DNA Analyse wurden jeweils 500 µl Vollblut aus den beiden 6 ml EDTA Röhrchen in die vorbereiteten Eppendorf Reaktionsgefäße überführt. Diese wurden im Anschluss umgehend im Tiefkühlschrank bei -80 °C gelagert.

Zur Isolierung von Immunozyten zur späteren FACS Analyse wurde das verbliebene Vollblut zunächst 5 Min. bei 1800 /Min. zentrifugiert, der Plasmaüberstand in ein

Falconröhrchen überführt und dieser dann bei 4 °C im Kühlschrank gelagert. 550 µl des Plasmas wurden in ein mit 450 µl DMSO bestücktes NUNC-Röhrchen pipettiert. Aus den beiden zentrifugierten 6 ml EDTA Röhrchen wurde das Restblut in ein gemeinsames 15 ml Falcon überführt und mit PBS auf 12 ml Gesamtvolumen aufgefüllt. Jeweils 6 ml des Vollblut/PBS-Gemisches wurde mithilfe einer sterilen 3,5 ml Transferpipette vorsichtig in ein mit 3 ml Biocoll bestücktes 10 ml Falcon gegeben. Hier bewährte sich die Methode, das Biocoll-Falcon möglichst schräg zu halten und das Vollblut/PBS-Gemisch langsam auf die Biocolloberfläche laufen zu lassen. Im Anschluss wurde das Falcon 20 Min. bei 2400 /Min. ohne Rotorbremse zentrifugiert. Die Biocolllösung dient als Flüssigfilter, der aufgrund seiner genau definierten Porösität Immunocyten in einem Interphasering festhält. Der Interphasering wurde mit einer 3,5 ml Transferpipette abgesaugt, in ein neues 15 ml Falcon überführt und mit PBS auf 12 ml aufgefüllt. Das Falcon wurde erneut 10 Min. mit 1800 /Min. zentrifugiert, um die Zellen in einem Pellet am Falconboden zu konzentrieren. Nach dem Abschütten des Überstandes wurde dieses durch vorsichtiges Rotieren im Vortexmischer vom Boden gelöst und mit dem am Anfang abpipettierten Plasma auf 1 ml Gesamtvolumen aufgefüllt. Dieser wurde nun in das vorbereitete NUNC-Röhrchen (450 µl und 550 µl Plasma, s.o.) überführt, vorsichtig geschwenkt und 24 Stunden bei -80 °C in einer Nalgene Mr. Frosty Gefrierbox gelagert. Diese Box ermöglichte zellschonendes Einfrieren, nach Ablauf des Einfriervorgangs wurden die Zellen dann zur Langzeitlagerung in flüssigen Stickstoff überführt.

2.9.3 ELISA-Messungen

2.9.3.1 Cortisol-ELISA

Für die Messung der Cortisol-Konzentration wurde der ELISA Festphasen Sandwich Enzyme Immunoassay 96 Well Kit (Katalog Nr. RE 52061) von IBL International für humanes Serum und Plasma verwendet.

Durchführung:

Zur Orientierung sollte ein Pipettierschema bereitgestellt werden. Auf diesem können die Inhalte der Wells gekennzeichnet werden, Standardkurven und Studiennummern. Die Messungen sollten zur Fehlerreduktion im Doppelansatz gemessen werden. Es war sicherzustellen, dass alle Komponenten des Kits und die zu messenden Proben auf Raumtemperatur erwärmt wurden. Dies gilt auch für die folgenden Messungen von IgE, BDNF und SLURP-1.

Zu Beginn wurden je 20 µl Standards und Proben in die entsprechenden Wells pipettiert. Mit einer Multipipette wurden 200 µl Enzymkonjugat jedem Well hinzugefügt, im Anschluss auf einer Rüttelplatte 10 Sek. durchmischt und mit einer beiliegenden Schutzfolie abgeklebt. Während der sich anschließenden Inkubationszeit von 60 Min. bei Raumtemperatur wurde aus 30 ml Waschpufferkonzentrat und 1170 ml Aqua dest. der Waschpuffer hergestellt. Die Wells wurden mit einer Mehrkanalpipette und jeweils 300 µl Waschpuffer dreimal gewaschen und zwischen jedem Waschschrift auf Papiertüchern zum Trocknen ausgeklopft. Dann wurde mit einer Multipipette jeweils 100 µl Enzymsubstrat in jedes Well gegeben, mit einer Schutzfolie erneut abgeklebt und 15 Min. bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Im Anschluss wurde 100 µl Stopplösung mit einer Multipipette in die Wells pipettiert und die Platte möglichst zeitnah im Plattenlesegerät bei 450 nm gemessen.

2.9.3.2 *IgE-ELISA*

Für die Messung der IgE-Konzentration wurde der Sandwich Total-IgE ELISA Kit (Katalog Nr. RE59061) der Firma IBL International für humanes Serum und Plasma verwendet.

Durchführung:

Zu Beginn wurden je 10 µl Standards und Proben in die entsprechenden Wells pipettiert. Mit einer Multipipette wurden 200 µl Enzymkonjugat jedem Well hinzugefügt, im Anschluss auf einer Rüttelplatte 10 Sek. durchmischt und mit einer beiliegenden Schutzfolie abgeklebt. Während der sich anschließenden Inkubationszeit von 30 Min. bei Raumtemperatur wurde aus 30 ml Waschpufferkonzentrat und 270 ml Aqua dest. der Waschpuffer hergestellt. Die Wells wurden mit einer Mehrkanalpipette und jeweils 300 µl Waschpuffer dreimal gewaschen und zwischen jedem Waschschrift auf Papiertüchern zum Trocknen ausgeklopft. Im Anschluss wurde mit einer Multipipette jeweils 100 µl Enzymsubstrat in jedes Well gegeben, mit einer Schutzfolie erneut abgeklebt und 15 Min. bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Im Folgenden wurde 100 µl Stopplösung mit einer Multipipette in die Wells pipettiert, 10 Sek. auf dem Rüttler durchmischt und die Platte möglichst zeitnah im Plattenlesegerät bei 450 nm gemessen.

2.9.3.3 BDNF-ELISA

Für die Messung der BDNF Konzentration wurde der BDNF-ELISA Sandwich Kit (Katalog Nr. BE69099) der Firma IBL für humanes Serum, Plasma und Gewebehomogenisate verwendet.

Durchführung:

Zu Beginn erfolgte die Herstellung der Standardmessreihe, da diese nicht wie in den Cortisol- und IgE-Kits bereits vorbereitet mitgeliefert wurde. Zunächst wurden die Konzentrat-Pellets mit 1 ml des Sample Diluents gelöst und die Lösung für 10 Min. bei Raumtemperatur homogenisiert. Von der nun vorliegenden 10 ng/ml konzentrierten Lösung wurden 0,2 ml mit 0,8 ml Sample Diluent erneut in einem Tube verdünnt, hier lag nun eine 2 ng/ml Konzentration vor. Nun wurde die Standard-Verdünnungsreihe, bestehend aus 6 Eppendorf-Tubes gebildet. Hierzu wurden diese mit jeweils 0,3 ml Sample Diluent bestückt, im Anschluss wurde dem ersten Tube 0,3 ml der 2 ng/ml Standardlösung hinzugefügt und durch Auf- und Abpipettieren gemischt. Von diesem Tube wurde nun 0,3 ml entnommen und in das nächste, mit 0,3 ml Sample Diluent bestücktem Tube gegeben, gemischt und dann erneut 0,3 ml entnommen. Nachdem alle 6 Tubes so bestückt wurden, bestanden insgesamt 7 Standard-Tubes mit einer abnehmenden Konzentration von 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5 und 31,2 ng/ml. An diesen vordefinierten Konzentrationen konnte die Genauigkeit des Gerätes und die korrekte Testdurchführung überprüft werden.

Im Folgenden wurde im Doppelansatz das erste Well der Platte mit 0,1 ml Sample Diluent bestückt (negativ-Kontrolle) und in die folgenden sechs Wells in aufsteigender Konzentration die oben aufgeführte Standardmessreihe. Dann wurden jeweils 0,1 ml der zu messenden Proben (bei erwarteter hohen Konzentration ggf. verdünnen) im Doppelansatz in die übrigen Wells gegeben. Nach Verschluss der Platte mit einem Klebefilm erfolgte im Anschluss eine 90-minütige Inkubation. Folgend wurde der Film entfernt und die Platte auf saugfähigem Papier ausgeklopft. Dann wurden 0,1 ml der zuvor verdünnten Biotin-Lösung (Biotin-Antikörperkonzentrat und –Verdünnung im Verhältnis 1:100) auf den Boden eines jeden Wells der Platte gegeben und die verschlossene Platte erneut für 60 Min. inkubiert. Nach abgelaufener Zeit erfolgten drei Waschschrte: Zunächst wurde die Platte ausgeklopft, dann mit Waschpuffer gefüllt. Nach zweiminütiger Lagerung auf dem Plattenrüttler bei niedriger Geschwindigkeit, wurde die Platte ausgeklopft und mit Waschpuffer bestückt. Diese Vorgänge waren insgesamt dreimal zu wiederholen.

Nach dem letzten Ausklopfen wurde jedes Well unter Verwendung einer Multipipette mit der zuvor verdünnten ABC-Lösung (ABC-Konzentrat und –Verdünnung im Verhältnis 1:100) versetzt und die Platte im Anschluss abgedeckt für 30 Min. inkubiert. Nach Ablauf der Zeit wurden die o.a. Waschschritte fünffach durchgeführt mit jeweiliger Einwirkzeit des Waschpuffers von 2 Min. Dann wurden mit einer Multipipette 0,1 ml TMB-Substrat in jedes Well gegeben und die Platte abgedeckt erneut für 30 Min. bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Nach Ablauf der Zeit wurden 0,1 ml Stopp-Lösung hinzugegeben, durch Auf- und Abpipettieren gut gemischt und die Platte zeitnah im Plattenlesegerät bei 450 nm Wellenlänge gemessen.

2.9.3.4 SLURP-1 ELISA

Für die Messung der SLURP-1 Konzentration wurde der Human Secreted Ly-6/uPAR-related Protein 1 (SLURP1) ELISA Sandwich Kit (Katalog Nr. CSB-EL021784HU) der Firma Cusabio für humanes Serum, Plasma und Gewebehomogenisate verwendet.

Durchführung:

Zu Beginn wurden auch in diesem Kit die Standards für die Messkurve durch Verdünnen hergestellt. Das Standardkonzentrat wurde 30 Sek. zentrifugiert, um es am Boden des Röhrchens zu fixieren, mit 1 ml des Sample Diluents verdünnt und 15 Min. wiederholt vorsichtig gemischt. Diese Lösung diente als Stocklösung der Standardkurve mit einer Konzentration von 300 ng/ml. Es wurden nun 8 Eppendorf Tubes mit jeweils 250 µl Sample Diluent bestückt. Daraus wurde eine Verdünnungsreihe gebildet; aus der zuvor hergestellten Stocklösung wurden nun 250 µl in das erste Tube pipettiert. Aus diesem Tube wurden wiederum 250 µl in das zweite Tube pipettiert, von diesem dann wieder 250 µl in das dritte Tube. Das achte Tube diente als Null-Standard, es wurde nicht mit verdünnter Stocklösung bestückt.

Im Anschluss wurden je 100 µl der Standardreihe und Proben in die entsprechenden Wells pipettiert, mit Schutzfolie abgeklebt und 120 Min. inkubiert. Während dieser Zeit wurde der Biotin-Antikörper angesetzt. Dazu wurde das Konzentrat zunächst 30 Sek. zentrifugiert um die gesamte Menge am Boden zu konzentrieren. Nun wurden die 110 µl Konzentrat in 10890 µl Biotin-Antikörperverdünnung pipettiert und vermischt.

Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde die 96-Well Platte entleert und dreimal auf Papiertüchern ausgeklopft. Nun wurden 100 µl Biotinantikörper in jedes Well pipettiert, die Platte mit Schutzfolie abgeklebt und 1 Std. inkubiert. Während dieser Zeit wurde die HRP-Avidin-Lösung angesetzt. Dazu wurde das Konzentrat zunächst 30 Sek. zentrifugiert um die gesamte Menge am Boden zu konzentrieren. Im Anschluss wurden die 110 µl Konzentrat in 10890 µl Avidinverdünnung pipettiert und vermischt. Auch der

Waschpuffer wurde durch Überführung des gesamten Inhalts von 20 ml in 500 ml Aqua dest. vorbereitet.

Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde die 96-Well Platte entleert und dreimal mit 200 µl des Waschpuffers unter Verwendung einer Multipipette gewaschen. Der Waschpuffer war zwischen jedem Waschgang für 2 Min. in den Wells zu belassen. Danach wurden 100 µl der HRP-Avidin-Lösung in jedes Well pipettiert, mit einer Schutzfolie abgeklebt und 1 Std. inkubiert.

Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde die 96-Well Platte entleert und fünfmal mit 200 µl des Waschpuffers gewaschen. Der Waschpuffer war zwischen jedem Waschgang für 2 Min. in den Wells zu belassen. Nun wurden 90 µl TMB-Substrat mit einer Multipipette in jedes Well pipettiert und die Platte 30 Min. inkubiert.

Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden 50 µl Stopp-Lösung mit einer Multipipette in jedes Well pipettiert und die Platte zeitnah im Plattenlesegerät bei 450 nm Wellenlänge gemessen.

2.9.4 FACS-Messungen

2.9.4.1 Protokoll zum Auftauen der Zellen

Da die Zellen zur verlängerten Haltbarkeit in flüssigem Stickstoff gelagert wurden, waren zum möglichst zellschonenden Auftauen genau definierte Schritte einzuhalten. Zunächst wurden die auf -196 °C im Stickstoff gekühlten Röhrchen in 20 °C warmen Wasserbad erwärmt, bis in zentral ein Eiskern zu erkennen war. Die Probe wurde dann in ein 50 ml Falconröhrchen überführt und mit einer Pipette tröpfchenweise mit einer Lösung von Nährmedium unter konstantem Schwenken auf 20 ml aufgefüllt. Die Falconröhrchen wurden mit 500 g für 5 Min. zentrifugiert, es bildete sich ein Pellet. Der Überstand wurde abgekippt, das Pellet mit 500 µl Nährmedium aufgefüllt und durch Auf- und Abpipettieren gemischt. 60 µl dieser Lösung wurden im Sysmex auf den Zellgehalt überprüft und auf den Zellinhalt in der Gesamtlösung umgerechnet. Die Gesamtlösung für die zu messenden Zellreihen wurde aufgeteilt: zur Messung der FoxP3 Reihe und der dendritischen Zellen wurden mindestens 1×10^6 Zellen benötigt, für den Immunstatus mindestens $0,5 \times 10^6$. Im Anschluss wurde die errechnete Gesamtzellzahl anhand der geforderten Mindestzellzahl der verschiedenen Zellreihen auf die FACS-Röhrchen aufgeteilt.

2.9.4.2 Messung des Immunstatus

Die Erhebung des Immunstatus wurde nach folgendem Panel vorgenommen:

Tabelle 9: Zuweisung der Färbeantikörper zur Markierung der Monozyten und natürlichen Killerzellen mit den angegebenen Spektren an Wellenlängen

	488 Laser				633 Laser		405 Laser	
Imm. Status	FITC (530)	PE (585)	PerCP (670)	PE-Cy7 (780)	APC (660)	APC-Cy7 (780)	Pacific Blue (450)	BV510 (510)
	CHRNA7 bzw. Isotyp	CD16 (Mono+ NK)	7AAD (vitality)	CD4	CD56 (NK)	CD14 (Monos)	CD3	CD19

Durchführung des Messvorgangs:

Zu den, wie im Auftauprotokoll beschrieben, vorbereiteten FACS-Röhrchen wurden 10 µl AB-Serum hinzugefügt und durch Auf- und Abpipettieren gemischt, um mögliche FC-Bindungen zu blockieren. Im Anschluss erfolgte die Inkubation für 10 Min. Diese und alle weiteren Inkubationen (auch für die anderen Färbungen) erfolgten im Dunkeln unter Raumtemperatur zum Ausschluss einer Veränderung der Färbungen durch Sonnenlicht. Zusätzlich wurde nach gleichem Vorgang ein Isotyp-Röhrchen zur Kontrolle erstellt. Es erfolgte die Zugabe von jeweils 1,25 µl der Antikörper außer 7AAD, da dieser aufgrund seiner erst kurz vor der Messung hinzugefügt werden durfte. CHRNA7 wurde mit paralleler Erstellung eines Isotyp-Röhrchens hinzugefügt. Zur Messung von CHRNA7 bzw. des Isotyps wurde eine Verdünnung im Verhältnis 1:10 mit Staining Buffer vorgenommen. Der Isotyp wurde mit 2 µl dieser Suspension versetzt, die Zielröhrchen mit 20 µl CHRNA7 Suspension. Es erfolgte ein Waschvorgang mit 2 ml Staining Buffer und anschließender Zentrifugation. Dieser und alle folgenden Zentrifugiervorgänge (auch für die anderen Färbungen) erfolgten jeweils für 5 Min. bei 500 g. Dann erfolgten Abschütten des Überstandes und Vortexen. Zur Messung der Zellvitalität wurden 2,5 µl 7AAD Serum hinzugegeben und für 5 Min. inkubiert. Unmittelbar vor der Messung erfolgte das Vortexen. Cutoff der zu messenden Zellen bei $0,5 \times 10^6$ Events.

2.9.4.3 Messung der T-regulatorischen Zellreihen

Für die Messung der T-regulatorischen Zellen wurde die Zuteilung der Antikörper in folgendes Panel vorgenommen:

Tabelle 10: Zuweisung der Färbeantikörper zur Markierung der T-regulatorischen Zellpopulationen

	488 Laser				633 Laser		405 Laser	
T-Regs	FITC (530)	PE (585)	PerC P (670)	PE-Cy7 (780)	APC (660)	APC-Cy7 (780)	Pacific Blue (450)	BV510 (510)
	CD8	CD25	CD4	CD127	FoxP3 bzw Isotyp	CD45RA bzw Isotyp	CD3	CCR4 = CD194

Durchführung des Färbevorgangs:

Die ersten Schritte dieser Messung erfolgten analog zur Messung des Immunstatus bis zur Hinzugabe der Färbeantikörper. Nach Zugabe von jeweils 1,25 µl der oben im Panel angegebenen Antikörper, außer des FoxP3 Antikörpers, erfolgte im Anschluss die Vermischung durch Verwendung eines Vortexers. Der Isotyp wurde hier mit dem Isotyp-CD45RA-Färbeantikörper bestückt und beide Röhrchen für 15 Min. inkubiert. Dann erfolgte ein Waschschrift mit 2 ml Staining Buffer und anschließendem Zentrifugieren. Im Anschluss wurde die Permeabilisation zur späteren Färbung des intrazellulär vorliegenden FoxP3 vorgenommen. Hierzu wurden die Zellen mit 500 µl Fixations- und Permstabilisationslösung (Mischung aus Fix-Permlösung mit Diluent im Verhältnis 1:4) gemischt und 30 Min. inkubiert. Der Vorgang wurde durch Hinzugabe von 1 ml Permeabilisationspuffer beendet, die Röhrchen zentrifugiert und der Überstand abgeschüttet. Dann erfolgte ein intrazellulärer Block der FC-Epitope mit 10 ml AB-Serum und anschließender 15-minütiger Inkubationszeit. Nun wurde die FoxP3-Färbung durch Zugabe von 1,25 µl Antikörper vorgenommen, parallel wurde der Isotyp mit 1,25 µl Iso-Antikörper bestückt. Zur schonenden Vermischung wurden die Röhrchen geschwenkt. Anschließend erfolgte die Inkubation für 30 Min. Es erfolgte ein zweifacher Waschvorgang mit jeweils Hinzugabe von 2 ml Permeabilisationspuffer und Zentrifugation. Nach Abschütten des Überstandes erfolgten die Hinzugabe von 100 µl Stainingbuffer und die Messung im FACS mit einem Cutoff-Wert von 1×10^6 Events. Hier sollte ein Vortexen vor dem Messen vermieden werden um die permeabilisierten Zellen nicht weiter zu schädigen.

2.9.4.4 Messung der dendritischen Zellreihen

Die dendritischen Zellpopulationen wurden nach folgendem Panel gemessen:

Tabelle 11: Zuweisung der Färbeantikörper zur Markierung der dendritischen Zellpopulationen

	488 Laser				633 Laser		405 Laser	
Dendr. Zellen	FITC (530)	PE (585)	PerCP (670)	PE-Cy7 (780)	APC (660)	APC-Cy7 (780)	Pacific Blue (450)	BV510 (510)
	CD304 (pDC/BDCA4)	CD1c (mDC1)	7AAD (vitality)	CD141 (mDC2)	CD11c	CD14	CD86-BV421 bzw. Isoytp	CD19

Durchführung des Färbevorgangs:

Die Schritte bis zur Hinzugabe der Färbeantikörper erfolgten analog zu den Messungen von FoxP3 und Immunstatus. Nach Zugabe von 1,25 µl der Färbeantikörper außer des 7AAD-Serums und Erstellung eines Isotyp-Röhrchens mit dem CD86-BV421 erfolgte die Inkubation für 15 Min. Dann erfolgte ein Waschvorgang 2 ml Staining Buffer und anschließender Zentrifugation. Zur Messung der Zellvitalität wurden 2,5 µl 7AAD-Serum hinzugegeben und für 5 Min. inkubiert. Kurz vor der Messung erfolgte das Vortexen. Der Cutoff der zu messenden Zellen lag bei 1×10^6 Events

2.10 Statistik

2.10.1 Datenmanagement

Zur Standardisierung der erhobenen Datensätze, der Qualitätssicherung und zur Plausibilitätskontrolle wurden die erhobenen Fragebogenscores im Anschluss an die Untersuchungen anonymisiert in eine gesicherte Exceltabelle auf einem autarken Rechner eingetragen, die nach Abschluss der Probandenakquise durch die Ergebnisse der ELISA und FACS-Messungen ergänzt wurde. Zur Vorbereitung der Datenübernahme in die Statistiksoftware wurden abschließend erneute Plausibilitätskontrollen durchgeführt.

2.10.2 Analyseform und Stichprobenumfang

Gemäß der Zielsetzung wurden drei Populationen zur Analyse gebildet. Zur Auswertung wurde die Per-Protocol-Analyse gewählt, der vollständige Ausschluss von Probandendaten wurde neben einer Verletzung der im Kapitel 2.5 aufgeführten Einschlusskriterien zusätzlich bei Auftreten folgender Merkmale vorgenommen:

- Schulungsabbruch bzw. Versäumen des Besuches eines Schulungstermins
- Versäumen einer der Untersuchungstermine
- Abbruch der Schulungs- oder Studienteilnahme auf Patientenwunsch
- Beginn einer oralen, immunomodulatorischen Therapie

2.10.3 Deskriptive Analyse

Die Aufteilung erfolgte in die drei Studienarme, also Neurodermitiker mit Schulungsteilnahme (SND), Neurodermitiker in der Wartegruppe (KND) und hautgesunde Kontrollen (KO). Nach dieser Aufteilung erfolgte die getrennte Analyse der Messdaten. Darüber hinaus wurde die Kollektivbeschreibung insgesamt und getrennt ausgewertet.

Um die Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurden alle Gruppen mittels Kreuztabellen und Varianzanalysen hinsichtlich Geschlechterverteilung, Alter und Body-Mass Index (BMI) verglichen. Für nominal geführte Daten wurde der Chi²-Test durchgeführt, für ordinal skalierte und stetige Daten der Levene-Test der Homogenität von Varianzen sowie die einfaktorielle ANOVA verwendet.

2.10.4 Statistische Auswertung

Aufgrund der gewählten Per-Protocol-Analyse wurde das Risiko für das Auftreten von fehlenden Daten minimiert. Während der Plausibilitätskontrollen fielen keine fehlenden Werte auf.

Um das, für die Auswertung geeignete, Testverfahren zu ermitteln, wurden im Rahmen der deskriptiven Analyse Tests auf Normalverteilung durchgeführt. Aufgrund des kleinen Stichprobenumfangs und den größtenteils nicht kategorialen Daten wurde dazu der Kolmogorov-Smirnov-Tests ausgewählt. Für die überwiegende Anzahl der Variablen wurde die Nullhypothese abgelehnt, sodass von hauptsächlich nicht normalverteilten Werten ausgegangen werden musste. Zur Wahrung der Übersichtlichkeit wurden somit für alle Signifikanztestungen nicht-parametrische Tests ausgewählt.

Zur Verlaufsbeurteilung der Messwiederholungen wurde der Friedman-Test ausgewählt. Dieses Verfahren testet, ob sich die zentralen Tendenzen bei abhängigen Stichproben unterscheiden. Die Gruppenfaktoren waren SND, KND und KO, die Datensätze bestanden aus den Terminen 1, 2 und 3. Wurden signifikante Unterschiede der Lageparameter innerhalb einer Gruppe zwischen den Untersuchungsterminen festgestellt, wurden im Anschluss Post-hoc Analysen durchgeführt. Dazu wurde der

Dunn-Bonferroni-Test verwendet, der mit paarweisen Mittelwertvergleichen Auskünfte über signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Untersuchungsterminen der Gruppen gibt. Die Friedman-Teststatistik wird mit „Q“ angegeben, die Statistik des Dunn-Bonferroni-Tests mit „z“. Die Effektstärke der Post-Hoc Testung wird mit dem Korrelationskoeffizienten „r“ nach Pearson bezeichnet.

Irrtumswahrscheinlichkeiten von $p \geq 0,05$ wurden als signifikant, $p \geq 0.01$ als hochsignifikant angenommen, zwischen $p \leq 0,051$ und $p \geq 0.099$ wurde ein Trend vermutet. In jeder Abbildung wurden die Mittelwerte der Gruppen mit Standardfehler dargestellt, zudem gilt * als signifikant und ** als hochsignifikant.

3 Ergebnisse

3.1 Basisdaten

Zum Zeitpunkt der Anfertigung der Dissertation haben 85 Probanden an der Studie teilgenommen; In die Ergebnisauswertung eingeschlossen werden konnten 14 Männer und 41 Frauen mit einem Altersdurchschnitt von 31 Jahren. Mit Kreuztabellen und dem Chi²-Test konnten signifikante Unterschiede in der Geschlechtsverteilung ausgeschlossen werden. Die Verteilungen des Body-Mass-Index (BMI) und des Bildungsniveaus wurden mittels Test der Homogenität der Varianzen und einfaktorier ANOVA untersucht. Auch hier zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 12: Basisdaten aller Studienteilnehmer und deren Verteilung über die verschiedenen Gruppen (Angaben in Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD))

		Insgesamt	Schulungsgruppe (SND)	Kontrollgruppe AD (KND)	Kontrollgruppe Gesund (KO)	Ergebnis der stat. Testung
Teilnehmer inkl. Dropouts		85	45	20	20	
Eingeschlossene Teilnehmer		55	16	19	20	
Geschlecht (m / w), Angabe zus. in %		14 (25,5) / 41 (74,5)	3 (18,8) / 13 (81,2)	5 (26,3) / 14 (73,7)	6 (30) / 14 (70)	$\chi^2(1) = 0,559$, exaktes p = 0,391
Alter	MW	30,83	33,63	29,53	29,85	Levene p = 0,192 F (1,53) = 0,242, p= 0,624
	SD	11,2	14,19	9,98	9,53	
BMI	MW	23,41	23,05	24,47	22,71	Levene p = 0,684 F (1,53) = 0,827, p= 0,137
	SD	4,38	4,34	4,83	3,98	

3.2 Untersuchungsergebnisse

3.2.1 Primärer Zielparameter SCORAD

Primärer Zielparameter zur Bewertung des Schulungserfolgs war der Verlauf des SCORAD über einen Zeitraum von 3 Monaten. Der Friedman-Test ergab signifikante Gruppendifferenzen der SND-Gruppe ($Q(2) = 15,5$; $p < 0,001$; $n = 16$), jedoch nicht für die Gruppen KND ($Q(2) = 0,947$; $p = 0,623$; $n = 19$) und KO ($Q(2) = 0,0$; $p = 1$; $n = 20$). Die im Anschluss durchgeführten Post-hoc-Tests (Dunn-Bonferroni-Tests) zeigten, dass sich die Verteilungen von Termin 2 und 3 signifikant von Termin 1 unterschieden ($T1/T2$: $z = 2,475$, $p = 0,013$; $T1/T3$: $z = 3,889$, $p < 0,001$; $T2/T3$: $z = 1,414$, $p = 0,472$) und das mit einem starken Effekt von $r = 0,97$.

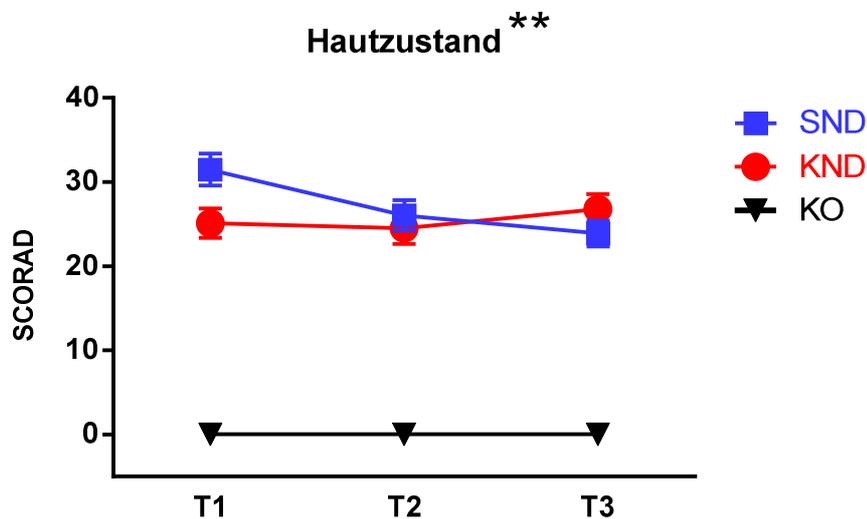


Abbildung 6: Dimensionslose SCORAD Werte (MW, SEM) über die Termine 1, 2 und 3 (T1, T2, T3) separiert nach Schulungsteilnehmern (SND) und erkrankte (KND) und gesunde Kontrollen (KO). ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$

Zur verbesserten Übersicht werden im Folgenden lediglich Trends und signifikante Ergebnisse der Interventionsgruppe ausführlich besprochen, die Darstellung aller weiteren Ergebnisse erfolgt in Tabellen.

3.2.2 Fragebögen

Der Friedman-Test zur Auswertung des empfundenen Juckreizes ergab für die SND-Gruppe signifikante Unterschiede in den Varianzen ($Q(2) = 15,52$; $p = 0,002$; $n = 16$), jedoch nicht für die Gruppen KND ($Q(2) = 2,233$; $p = 0,327$; $n = 19$) und KO ($Q(2) = 0,0$; $p = 1$; $n = 20$). Die im Anschluss durchgeführten Dunn-Bonferroni-Tests zeigten, dass sich die Verteilung von Termin 3 zu Termin 1 signifikant unterschied ($T1/T2$: $z = 1,945$, $p = 0,155$; $T1/T3$: $z = 3,094$, $p = 0,06$; $T2/T3$: $z = 1,149$, $p = 0,752$) und das mit einem starken Effekt von $r = 0,77$. Auch hier zeigt sich somit ein signifikanter Abfall des Juckreizes in der Interventionsgruppe SND.

Bezüglich der Lebensqualität, gemessen mit dem ACSA-Score zeigte sich ein Trend ohne Signifikanz ($Q(2) = 5,481$; $p = 0,065$; $n = 16$). So wiesen auch die Gruppen KND ($Q(2) = 0,492$; $p = 0,782$; $n = 19$) sowie KO ($Q(2) = 3,825$; $p = 0,148$; $n = 20$) keine signifikanten Varianzunterschiede auf.

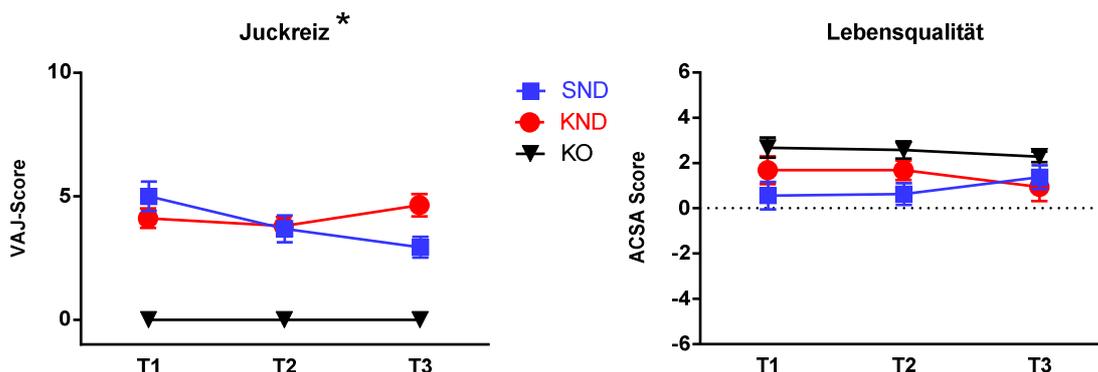


Abbildung 7: Dimensionslose Werte (MW, SEM) von Juckreiz und ACSA-Score zur Lebensqualität über den Studienverlauf. ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$

Lediglich die Scores des STAI-X1 Fragebogen, der die Angst als Zustand behandelt, zeigten signifikante Differenzen in der Gruppe SND ($Q(2) = 7,065$; $p = 0,029$; $n = 16$). Die Post-hoc Analyse erbrachte den Unterschied zwischen Termin 1 und 3 ($T1/T2$: $z = 2,121$, $p = 0,102$; $T1/T3$: $z = 2,386$, $p = 0,05$; $T2/T3$: $z = 0,265$, $p = 1,0$) und das mit einem starken Effekt von $r = 0,6$. Zudem fanden sich Differenzen innerhalb der Gruppe KO ($Q(2) = 15,579$; $p < 0,001$; $n = 20$). Post-hoc zeigte dass sich die Verteilungen der Termine 1 und 2 von Termin 3 signifikant unterschieden ($T1/T2$: $z = 0,316$, $p = 0,752$; $T1/T3$: $z = -3,162$, $p = 0,005$; $T2/T3$: $z = -3,479$, $p = 0,002$).

Ergebnisse

Auch weiterhin zeigte sich ein deutlicher Unterschied in den Ergebnissen der stress- und angst-bezogenen Fragebögen in der gesunden Kontrollgruppe KO. Auf die Darstellung weiterer Berechnungen wurde hier verzichtet, es wird jedoch hier auf die Diskussion verwiesen.

Tabelle 13: Vergleich der Ergebnisse der Fragebogenauswertung innerhalb der Gruppen SND, KND und KO über die Zeitpunkte (Termine) 1, 2 und 3. Statistischer Test: Friedman. Angabe von Teststatistik Q und Signifikanz p. Signifikanzen und Trends sind fett markiert

Untersuchtes Merkmal	SND		KND		KO	
	Q	p	Q	p	Q	p
STAI - X2 Trait	3.180	0.204	1.211	0.546	9.026	0.011
PSQ - Gesamt	0.290	0.865	0.187	0.911	17.949	<0,001
PSQ - Sorgen	0.154	0.926	0.939	0.625	6.738	0.034
PSQ - Anspannung	0.37	0.982	2.935	0.230	6.290	0.043
PSQ - Freude	0.34	0.983	3.970	0.137	16.116	<0.001
PSQ - Anforderungen	0.36	0.982	5.292	0.071	2.171	0.338
DHS	1.368	0.504	0.478	0.788	8.129	0.017
DUS	0.230	0.892	6.320	0.042	4.405	0.111
COPE - Focus on Positive	4.508	0.105	0.636	0.727	4.027	0.134
COPE - Support Seeking	2.873	0.238	2.896	0.235	4.594	0.101
COPE - Active Coping	0.441	0.802	2.030	0.362	0.806	0.668
COPE - Evasive Coping	2.333	0.311	3.909	0.142	1.029	0.598
COPE - Alcohol and Drugs	2.426	0.292	0.333	0.846	2.000	0.368
SWOP - Selbstwirksamkeit	1.529	0.465	1.651	0.438	4.415	0.110
SWOP - Optimismus	1.824	0.402	0.043	0.979	0.065	0.968
SWOP - Pessimismus	0.350	0.839	2.930	0.231	0.120	0.942
BRCS	0.943	0.624	0.700	0.705	1.194	0.551
RSES	0.233	0.890	0.394	0.821	0.889	0.641
SF-12 - physical Health	2.317	0.314	2.960	0.228	7.479	0.024
SF-12 - mental Health	2.508	0.285	8.667	0.013	0.575	0.750

Ergebnisse

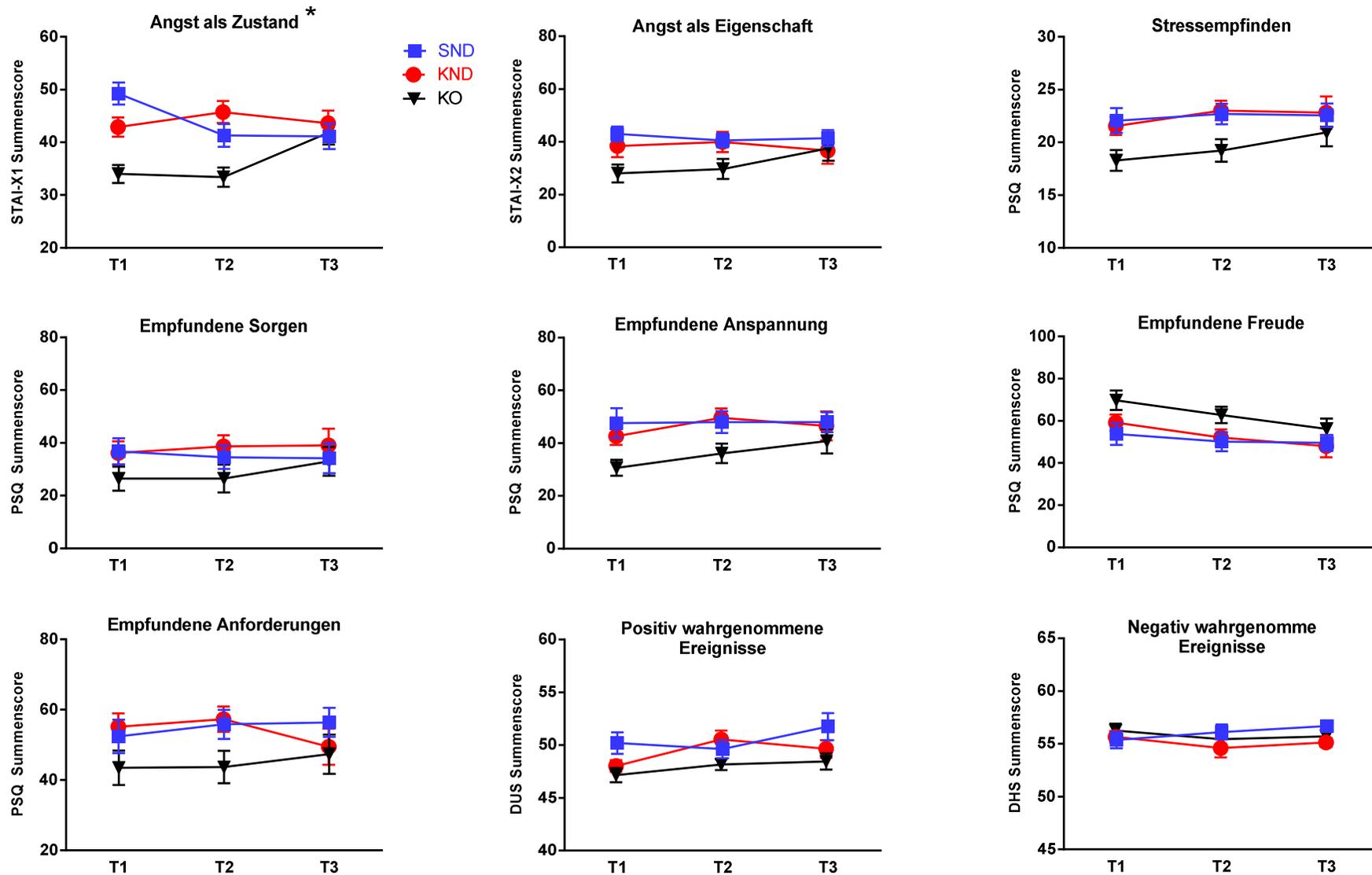


Abbildung 8: Dimensionslose Werte der Fragebogenscores STAI-X, PSQ-30 und DHUS zur Erfassung von Stress- und Angstempfinden (MW; SEM). ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$

Ergebnisse

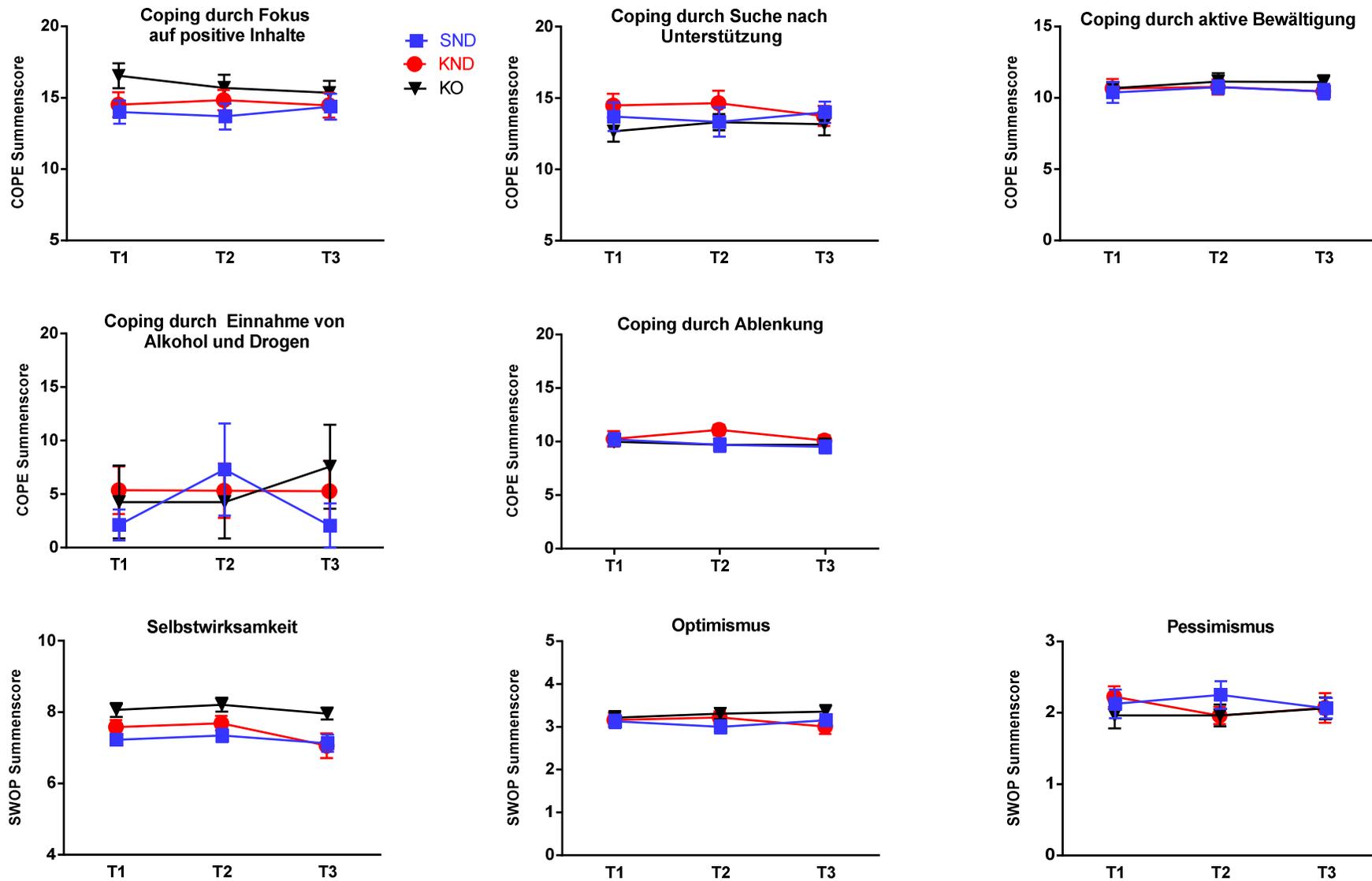


Abbildung 9: Dimensionslose Werte der Fragebogenscores COPE und SWOP-K9 zur Erfassung des Copingverhaltens über den Studienverlauf (MW; SEM). ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$

Ergebnisse

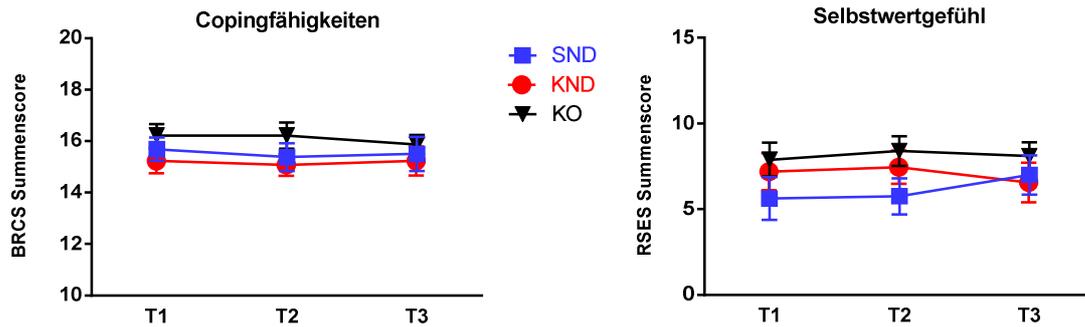


Abbildung 10: Dimensionslose Werte der Fragebogenscores BRCs und RSES zur weiteren Erfassung des Copingverhaltens über den Studienverlauf (MW; SEM)

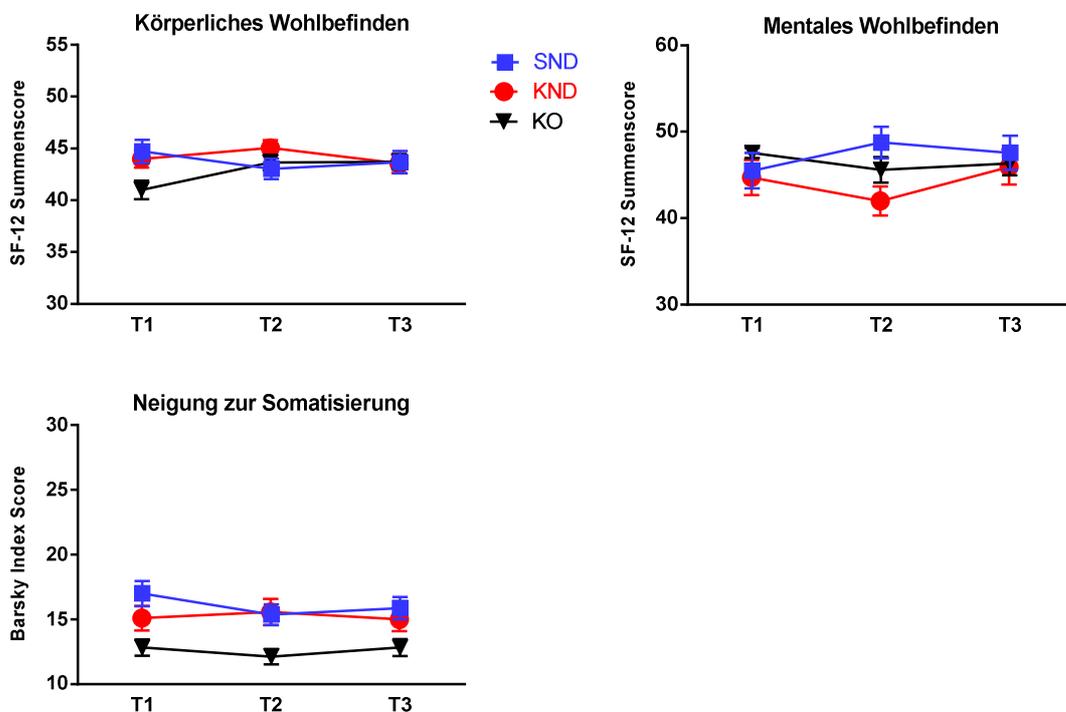


Abbildung 11: Dimensionslose Werte der Fragebögen-scores zur Erfassung der empfundenen Gesundheit und der Somatisierungsneigung über den Studienverlauf (MW; SEM). ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$

3.2.3 Cortisol, BDNF, SLURP-1 und IgE

Die Serumkonzentration des Stressmediators Cortisol zeigte in ihrem Verlauf in der Schulungsgruppe einen Abfall, der sich jedoch statistisch nicht signifikant untermauern ließ ($Q(2) = 2,625$; $p = 0,269$; $n = 16$). Auch in den Kontrollgruppen konnten keine signifikanten Differenzen der Verteilung nachgewiesen werden.

Ergebnisse

Dies gilt auch für die Verläufe der Serumkonzentrationen für BDNF, IgE und SLURP-1. Sie zeigten keine signifikanten Änderungen der Verteilungen.

Tabelle 14: Vergleich der Ergebnisse der Auswertungen der Serumkonzentrationen von Cortisol, IgE, BDNF und SLURP-1 innerhalb der Gruppen SND, KND und KO über die Zeitpunkte (Termine) 1, 2 und 3. Statistischer Test: Friedman. Angabe von Teststatistik Q und Signifikanz p. Signifikanzen und Trends sind fett markiert

Untersuchtes Merkmal	SND		KND		KO	
	Q	p	Q	p	Q	p
Cortisol	2.625	0.269	1.263	0.532	2.100	0.350
IgE	0.571	0.751	1.500	0.472	2.372	0.057
BDNF	2.889	0.236	1.307	0.520	1.641	0.440
SLURP-1	0.875	0.646	3.595	0.166	4.000	0.135

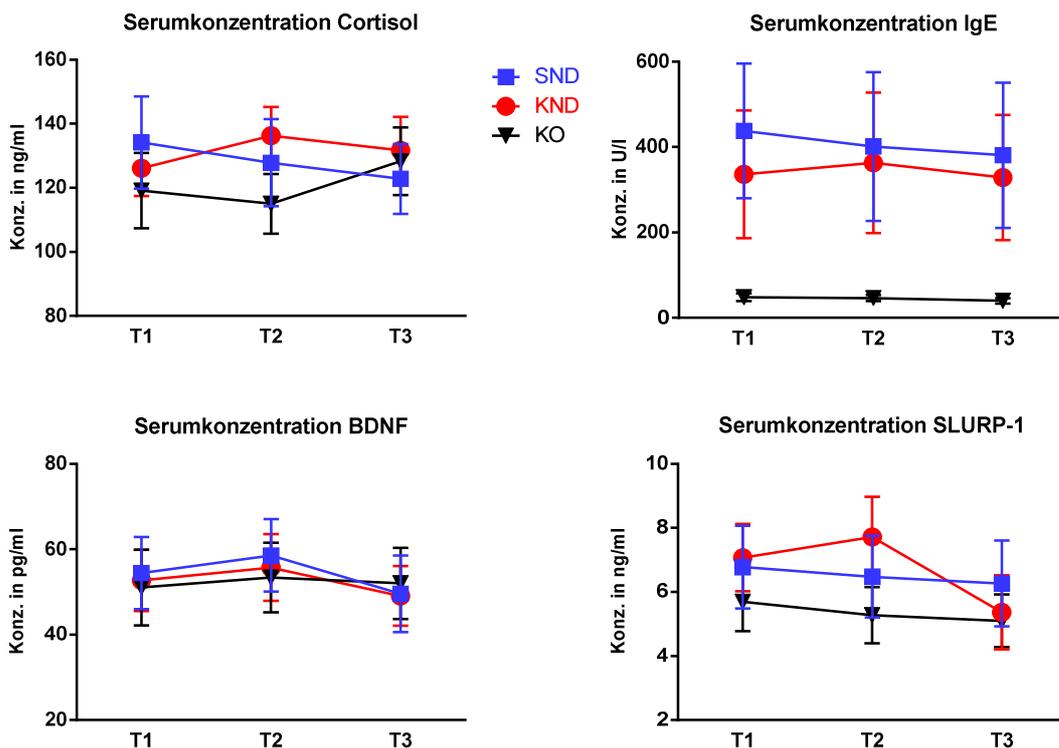


Abbildung 12: Darstellung der Serumkonzentrationen über den Studienverlauf (MW; SEM). Anpassung der Skalenwerte zur besseren Darstellung. ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$

3.2.4 Immunstatus

Bei der Untersuchung des Immunstatus zeigten sich signifikante Differenzen der Schulungsgruppe in den Verteilungen der T-Helferzellen ($Q(2) = 7,651$; $p = 0,022$; $n = 16$). Die Post hoc Analyse ergab einen Unterschied der Verteilungen zwischen T1 und T3 (T1/2: $z = -1,503$, $p = 0,399$; T1/3: $z = -2,740$, $p = 0,018$; T2/T3: $z = -1,237$, $p = 0,0648$). Zusätzlich zeigten sich Differenzen in der KO-Gruppe ($Q(2) = 6,333$; $p = 0,044$; $n = 20$), die Post-hoc nicht signifikant bestätigt werden konnten (T1/2: $z = -2,135$, $p = 0,098$; T1/3: $z = 0$, $p = 1$; T2/T3: $z = -2,135$, $p = 0,99$).

Die Verteilungen der intermediären Monozyten unterschieden sich im Friedman-Test signifikant ($Q(2) = 8,667$; $p = 0,013$; $n = 16$). Post-hoc zeigten sich die Unterschiede zwischen Termin 1 und 3 signifikant (T1/2: $z = 1,326$, $p = 0,555$; T1/3: $z = 2,917$, $p = 0,011$; T2/T3: $z = 1,591$, $p = 0,335$) und das mit einem starken Effekt von $r = 0,6$.

Die Verteilungen der T-Lymphozyten zeigten in der Schulungsgruppe einen nicht-signifikanten Trend ($Q(2) = 5,429$; $p = 0,066$; $n = 16$), so boten auch die B-Lymphozyten lediglich einen Trend ($Q(2) = 4,874$; $p = 0,087$).

Tabelle 15: Vergleich der Ergebnisse der Auswertungen des Immunstatus innerhalb der Gruppen SND, KND und KO über die Zeitpunkte (Termine) 1, 2 und 3. Statistischer Test: Friedman. Angabe von Teststatistik Q und Signifikanz p. Signifikanzen und Trends sind fett markiert

Untersuchtes Merkmal	SND		KND		KO	
	Q	p	Q	p	Q	p
T-Suppressorzellen	0.875	0.646	1.307	0.520	2.104	0.349
Natürl. Killerzellen	3.460	0.177	10.526	0.005	0.700	0.705
Monozyten	3.500	0.174	7.053	0.029	2.605	0.271
Klass. Monozyten	1.810	0.405	0.737	0.692	6.911	0.032
Nicht klass. Monozyten	1.125	0.570	1.147	0.564	2.100	0.350

Ergebnisse

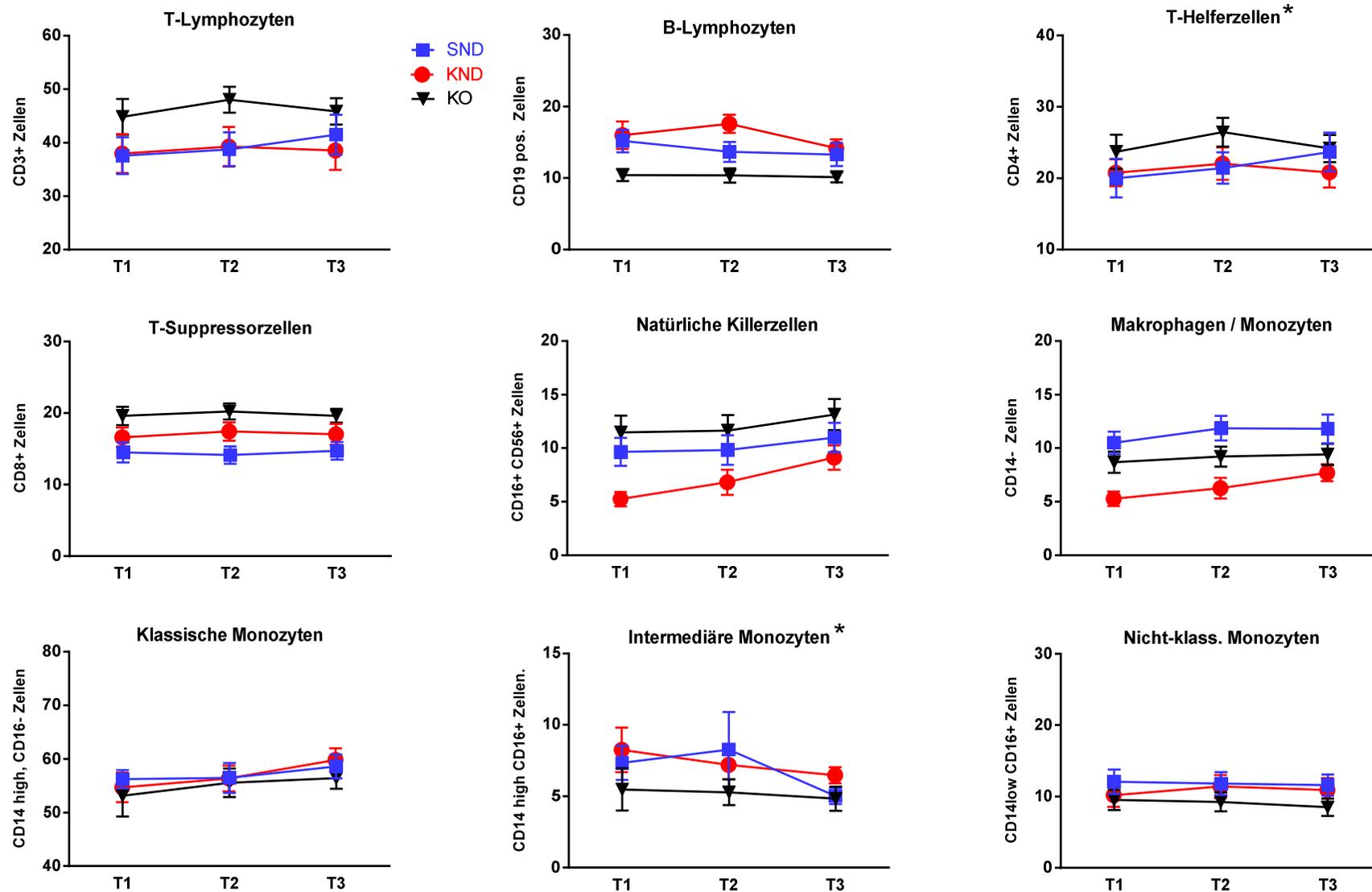


Abbildung 13: Darstellung der Populationen von Lymphozyten und Monozyten in Prozent ihrer Mutterkonzentrationen über den Studienverlauf (MW; SEM). ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$

3.2.5 T-regulatorische Lymphozyten

Auch in den Populationen der T-regulatorischen Zellen zeigten sich Veränderungen in den Verteilungen über den Verlauf, so wiesen die naiven Gedächtniszellen Differenzen auf ($Q(2) = 7,875$; $p = 0,02$; $n = 16$). Dunn-Bonferroni zeigte, dass die Signifikanz zwischen den Terminen T1 und T3 lag (T1/2: $z = -2,121$, $p = 0,102$; T1/3: $z = -2,652$, $p = 0,024$; T2/T3: $z = 0,596$) und das mit einem starken Effekt von $r = 0,72$. Darüber hinaus wiesen die Verteilungen in den Populationen der FoxP3-positiven T-regulatorischen Lymphozyten signifikante Differenzen auf ($Q(2) = 9,880$; $p = 0,007$; $n = 16$). Post-hoc zeigte sich die Signifikanz zwischen den Terminen 2 und 3, zwischen Termin 1 und 3 konnte ein Trend erhoben werden (T1/2: $z = -0,354$, $p = 1$; T1/3: $z = 2,210$, $p = 0,081$; T2/T3: $z = 2,563$, $p = 0,031$). Auch konnte ein Trend ohne Signifikanz in den Verteilungen der KO-Gruppe festgestellt werden ($Q(2) = 5,250$; $p = 0,072$; $n = 20$). Ein weiterer Trend der SND-Gruppe konnte zudem in den FoxP3-like T-regulatorischen Zellen aufgezeigt werden ($Q(2) = 5,365$; $p = 0,068$; $n = 16$).

Tabelle 16: Vergleich der Ergebnisse der Auswertungen der T-regulatorischen Zellpopulationen innerhalb der Gruppen SND, KND und KO über die Zeitpunkte (Termine) 1, 2 und 3. Statistischer Test: Friedman. Angabe von Teststatistik Q und Signifikanz p. Signifikanzen und Trends sind fett markiert

Untersuchtes Merkmal	SND		KND		KO	
	Q	p	Q	p	Q	p
T-reg. Lymphozyten	2.317	0.314	1.947	0.378	2.026	0.363
Aktiv. T-reg. Lymphozyten	0.125	0.939	1.368	0.504	0.718	0.698
Naive T-reg. Lymphozyten	0.903	0.637	0.827	0.661	0.333	0.846
Aktiv. Gedächtniszellen	2.625	0.269	6.587	0.037	2.456	0.293

Ergebnisse

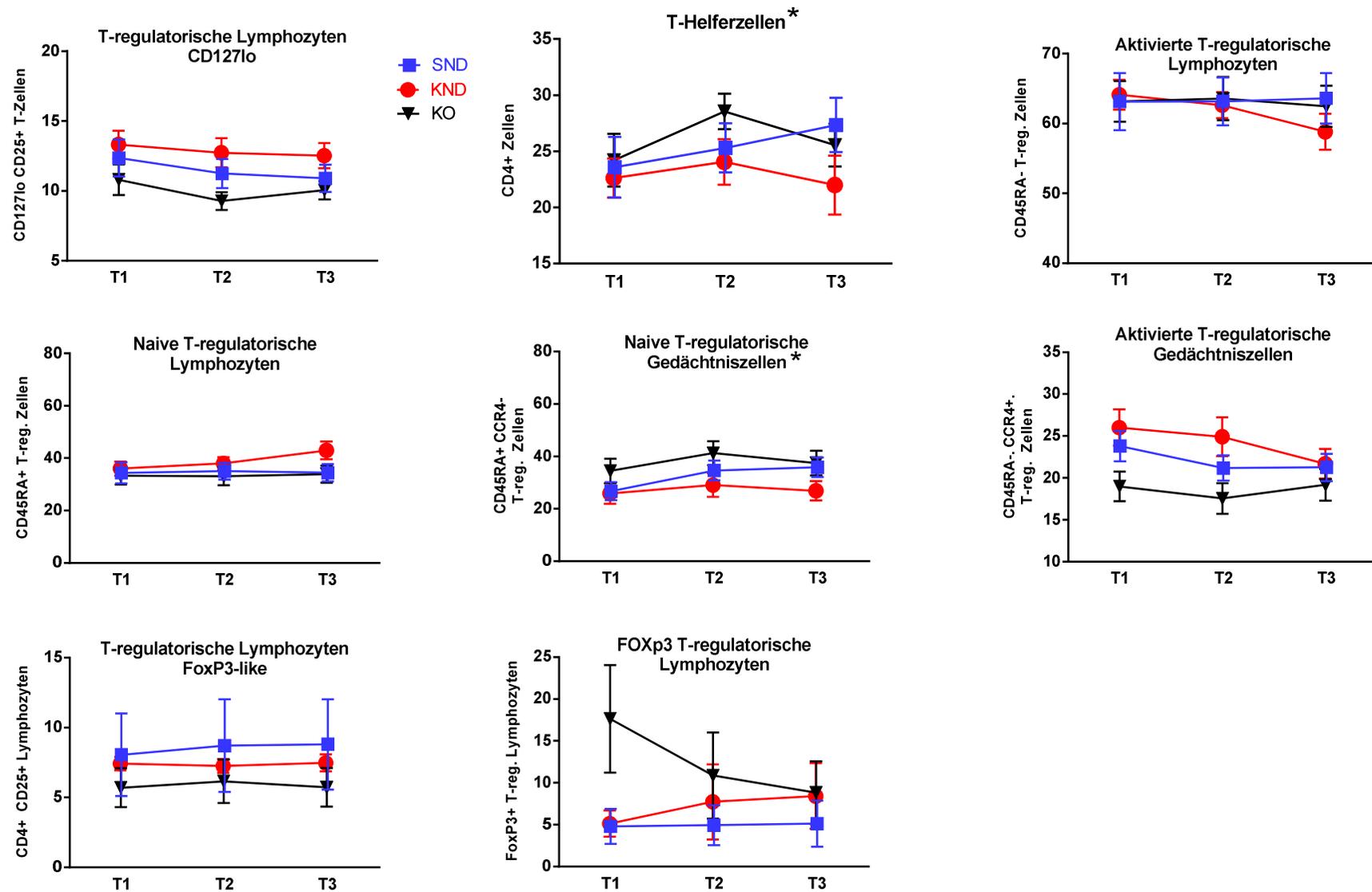


Abbildung 14: Darstellung der Populationen von T-regulatorischen Zellen in Prozent ihrer Mutterkonzentrationen über den Studienverlauf (MW; SEM). ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$

3.2.6 Dendritische Zellen

Lediglich in den Verteilungen der pDCs konnte ein nicht signifikanter Trend festgestellt werden ($Q(2) = 5,444$; $p = 0,066$).

Tabelle 17: Vergleich der Ergebnisse der Auswertungen der dendritischen Zellpopulationen innerhalb der Gruppen SND, KND und KO über die Zeitpunkte (Termine) 1, 2 und 3. Statistischer Test: Friedman. Angabe von Teststatistik Q und Signifikanz p. Signifikanzen und Trends sind fett markiert

Untersuchtes Merkmal	SND		KND		KO	
	Q	p	Q	p	Q	p
aktivierte pDC	2.495	0.292	1.040	0.595	5.246	0.073
naive pDC	0.388	0.144	1.040	0.596	5.189	0.074
myel. dendritische Zellen 1 (mDC1)	2.302	0.316	0.444	0.801	1.033	0.597
aktivierte mDC1	1.125	0.570	2.842	0.241	2.800	0.247
naive mDC1	1.125	0.570	1.263	0.532	2.800	0.247
myel. Dendritische Zellen 2 (mDC2)	0.560	0.756	1.550	0.461	4.667	0.97
aktivierte mDC2	2.800	0.247	1.541	0.463	0.312	0.856
naive mDC2	2.625	0.269	3.000	0.223	0.795	0.672

Ergebnisse

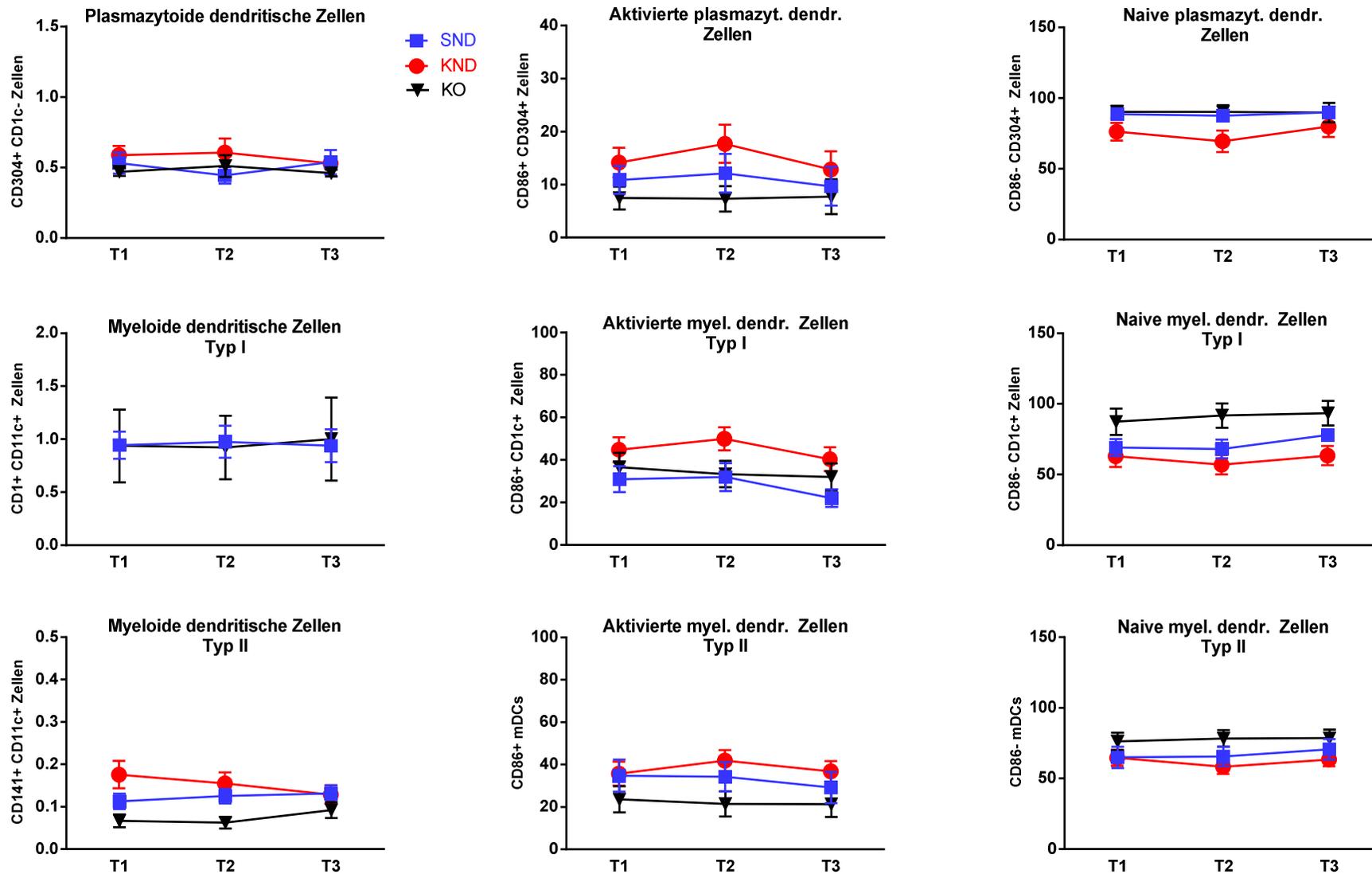


Abbildung 15: Darstellung der Populationen der dendritischen Zellen in Prozent ihrer Mutterkonzentrationen über den Studienverlauf (MW; SEM). ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$

3.3 Unerwartete Ereignisse

Während der Erhebung und späteren Auswertung der Daten traten mehrere unerwartete Beobachtungen zutage, auf die im Folgenden genauer eingegangen wurde. Problematisch stellte sich zu Beginn der Studie die besonders hohe Dropoutrate in der SND-Gruppe zwischen zweitem und drittem Untersuchungstermin dar. Insgesamt kamen 29 der insgesamt 45 Schulungsteilnehmer nicht zum letzten Untersuchungstermin und mussten somit aus der Studie ausgeschlossen werden. Im Verlauf der Studie konnte durch verbessertes Informationsmanagement und dem Erhalt einer Aufwandsentschädigung nach dem absolvierten dritten Untersuchungstermin die Dropoutrate gesenkt werden. Ferner wurde in der Auswertung sichtbar, dass die Schulungsteilnehmer im klinischen Gesamtbild – das zeigen auch die Untersuchungsparameter - schwerer erkrankt waren als die Kontrollteilnehmer. Am Termin 1 zeigten sich deutliche Unterschiede im Hauptzielparameter SCORAD, jedoch auch in Juckreiz-, Stress- und Angstwerten sowie in den Serumkonzentrationen von Cortisol und IgE. So litten die AD-Patienten in der Kontrollgruppe unter niedrigeren SCORAD- und Juckreizwerten, als auch verminderten Angst- und Stresswerten. Auch die Cortisol- und IgE-Levels waren in der AD-Kontrollgruppe vermindert. Während der FACS-Messungen des nAChR α 7 fiel auf, dass der identifizierende Antikörper zu unspezifisch band, sodass die Kontrollen mittels des Isotyps positiver ausfielen und die Messergebnisse somit nicht verwertet werden konnten. Des Weiteren zeigte sich, dass die hautgesunden Probanden zwischen Termin 2 und 3 zunehmend Stress ausgesetzt waren. Signifikante Unterschiede mit einem Anstieg wurden besonders in den Verteilungen der Fragebögen zum Stress- und Angsterleben PSQ-30 und STAI-X sowie in der Cortisolkonzentration sichtbar. Auf die hier beschriebenen Beobachtungen und deren mögliche Effekte wird in späteren Teilen der Dissertation genauer eingegangen. Hierzu wird auf die Diskussion verwiesen.

4 Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war, klinische und laborchemische Effekte eines Schulungsprogramms auf den Krankheitsverlauf zu untersuchen. Gleichwohl sollten sich in der aktuellen wissenschaftlichen Diskussion befindliche Parameter als mögliche diagnostische Werkzeuge validiert und Verbindungen unter diesen aufgezeigt werden. Hierzu wurde eine große Menge Parameter aus unterschiedlichen Feldern erhoben, deren komplexes Zusammenspiel es zu untersuchen galt. Auf der einen Seite stehen die laborchemischen Fakten aus den ELISA- und FACS-Messungen, auf der anderen Seite die Fragebögen mit Aussagen über eigenes Empfinden sowie psychopathologische Vorgänge. Über allem steht die klinische Einschätzung der Krankheits- und Entzündungsaktivität. Die Arbeit ist ein Produkt aus der komplexen Verflechtung der Bereiche Psychosomatik und Immunologie.

4.1 Diskussion der Ergebnisse

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die Schulungsmaßnahme einen eindeutigen Effekt auf den Entzündungszustand der Patienten hat. Darüber hinaus zeigt sich, dass die Besserung des Hautzustandes möglicherweise weniger auf dem psychischen Stresserleben beruht, als auf Änderung der Stresswahrnehmung. Zudem zeigen sich Veränderungen der Immunzellpopulationen, die Erklärungsmöglichkeiten für die klinische Besserung der AD bieten.

Die einzelnen Abschnitte der Zielsetzung der Arbeit werden in den folgenden Abschnitten diskutiert und in den Kontext aktueller wissenschaftlicher Ergebnisse eingebettet.

4.1.1 Der Hautzustand verbessert sich durch die Schulungsteilnahme

Als primärer Zielparameter wurde aufgrund seiner universellen Vergleichbarkeit der SCORAD-Index ausgewählt. Es zeigt sich, dass sich hier eine signifikante Verminderung des Entzündungszustandes der Haut einstellt. Dies geht mit einer signifikanten Reduktion des Juckreizes und einem Trend in der Verbesserung der empfundenen Lebensqualität einher. Die Verminderung des Juckreizes ist seit Beginn der Schulungstherapie das Hauptziel, denn dadurch kann der Kreislauf auf Hautverletzung und Exazerbation der Symptomatik unterbunden werden [192].

In diesem Jahr konnten die Ergebnisse einer großen, multizentrischen Studie veröffentlicht werden [43]. Auch hier wurde der langfristige Erfolg der Schulungsmaßnahmen untersucht, im Ergebnis zeigten sich signifikant bessere SCORAD-Werte nach einem Jahr. Auch die Krankheitslast, erfragt über den

Skindex-29 Fragebogen, sank, sodass sich die Lebensqualität verbesserte. Der Fragebogen geht intensiver auf den täglichen Einfluss der Erkrankung auf den Alltag ein [193], im Vergleich dazu wurde in der vorliegenden Arbeit die aktuelle Lebensqualität im Rahmen des ACSA-Scores mit der jeweils erlebten schönsten bzw. schlimmsten Zeit der Probanden verglichen.

Zudem fällt in der oben angeführten Arbeit auf, dass die Autoren auch über einen Abfall der Krankheitsaktivität in der Kontrollgruppe berichten, ein Phänomen, was sich auch in den Auswertungen der hier vorliegenden Arbeit zeigt. Diverse Studien über behaviorale und medikamentöse AD-Therapien zeigen positive Effekte auf den Krankheitsverlauf in Kontrollgruppen ohne Intervention [194], [195] und [196]. Diese Phänomene sind in der Psychosomatik zum Teils stark ausgeprägt, da allein durch die vermehrte Aufmerksamkeit und Zuwendung zum Patienten durch das Studienpersonal ein nicht zu unterschätzender Therapieeffekt auszumachen ist [197], [198].

Die klinische Besserung des Hautzustandes und die Verminderung des Juckreizes sind eindeutig positive, langfristige Konsequenzen der Teilnahme an der Schulungsmaßnahme. Im Folgenden sollen die Nebenzielparameter genauer diskutiert werden, um Hinweise auf mögliche Erklärungen für die Besserungen zu finden und ein tieferes Verständnis für dieses Krankheitsbild zu entwickeln.

4.1.2 Verminderte Ängstlichkeit durch signifikanten Abfall des STAI-X1 Scores

In der vorliegenden Arbeit zeigt sich ein signifikanter Abfall des täglichen Angsterlebens im Rahmen des STAI-X1 Fragebogens. Interessanterweise konnte in der Studie von Heratizadeh et. al. diese signifikante Reduktion der Ängstlichkeit und Besorgnis nicht gezeigt werden. Signifikante Verbesserungen dieser Parameter wiederum konnten in Studien mit Entspannungstechniken sowie Strategien zur Juckreizverminderung und Kratzkontrolle, die auch Teil der Schulung, über die in der hier vorliegenden Arbeit berichtet wurde, nachgewiesen werden [172], [47], und [46]. Grundsätzlich lässt sich hier durchaus die These vertreten, dass durch die Reduktion der AD-Symptome mit Verbesserung des Hautzustandes auch die Angst vor der Erkrankung zurückgeht. Dies hat augenscheinlich auch Auswirkungen auf weitere ängstigende Einflüsse.

Hinsichtlich der in Kapitel 1.2.2 erläuterten Übererregbarkeit der SA-Achse bei Atopikern ließe sich auch ein weiterer Argumentationsweg einschlagen, nämlich dass die verminderten Angstgefühle durch ein therapieinduziertes Absinken der SA-Aktivität hervorgerufen werden. In der Literatur finden sich dazu widersprüchliche Ergebnisse,

so konnten Studien mehrfach eine Verbindung zwischen SA-Achse und Angstgefühlen in Experimenten unter Stressexposition aufzeigen [199], [200], Studien mit gleichen Designs fanden jedoch diese Verbindung nicht [81] und [201]. Die teilweise sehr geringen Stichprobenumfänge von unter 10 Probanden mindern die Aussagekraft dieser Studien. Eine neuere Studie konnte zeigen, dass Patienten mit saisonaler, allergischer Rhinitis zeitweise ein ähnliches Angstprofil wie AD-Patienten boten. Da die Allergiestadien zeitlich begrenzt sind, spricht dies für die Möglichkeit, dass äußere Faktoren kurzfristige Einflüsse auf die Angstwahrnehmung haben können und die Veränderungen somit reversibel sind [63]. Da in der vorliegenden Studie die Effekte der SA-Achse nicht gemessen wurden, können keine direkten Aussagen dazu gemacht werden. Trotz allem ermöglicht die These, dass die Übererregbarkeit der SA-Achse vermehrte Angst auslöst, einen Erklärungsansatz für das Phänomen der gesunkenen Angstempfindung bei gleichgebliebener Stressempfindung. So kann angenommen werden, dass die Quantität des empfundenen Stresses unverändert geblieben ist, der Patient jedoch aufgrund einer geminderten SA-Aktivität diesen weniger negativ bzw. ängstlich empfindet. Dafür finden sich weitere Tendenzen als mögliche Belege: Zum einen steigt die Anzahl positiv wahrgenommener Ereignisse, die Gegenstand des DHUS-Fragebogens sind, zum anderen nimmt das Selbstwertgefühl der RSE-Skala zu. Die grundsätzliche Zufriedenheit der Erkrankten mit Einflüssen aus dem Alltag und mit sich selbst nimmt also zu. Kritisch zu hinterfragen ist, ob diese Scores langfristige Veränderungen abbilden vermögen. Insbesondere ist das DHUS-Fragebogenset in der Vergangenheit häufig bei tagebuchbasierten Studien zum Einsatz gekommen, die Veränderungen zeitlich höher aufgelöst betrachten [57], [202]. Auch zeigt sich ein Absinken des BI-Scores, also ein Rückgang der Somatisierungsneigung. An chronischen Erkrankungen leidende Patienten bauen häufig nicht zu unterschätzende Beziehungen zwischen dem körperlichen und dem mentalen Gesundheitsgefühl auf; so können beispielsweise äußere Stressoren anstelle von inneren Konflikten für eine AD-Exazerbation verantwortlich gemacht werden. Dies führt zu einer vermehrten Sensibilität auf äußere Einflüsse, also indirekt auch zur verstärkten Wahrnehmung von äußerem Stress, was wiederum das Risiko einer Exazerbation erhöht [67]. Wenn äußere Stressoren aufgrund einer veränderten Wahrnehmung nun weniger negativ bewertet werden, könnte das Risiko für das Entstehen eines solchen Teufelskreises vermindert werden. Für zukünftige Fragestellungen wäre hier interessant, die in den Experimenten zur Übererregbarkeit der SA-Achse angewendeten Stresstests [62] bei AD-Patienten vor und nach der Schulungsteilnahme durchzuführen um Effekte auf die Sekretionsmuster der Stresshormone nachweisen zu können.

4.1.3 Keine Änderungen der Stress- und Copingscores

Wie bereits angesprochen, veränderten sich die Werte des empfundenen Stresses im PSQ-30 nicht oder lediglich kaum. Darüber hinaus zeigten auch die Werte zum Coping, also der Stressverarbeitung keine Veränderungen. Dies ist eine interessante Beobachtung, verhält sie sich doch gegenteilig zu den allgemein angenommenen Thesen zum Therapiemechanismus und -erfolg von Schulungsprogrammen [41], [66]. Offenkundig könnte man hier argumentieren, dass die verwendeten Fragebögen Stress- und Copingverhalten nicht sensitiv genug erfassten, diese These ist jedoch mittels umfangreichem Einsatz und Validierung widerlegt [203], [204]. Hinsichtlich des mit dem in der Vorgeschichte vielfach eingesetzten PSQ-30 ermittelten Stressempfindens lässt sich also mit relativer Sicherheit schließen, dass die Teilnehmer der Gießener Neurodermitisschulung durch die Intervention keine Reduktion des empfundenen Stresses erfahren haben. Es liegt auf der Hand, dass eine Schulungsmaßnahme die Zahl der üblichen Alltagsstressoren, beispielsweise aus Familie oder Beruf, nicht beeinflussen, zumindest nicht reduzieren kann. Trotzdem kann davon ausgegangen werden, dass durch den Wegfall oder zumindest die Reduktion des Stresses der Krankheitssymptome mehr Kapazitäten zur Bewältigung der übrigen Stressoren verfügbar sind, was subjektiv als Reduktion empfunden werden kann. Wie bereits erwähnt, gilt hier lediglich das Argument der, im vorigen Kapitel diskutierten, stattgefundenen Umbewertung des empfundenen Stresses.

Die in dieser Studie eingesetzten Fragebögen zur Bewertung des Copingverhaltens legen den Schwerpunkt auf psychomotorisches Coping [182], [205], also das Umgehen mit belastenden oder schwierigen Situationen, weniger auf Bewältigung der direkten Symptome einer Erkrankung: im vorliegenden Fall der AD Juckreiz, Schlaflosigkeit oder Schmerzen. Hinweise auf Veränderungen in psychomotorischem Coping bei AD-Patienten finden sich in der Literatur nur spärlich. Viele Studien, die über ein verbessertes Copingverhalten nach Schulungsmaßnahmen berichten, berufen sich auf die zuletzt genannten, körperlichen Symptome [42], [41], da die Reduktion des Juckreizes das zentrale Ziel der Maßnahmen ist [192]. Auch in der im vorigen Kapitel zitierte Studie von Heratizadeh et. al. [43] werden hauptsächlich Mechanismen zur Kontrolle des Juckreizes, nicht jedoch das Umgehen mit schwierigen Situationen vermittelt. Die vorliegende Arbeit lässt also die Vermutung zu, dass aufgrund des klinischen Therapieerfolgs einerseits das Coping des Juckreizes verbessert wurde (anders lässt sich dessen signifikanter Abfall kaum erklären), andererseits sich jedoch das psychomotorische Coping beim Umgang mit Alltagssituationen nicht verbessert. In diesem Jahr berichteten Hlavacova et al., dass in Reaktion auf psychischen Stress in einer Prüfungssituation, AD-Patientinnen vermehrt vermeidungs-orientiertes

Copingverhalten zeigten, während die männlichen Patienten keine Auffälligkeiten im Vergleich zu gesunden Probanden boten [206]. Das Studiendesign unterschied sich in seiner Zielsetzung, Auswirkungen von akutem Stress bei AD-Patienten zu untersuchen, von dem der hier vorliegenden Arbeit. Auch der eingesetzte Fragebogen zu Copingverhalten war ein anderer. Trotzdem zeigten sich dort zumindest Hinweise, dass mangelhafte Strategien des psychomotorischen Verhaltens, unabhängig von Juckreizbewältigung, bei AD-Patienten eine Rolle spielen könnten. Diese könnten einen maßgeblichen Einfluss auf den Krankheitsverlauf haben [57], Praktiken zur Verbesserung der Strategien wären also möglicherweise eine sinnvolle Ergänzung. Die Frage, ob solche Praktiken in einem dreitägigen Schulungsprogramm effektiv übermittelt werden können, bleibt zu klären.

In Bezug zu den langjährigen Versuchen, ein atopisches Persönlichkeitsprofil zu erstellen, zeigen sich hier keine neuen Erkenntnisse. Die in zahlreichen Studien aufgezeigten, grundsätzlich erhöhten Angst- und Stresswerte [34], [207], [208] konnten dieser Arbeit bestätigt werden. Ob hier eine Prädisposition vorliegt, die die Erkrankung begünstigt oder aber eine Reaktion auf die Auswirkungen der AD, kann nicht sicher beantwortet werden. Es stellt sich auch hier die Frage, inwiefern die Persönlichkeitsprofile mit dem Ausprägungsgrad der Erkrankung korrelieren. Es ist durchaus vorstellbar, dass viele der negativen Attribute wie Neurotizismus, Überempfindlichkeit, Unsicherheit und Charakterrigidität zunehmend häufiger in den schwereren Formen der AD auftreten [63].

4.1.4 Geringe Änderungen in den Serumkonzentrationen der Stressmediatoren

Zur Validierung der erhobenen Fragebogenscores und auf der Suche nach weiteren Erklärungen wurden ELISA Untersuchungen der Serumkonzentrationen von Cortisol, BDNF, IgE und SLURP-1 durchgeführt. Hier zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Verlauf, jedoch eine stetig sinkende Tendenz in der Cortisolkonzentration.

4.1.4.1 Abfallende Cortisolkonzentration

Über den Verlauf der Cortisolkonzentration ließ sich ein stetiger Abfall über den dreimonatigen Verlauf erkennen. Gleichzeitig stiegen die Konzentrationen innerhalb der zwei Kontrollgruppen an, bezüglich der Hautgesunden wird in Kapitel 4.2 erläutert, dass diese während des letzten Untersuchungstermins mitunter Stress aufgrund einer anstehenden Prüfung ausgesetzt waren. Obwohl die Cortisolsekretion aufgrund Stressoren wie einer bevorstehenden Blutentnahme kurzfristig erhöht sein kann und

zudem einer circadianen Rhythmik unterliegt, decken sich jedoch die neuesten Aussagen über die Veränderungen der Konzentration unter erfolgreicher Therapie mit denen der hier vorliegenden Arbeit [209]. In Zusammenschau mit der dem Abfall der Angst-Werte im STAI-X1 Fragebogen kann hier von einem gleichsinnigen Effekt ausgegangen werden. Aufgrund der abgeschwächten Responsivität von Atopikern [82] ist es nicht verwunderlich, dass sich hier lediglich ein Trend ohne statistische Signifikanz bot. Auch in anderen Studien konnten nach Intervention lediglich Trends festgestellt werden [78]. Auch gibt es Studien, die erhöhte Cortisolkonzentrationen nach klinisch erfolgreicher Therapie (ohne systemische Cortisongabe) berichteten [210]. Möglicherweise unterliegt die Sekretion des Cortisols also noch komplexeren Mechanismen, auch im Hinblick darauf, dass Keratinozyten kurzfristig Cortisol zur Wundheilung produzieren können, was erhöhte Cortisolkonzentrationen besonders im Beginn der Heilungsphase nach der Exazerbation erklären könnte [122]. In Zusammenschau mit weiteren Instrumenten, wie z.B. Fragebögen oder klinischen Parametern, bspw. der Hautstatus, könnte Cortisol somit als orientierender Parameter zur Kontrolle des Erfolgs von stressreduzierenden Therapien bei Atopikern eingesetzt werden.

4.1.4.2 Keine Änderungen über den Verlauf des bei Atopikern deutlich erhöhten IgE

Die Serumkonzentration von IgE zeigt über die drei Messpunkte einen stabilen Verlauf. Auffallend ist ein gleichbleibender, deutlicher Unterschied in der Konzentration von AD-Patienten zu Hautgesunden. Dieses Phänomen deckt sich mit der These, dass Atopien im Allgemeinen mit erhöhten IgE Konzentrationen einhergehen, besonders in der extrinsischen Form [19]. Ältere Studien zeigen, dass erhöhte IgE-Werte mit vermehrter Angst- und Stressempfindung einhergehen [211] und [207]. Diese Beobachtungen können zumindest durch die gleichsinnigen Unterschiede bezüglich dieser Parameter zwischen Atopikern und gesunden Kontrollen nachvollzogen werden. Da in der vorliegenden Arbeit nicht zwischen extrinsischer und intrinsischer Form unterschieden wurde, kommt ein relativ ausgeprägter Standardfehler zustande, denn die intrinsische Form der AD geht mit normalen IgE-Werten einher. Deshalb zeigt sich hier allenfalls „optisch“ ein Absinken der IgE-Serumkonzentration ohne statistische Signifikanz. Dieses Problem erklärt, warum dieser Antikörper als universeller Biomarker umstritten ist. Zum einen spielt IgE zwar in den überschießenden Abwehrreaktionen des Immunsystems auf geringste Mengen Allergen die entscheidende Rolle [212], zum anderen kann es nicht bei allen Atopieformen erhöht nachgewiesen werden [18]. Zudem gibt es Studien, bei denen erfolgreiche topische Therapien, wie in der vorliegenden Arbeit, zu keiner Veränderung der IgE-Serumwerte führten [24]. Die Rolle

als universeller Marker zur Kontrolle des Therapieerfolgs bei AD kann IgE nach den Ergebnissen dieser Arbeit, zusammen mit dem aktuellen Forschungsstand, also nicht erfüllen.

4.1.4.3 BDNF zeigt sich in seinem Verlauf in allen drei Gruppen gleichsinnig

Die Konzentrationen von BDNF bei Atopikern sind im Vergleich zu Hautgesunden oftmals höher [90], so auch zumindest optisch in dieser Studie. Das Fehlen eines größeren Unterschiedes kann unter anderem am niedrigem bis mittlerem Ausprägungsgrad der AD der Probanden in der vorliegenden Arbeit liegen, denn es konnte gezeigt werden, dass die Werte mit der Krankheitsaktivität positiv korrelieren [95]. Bei der angeführten Studie gilt jedoch zu beachten, dass lediglich Patienten mit der extrinsischen Form der AD eingeschlossen wurden, was aufgrund der Unterschiede in den Immunmechanismen die Vergleichbarkeit deutlich reduziert [19].

Jedoch verhielten sich die Werte in der vorliegenden Arbeit auch im Gruppenvergleich über den Studienverlauf gleichsinnig, sodass ein Einfluss der Schulungsmaßnahme hier nicht unterstellt werden kann. Im Bereich der AD-Forschung konnte lediglich eine Veröffentlichung ermittelt werden, die sich mit dem Einfluss einer Therapie auf die Serumkonzentration von BDNF befasst [96]. Allerdings wurden dort alle Patienten in einem strikt hospitalisiertem Setting durch topische Applikationen sowie Histamineinnahme behandelt und bei Eintritt von Besserung lediglich die Serumwerte der klinisch erfolgreich therapierten Patienten erhoben. Somit steht eine direkte Vergleichbarkeit mit der vorliegenden Arbeit nicht im Raum. Zum einen vereint die Gießener Schulungsmaßnahme verschiedene Therapiewege, nicht nur medikamentöse, zum anderen wurde die vorliegende Studie in einem weniger strikten, ambulanten Setting und über einen längeren Zeitraum durchgeführt. Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass der Erfolg einer Schulungsmaßnahme über komplexere Mechanismen als nur eine stationäre, medikamentöse AD-Therapie zustande kommt.

BDNF ist in den letzten Jahren im Rahmen der Forschungen zu depressiven und bipolaren Störungen vermehrt Gegenstand einer Vielzahl von Arbeiten geworden. Beide Erkrankungen sind unter anderem mit fehlender kognitiver Anpassungs- und Lernfähigkeit assoziiert [213] und es konnte nachgewiesen werden, dass die neuronalen Konzentrationen von BDNF mit diesen Phänomenen einhergehen [99], [100]. Inwiefern eine Verbindung der neuronalen Konzentrationen mit den hier untersuchten Konzentrationen im Blut besteht, ist nicht bekannt. Trotz allem könnte man mutmaßen, dass die fehlenden Veränderungen der BDNF-Serumkonzentration in Zusammenschau mit den unveränderten Copingscores auf die, in der Literatur

mehrfach beschriebene [214], [215], verminderte Anpassungsfähigkeit von Atopikern hindeuten, was eine weitere Erklärungsmöglichkeit für die bereits erwähnte, schlechte Therapieadhärenz bieten würde [216].

4.1.4.4 *SLURP-1 erscheint bei Atopikern erhöht*

Der schließende serologische Parameter war das SLURP-1 Protein, das modulierenden Einfluss auf den nACh-Rezeptor als einer der Hauptakteure des NNCS hat. Der Verfasser dieser Studie konnte keine signifikanten Veränderungen in den Konzentrationen über den Verlauf feststellen. Atopiker scheinen, im Vergleich zu hautgesunden Kontrollen, generell erhöhte Serumwerte zu haben. Da das Protein erst seit der Jahrtausendwende bekannt ist, finden sich im Vergleich zu den anderen Biomarkern kaum klinische Verlaufsstudien über den experimentellen Umfang hinaus. So konnte die Anwesenheit von SLURP-1 in den Körperflüssigkeiten Blut, Urin, Schweiß und Speichel zwar nachgewiesen werden [217], Verlaufsbeurteilungen, insbesondere auch nach Interventionen, wurden bisher noch nicht vorgenommen. Veränderungen in Konzentrationen wurden bisher entweder in Biopsien [109] oder durch Kultivierung und Stimulation in Zielgeweben wie z.B. der Lunge [110] nachgewiesen. Diese Untersuchungen sprechen SLURP-1 und dem nAChR wichtige Rollen im Immunsystem an Grenzflächen des Körpers zur Außenwelt zu. Unterstützt werden diese Thesen durch die Beobachtung, dass sich SLURP-1 in überwiegendem Maße in der Nähe afferenter SP-positiver Nervenfasern finden lässt. Diese Fasern sind vor allem für die Transduktion der Schmerzempfindung verantwortlich und spielen so im Rahmen der Stressreaktionen eine wichtige Rolle [218]. Widersprüchlich erscheint, dass die, in Biopsien läSIONaler AD-Haut gemessenen, Konzentrationen vermindert sind [109] während in der vorliegenden Arbeit die Serumkonzentrationen von Atopikern höher erscheinen. In Zusammenschau mit dem Ergebnis einer fehlenden Veränderung der Serumkonzentration ließe sich daher schließen, dass die Serumkonzentration des Proteins nicht den lokalen Immunstatus widerspiegelt. Somit wäre die Aussagekraft von SLURP-1 als universeller Biomarker deutlich eingeschränkt. Aufgrund der fehlgeschlagenen Identifikation des nAChR in der FACS-Analyse fehlt hier die wichtige Darstellung der Rezeptordichte der Immunzellen. Änderungen hier könnten weitreichende Einflüsse auf die AD-Aktivität haben, ohne dass sich die Serumkonzentrationen von SLURP-1 ändern müssten.

Hier wären zukünftig Vergleichsmessungen in HautläSIONen vor und nach erfolgreicher Therapie mit einem Abgleich der Serumkonzentrationen interessant. Prinzipiell ist zu empfehlen, alle in Frage kommenden Parameter innerhalb eines Studienkollektivs gleichzeitig in HautläSIONen und im Serum zu messen, da es zu deutlichen

Diskrepanzen kommen kann: Änderungen von Zytokin- oder IgE-Konzentrationen lassen sich im Blut feststellen während Immunzellpopulationen und Rezeptormodulatoren wie SLURP-1 mitunter größere Änderungen in Biopsien zeigen [219].

4.1.5 Die FACS-Analysen zeigen Veränderungen in Populationen von Monozyten und T-Gedächtniszellen

4.1.5.1 Die Zahlen von migrierenden, intermediären Monozyten sinken

Die Immunstatus-Untersuchung war ursprünglich für die Erfassung der Anwesenheit des nACh-Rezeptors auf den Hauptakteuren, den B- und T-Lymphozyten, NK-Zellen, T-Helferzellen sowie den Monozyten und deren Subpopulationen vorgesehen. Aufgrund der nicht ausreichenden Verlässlichkeit der Messungen wurden diese im Verlauf abgebrochen, sodass hier allgemeingehaltene Aussagen getroffen werden können. Bei der Untersuchung fielen ein signifikanter Abfall der Konzentration von intermediären Monozyten sowie ein Anstieg der T-Helferzellen und ein ansteigender Trend der T-Lymphozyten über den Therapieverlauf in der Schulungsgruppe auf. Da die T-Helferzellen eine Untergruppe der T-Lymphozyten sind und erneut im Panel der T-regulatorischen Zellen gemessen werden, werden sie zusammen im nächsten Kapitel besprochen.

Die intermediären Monozyten stellen ein Zwischenstadium zwischen klassischen und nicht-klassischen Monozyten dar, die über die unterschiedliche Expression von CD14 und CD16 typisiert werden [156]. Novak et al. konnten zeigen, dass die Konzentration der intermediären Monozyten unter erfolgreicher topischer Therapie der AD mit Tacrolimus signifikant abfällt, ein Effekt, der in der vorliegenden Arbeit reproduziert werden konnte [24]. Diametral wurde der Anstieg von intermediären Monozyten geradezu als Grundbaustein einer AD-Exazerbation gewertet. Analog zu Novak et. al. fiel die Konzentration auf Werte vergleichbar mit denen der hautgesunden Probanden ab. Wie bereits in Kapitel 4.1.4.2 berichtet, konnten Novak et. al. trotz erfolgreicher Therapie keine Veränderungen in der IgE-Serumkonzentration oder den eosinophilen Granulozytenpopulationen feststellen.

Interessanterweise konnte in einer aktuellen Studie ein Absinken der Konzentration in Zusammenhang mit Diät und Gewichtsverlust festgestellt werden, die Konzentration der intermediären Lymphozyten korrelierte mit hohen LDL- und Triglyceridwerten [134]. Der positive Einfluss von Diät und ernährungsbewusster Lebensweise ist in der AD-Therapie gemeinhin bekannt und gehört auch zum Umfang der Schulungsinhalte [220], [221]. Überdies existiert im pädiatrischen Umfeld bereits seit Langem eine

Eliminationsdiät, unter der die Verträglichkeiten verschiedener Grundnahrungsmittel auf den Krankheitsverlauf ausgetestet werden [222], [223]. Prinzipiell könnten hier Hinweise für eine Verbindung zwischen der anerkannten Eliminationsdiät und den sinkenden intermediären Monozytenzahlen vorliegen.

Da diese Zellpopulation, wie bereits in der Einführung erwähnt, zudem Ziel von zahlreichen Studien zu Autoimmunerkrankungen [132] und Herz- und Gefäßmedizin [129] sind, kann ihre Rolle also nicht als pathognomonisch für die AD qualifiziert werden. So scheinen sie vielmehr zentrale Akteure in einer Vielzahl von inflammatorischen Erkrankungen zu sein [224]. Bezüglich ihrer Rolle in der AD wäre im Hinblick auf ihr migrierendes Zwischenstadium ein Vergleich von Serumwerten zu Biopsien läsionaler Haut interessant. Aufgrund ihrer Fähigkeiten, die Entzündung systemisch als auch lokal zu initiieren und aufrechtzuerhalten könnten sie vielversprechende Ziele für therapeutische Eingriffe sein.

4.1.5.2 Naive, T-regulatorische Gedächtniszellen steigen im Therapieverlauf

In den Populationen der T-regulierenden Zellen konnte eine weitere sehr interessante Beobachtung gemacht werden: Während sich die Zahlen des überwiegenden Teils konstant verhielten, zeigte sich ein ansteigender Trend der T-Lymphozyten, daraus resultierend ein signifikanter Anstieg der T-Helferzellpopulationen. Damit einhergehend zeigte sich ein deutlicher Anstieg der naiven CCR4- T-regulatorischen Gedächtniszellen, während die aktivierten CCR4+ abfielen. Hier findet sich eine klare immunologische Aussage über den Entzündungsstatus, die Aktivierung von neuen T-regulatorischen Gedächtniszellen scheint also durch eine erfolgreiche Therapie gestoppt zu werden. Derselbe Schluss konnte diametral in einer anderen Arbeit durch positive Korrelationen zwischen aktivierten T-regulatorischen Gedächtniszellen und dem Ausprägungsgrad der Entzündung gezogen werden [143]. CCR4 als Marker zur Aktivierung ist mit weiteren verwandten Rezeptoren (CCR2 und CCR5) für die Migration aktivierter T-regulatorischer Zellen in entzündete Gewebe verantwortlich, ein Absinken der CCR4+ Zellen spricht also für einen Rückgang der Migrationsaktivität. Da CCR4 zudem über die Sekretion von TGF- β und IL-10 durch T-regulatorische Zellen die typische Th2-Antwort auslöst, könnten die T-regulatorischen Zellen eine zentrale Funktion in der Pathophysiologie ausüben. Gerade in Zusammenschau mit dem parallelen Rückgang der migrierenden intermittierenden Monozyten könnte also das Migrationsverhalten dieser Zellklassen nicht nur zur Beurteilung der AD-Aktivität Verwendung finden sondern auch Hinweise auf einen möglichen, fundamentalen Mechanismus der Pathogenese liefern.

Bezüglich der wenig aussagekräftigen FoxP3-Messungen finden sich in der Literatur Hinweise, dass auch Zellen ohne T-regulatorische Funktion dazu befähigt sind, diesen intrazellulären Transkriptionsfaktor zur Ausbildung von T-regulatorischen CD4⁺ CD25⁺ T-regulatorischen Lymphozyten, spontan hochzuregulieren. Die spontan entstandenen FoxP3 positiven Zellen besitzen keine T-regulatorischen Fähigkeiten und sind auch im weiteren Phänotyp nicht vergleichbar [225]. Dieses Phänomen würde zudem die Diskrepanzen zwischen den CD127^{lo} und der FoxP3 Messungen erklären, da in der Literatur korrelierende Ergebnisse beider Messungen beschrieben sind und CD127^{lo} als alternative Identifizierungsmethode empfohlen wurde [150]. In einer anderen Studie wurde die zukünftige Messung der DNA-Methylierung des Transkriptionsfaktors empfohlen, um etwaige Ungenauigkeiten zu umgehen [225]. Zudem muss bei der FoxP3 Identifizierung zur Färbung des intrazellulären Transkriptionsfaktors eine Permeabilisation vorgenommen werden, was die Zellen destabilisieren, sogar vollends zerstören und somit die Messergebnisse verzerren kann. Diese Widrigkeiten vermindern zurzeit noch die Validität der Aussagen bezüglich Funktion der T-regulatorischen Zellen und deren möglicher Verwendungszweck als Marker für die AD-Aktivität. So zeigte eine Studie von 2004 im Vergleich zu gesunden Patienten zweifach erhöhte T-regulatorische Zellzahlen [151]; in den Folgejahren wurde dieses Ergebnis jedoch durch zwei unabhängige Studien mit dem gemeinsamen Schluss fehlender Unterschiede in den Zellzahlen infrage gestellt [152], [153]. Über die weiter oben im Text angesprochene DNA-Methylierung konnten nun erneut erhöhte Zahlen T-regulatorischer Zellen nachgewiesen werden, jedoch lediglich bei Patienten mit schwerer AD und hohen SCORAD Werten. In der hier vorliegenden Arbeit finden sich schwach-signifikant erhöhte Zellzahlen von CD127^{lo} im Gruppenvergleich zwischen Atopikern und gesunden Probanden, jedoch kann kein Hinweis auf einen interventionsbedingten Abfall dieser Werte gefunden werden. Es wäre nun interessant, das Studienkollektiv getrennt nach AD-Schweregraden zu betrachten, um die in der Literatur berichteten Unterschiede nachvollziehen zu können.

Die eigentliche immunsuppressive Funktion der T-regulatorischen Zellen bei AD-Patienten scheint also aktuell noch nicht eindeutig vorhersagbar zu sein. Interessant wäre auch zu erfahren, ob mit einem Absinken der aktivierten, CCR4⁺ Zellen eine Zunahme der Th1-charakterisierenden Marker wie dem CXCR3-Rezeptor festzustellen ist.

4.1.5.3 Die Messung der dendritischen Zellen zeigt keine Änderungen über den Therapieverlauf

Bei der Untersuchung der dendritischen Zellpopulationen konnten trotz ihrer zentralen Rolle in der Exazerbation der AD und der bereits aufgezeigten Belege für eine erfolgreiche Therapie allenfalls geringe Änderungen über den Studienverlauf beobachtet werden. Es war zu erwarten, dass im Rahmen einer erfolgreichen AD-Therapie kaum Veränderungen in der Subgruppe der CD304+ pDCs auftreten, da diese Population hauptsächlich für eine Abwehr von Viren verantwortlich ist [226]. Bezüglich den Subpopulationen der CD11c+ positiven mDC1 sowie der CD141+ mDC2 war hier ein Absinken der mDC2-Population als Zeichen eines Rückgangs des krankheitsdefinierenden Th-2 Milieu mit IL-6 zu erwarten [160]. Bei der Betrachtung der Ergebnisse zeigte sich jedoch allenfalls ein geringes Absinken der aktivierten, CD86+ mDC1 und 2 Populationen, jedoch statistisch nicht signifikant und zudem gleichsinnig in der KND-Gruppe.

Die Problematik bei der Identifizierung von zirkulierenden Zellen im Blut ist in der Einführung in Kapitel 1.3.3 bereits ausgiebig beschrieben worden. Aufgrund dieses, bisher noch wenig beschriebenen Blattes, ist es nicht verwunderlich, dass schlüssige Veränderungen in DC-Populationen in dieser Studie nicht aufgezeigt werden konnten. Verheißungsvoll zeigen sich neuere Erkenntnisse, die dem hochspezifischen IgE-Rezeptor FcεRI [227] sowie den Rezeptoren der Chemokine CCL17, CCL18 und CCL2 [228], die durch Migration für erhöhte Konzentrationen von DCs im Zielorgan Haut sorgen, Chancen als identifizierende Marker zusprechen.

4.2 Limitationen der Arbeit

Diese klinisch-explorative Studie war in ihrer Zielsetzung sehr breit konzipiert um Einflüsse und Wechselwirkungen aus grundsätzlich verschiedenen Fachrichtungen der Medizin vereint betrachten und analysieren zu können. Studien dieser Art sind selten, in Deutschland wurden Schulungsprogramme für Atopiker bisher noch nicht in diesem breiten Spektrum untersucht. Dies ermöglichte, bestehende Ergebnisse und Meinungen getrennt und im direkten Vergleich zu validieren. Es gelang eine, für eine monozentrische Studie, gute Stichprobengröße in diesem Forschungsgebiet zu erreichen, die zudem eine gut vergleichbare Verteilung der Basisdaten inklusive sozioepidemiologischem Status bot, denn ein Großteil der Teilnehmer waren Studenten.

Der klinische Nutzen des Schulungsprogramms konnte klar mit dem rückläufigen Entzündungszustand des SCORADs belegt werden. Auch zeigen sich im Übrigen schlüssig interpretierbare Verläufe und Erklärungen für unerwartete Verläufe. Bei explorativen Zielsetzungen mit Erkundung von neuen Zusammenhängen können Fragestellungen selbstverständlich nicht immer so klar und schlüssig wie im experimentellen Umfeld beantwortet werden. Hier konnte die Arbeit ihren Zielen gerecht werden, indem sie Zusammenhänge zwischen der klinischen Besserung und Veränderungen der Populationen von T-regulatorischen Zellen und Monozyten aufzeigen konnte.

Das klinische Setting erforderte umfassende organisatorische Planungen: Probanden mussten rekrutiert, Untersuchungsräume freigestellt, Schulungstermine koordiniert, und der finanzielle Rahmen bereitgestellt werden. Die Bindung der Probanden an die Termine erforderte eine enge Zusammenarbeit und stetige Kommunikation. Trotz allem zeigte sich gerade zu Beginn eine hohe Dropoutrate aufgrund fehlender Adhärenz, ein Problem, das interessanterweise bei AD-Schulungsprogrammen bekannt ist. Es konnte gezeigt werden, dass bis zu 70% der Teilnehmer die gelernten Therapien unvollständig oder falsch weiterführten [216], besonders die erforderliche Stetigkeit von topischen Anwendungen lässt zu wünschen übrig [229]. Auch erschienen die Teilnehmer teilweise noch nicht einmal zum ersten Schulungstermin oder brachen die Studie ab [43], ein Problem was sich auch in der hohen Dropoutrate in der vorliegenden Arbeit zeigt.

Ein möglicher Ansatz, um die Phänomene von schlechter Therapieadhärenz und hoher Dropoutrate zu erklären, wäre, dass die Therapieeffekte von Schulungen mit dem Ausprägungsgrad der Erkrankung korrelieren. Veröffentlichungen hat es dazu bereits in der Psoriasisforschung gegeben. Dort konnte gezeigt werden, dass die Therapie

erfolgreicher war, wenn die Krankheitssymptome besonders stark ausgeprägt waren [230]. Diese These wird von den weiter unten berichteten Äußerungen der Probanden unterstützt, dass sie als Neurodermitiker an einer Studienteilnahme, nicht jedoch an einer Schulungsteilnahme interessiert seien. Hier wäre also zu postulieren, dass eine schwerere Erkrankung stärker zur Therapieteilnahme motiviert und dementsprechend stärkere Effekte produziert werden. Diese These kann auch von zwei Studien in der AD-Forschung unterstützt werden, die sich mit der Vorhersagbarkeit eines Therapieerfolges bei AD-Schulungsprogrammen beschäftigt haben. So konnten Stangier et. al berichten, dass ein zu Therapiebeginn bestehendes, hohes Juckreizniveau sowie häufiges, kognitives Befassen mit diesem, die Wahrscheinlichkeit für eine signifikante Besserung, also ein Profitieren von der Therapie, deutlich erhöht [231]. Schut et al. zeigten ähnliche Ergebnisse in Eltern-Kind-Schulungen, positive Prädiktoren waren hier Unzufriedenheit mit vorangegangenen Therapien, geringe soziale Unterstützung und aktives Suchen nach Problemlösungen [232]. Da in der vorliegenden Arbeit hauptsächlich Patienten mit niedriger bis mittlerer AD-Ausprägung eingeschlossen wurden, also möglicherweise „weniger motivierte“ Patienten, könnten die hier aufgeführten Studien Erklärungen für die Dropoutrate bieten. Mit einer höheren Anzahl von Probanden wären möglicherweise einige der zahlreich beobachteten Tendenzen signifikant geworden und hätten zusätzliche Aussagen erbracht.

Ein weiteres Problem, das sich im Verlauf der Studie herausstellte und die Ergebnisse deutlich beeinflusste, war der teilweise unterschiedliche Ausprägungsgrad der AD von Schulungs- und Kontrollpatienten. Die Teilnahme an einer Schulungsmaßnahme war mit umfangreichem, finanziellem und bürokratischem Aufwand verbunden, denn die Krankenkassen entscheiden in jedem Einzelfall, ob sie eine Finanzierung der Maßnahme übernehmen. Ansonsten hätten die Patienten die Kosten von mehreren Hundert Euro selber tragen müssen. Darüber hinaus nehmen die Schulungstermine drei aufeinanderfolgende Samstage in Anspruch. Im Rahmen der Telefoninterviews berichteten Interessierte, dass sie zwar als AD-Kontrollen an der Studie, jedoch nicht an der Schulung teilnehmen wollten. Diese Aussage unterstützt die bereits angeführte Beobachtung, dass der Therapieerfolg abhängig vom Ausprägungsgrad der AD ist. So könnte man vermuten, dass sich der Aufwand einer Schulungsteilnahme für die Patienten nur dann lohnt, wenn sie von einem ausreichenden Leidensdruck dazu gezwungen werden. Die gegenteilige Situation ergab sich in der Kontrollgruppe, denn dort litten die Probanden häufiger unter geringer ausgeprägten Symptomen und waren dementsprechend auch nicht bereit, die Schulung zu besuchen. Zudem waren schwerer erkrankte Patienten nur selten bereit, zunächst den dreimonatigen Kontrollgruppenzyklus zu besuchen, bevor sie zur Schulungsmaßnahme zugelassen

worden wären. Die Messerergebnisse zeigten zum ersten Termin teils signifikante, zumindest aber augenscheinliche Unterschiede im Krankheitsgrad zwischen den beiden Atopie-Gruppen, was die Vergleichbarkeit deutlich beeinträchtigt. Hier wären in Zukunft Vergleiche von Studienpopulationen mit gleichem Krankheitsgrad zielführend.

Aus logistischen Gründen wurde der zweite Blutentnahmetermin auf den Morgen des letzten Veranstaltungstages gelegt, die Patienten hatten also den letzten Teil des Schulungsprogramms noch nicht absolviert. Sicherlich könnte man also stärkere Effekte zum zweiten Untersuchungstermin erzeugen, wenn man diesen in die Zeit unmittelbar nach Abschluss der Schulungsmaßnahme verlegen würde. In Anbetracht der jedoch teilweise beträchtlichen Distanzen zum Wohnort wäre hier jedoch mit einer noch höheren Dropoutrate zu rechnen und somit eine weiter verbesserte Patientenbindung mit erhöhter Aufwandsentschädigung vonnöten gewesen. Zur Aufrechterhaltung der Motivation könnte man die späteren Studientermine mit einem Nachsorgetermin durch das Schulungsteam verbinden, in dem die Teilnehmer die Möglichkeit erhalten, auf im Nachhinein aufgetretene Fragen Antworten zu erhalten und Rückmeldungen abzugeben.

Weiterhin fällt eine Zunahme der Werte zu erlebtem Stress und erlebter Angst hauptsächlich in den Fragebögen PSQ-30 und STAI-X, sowie im Serumparameter Cortisol der hautgesunden Kontrollen, besonders zum letzten Termin hin, auf. Retrospektiv betrachtet wurden die Kontrollen in einem relativ kurzen Zeitraum von ca. fünf Monaten, der Altersverteilung der anderen Gruppen entsprechend, rekrutiert. Wie auch in den anderen Gruppen waren ein großer Teil Studenten, von denen sich einige in der Examensvorbereitung befanden. Der Stress einer solchen Prüfung ist bestens dazu geeignet, solche Veränderungen auszulösen. Natürlich gilt die Aussage weiterhin, dass die Stresswerte bei Hautgesunden deutlich vermindert waren, der Anstieg über den dreimonatigen Verlauf verminderte jedoch Anschaulichkeit und Aussagekraft. Positiv betrachtet jedoch, zeigte sich hier eine Validierung der Sensitivität der Messinstrumente, denn die in Kapitel 4.1.2 beschriebene These, dass der Rückgang der empfundenen Angst mit einer abfallenden Cortisolkonzentration einhergeht, konnte hier mit dem parallelen Anstieg von Cortisol- und Angstwerten untermauert werden. Um diese Problematik in Zukunft zu vermeiden sollten die hautgesunden Probanden über den gleichen Studienzeitraum wie die AD-Probanden rekrutiert und untersucht werden, damit zeitliche Einflüsse wie anstehende Prüfungen ausgeglichen werden können.

Während der FACS-Messungen zeigte sich, dass die aufbereitete Zellmenge für die Messungen zu knapp begrenzt war, sodass während den Messungen kein Spielraum

für Versuche oder korrigierende Maßnahmen blieb. So zeigte sich im Verlauf, dass die Messwerte des nACh-Rezeptors so unspezifisch waren, dass diese nicht verwertet werden konnten. Aufgrund der bereits verwendeten Zellen konnte jedoch nicht mehr auf einen anderen Antikörper gewechselt werden. Somit blieb dort ein Platz im Panel ungenutzt. Durch die, aufgrund eines Kommunikationsfehlers, unbeabsichtigte Einlagerung von einem Drittel der Zellen in einen -80°C Kühlschrank anstelle von flüssigem Stickstoff war zudem der Anteil an überlebenden, also verwertbaren Zellen geringer, ansonsten wären Tendenzen möglicherweise aussagekräftiger gewesen. Dieser Effekt zeigte sich besonders in den dendritischen Zellpopulationen der pDCs und mDCs, da diese ca. 0.1% aller vitalen Zellen in den Proben ausmachten. Bei niedrigen Raten an überlebenden Zellen, verbunden mit der Messungenauigkeit war die Aussagekraft einiger Proben also unter Umständen deutlich eingeschränkt. Dies zeigte sich auch bei den deutlichen Abweichungen der Messungen des intrazellulären FoxP3-Markers. Durch die Permeabilisierung wurde die Struktur der Zelle zusätzlich geschwächt, sodass sie in Zusammenspiel mit der falschen Lagerung vom FACS-Gerät nicht immer sicher als solche erkannt werden konnten. Hier wären zukünftig ggf. Anpassungen der Aufteilung der Menge des entnommenen Blutes für die verschiedenen Messungen vorzunehmen. So könnte sichergestellt werden, dass für die FACS Messungen genügend vitale Zellen vorhanden sind und die Probanden durch die Blutentnahme keine Mehrbelastung erfahren.

4.3 Fazit

Der Verfasser hatte den Anspruch, Thesen und aktuelle Ergebnisse aus unterschiedlichen Fachgebieten der AD-Forschung zusammenhängend zu betrachten. Die Arbeit stellt somit den Versuch dar, umfassendere interdisziplinäre Fragestellungen multidimensional zu bearbeiten. So konnten aktuell existierende Theorien aus den Forschungsbereichen der Psychosomatik, der Dermatologie sowie der Immunologie an einem einzelnen Kollektiv untersucht und validiert werden. In der klinischen Dimension konnte über den SCORAD eine deutliche Verbesserung des Hautzustandes, zusammen mit Veränderungen in somatischen bzw. biologischen Dimensionen über die Stressmediatoren und die Immunzellpopulationen nachgewiesen werden. In psychischer Dimension wurden die Probanden über die Selbstauskünfte bezüglich Stress- und Angsterleben, sowie Lebensqualität und Gesundheitsempfinden untersucht. Auch hier zeigten sich positive Entwicklungen, besonders in der Lebensqualität, dem Juckreizniveau und dem Angstepfinden. Diese Veränderungen an einem einzelnen Kollektiv aufzuzeigen hat Vorteile, denn häufig werden bestimmte Fragestellungen durch Forschergruppen eines Landes favorisiert: zum Beispiel wird ein großer Teil der immunologischen Forschung in asiatischen Ländern betrieben, während die Arbeiten mit psychosomatischen Schwerpunkten auf diesem Gebiet beispielsweise in Skandinavien liegen. Somit könnten zum Beispiel genetische, aber auch soziokulturelle Aspekte deutliche Einflussnahme ausüben, besonders auch im Rahmen der multizentrischen Arbeiten. Vereint man die Forschungsfelder wie hier auf ein einzelnes Kollektiv, können diese Störfaktoren minimiert werden.

Unter diesen homogenen Voraussetzungen konnten nun zentrale Parameter und deren Verhalten in Atopikern unter Therapie vor dem aktuellen Forschungshintergrund validiert werden. Konkordant mit Arbeiten aus verschiedenen Fachrichtungen konnten positive Therapieeinflüsse auf Hautzustand, Angsterleben, jedoch auch auf auch Immunzellpopulationen wie T-regulatorische Zellen und Monozyten nachgewiesen werden.

Weiterhin wurde hier der Rahmen für die Bearbeitung künftiger Fragestellungen erarbeitet und Vorschläge zur Lösung logistischer Probleme wie zum Beispiel die hohe Dropoutrate formuliert. Dies vereinfacht die zukünftige Probandenaquise ganz maßgeblich, sodass in Zukunft größere Stichprobenzahlen mit besserer Auflösung der Ergebnisse zu erwarten sind.

Diskussion

Nicht zuletzt unterstützt die Arbeit die Aufgabenerfüllung des Qualitätsmanagements. Die therapeutischen Effekte der Schulungsmaßnahme konnten auf verschiedenen Ebenen nach anerkannten Methoden aufgezeigt werden und bieten so im Rahmen der Ergebnisqualität in Verhandlungen über Kostenübernahmen durch Krankenkassen eine sichere argumentative Basis.

4.4 Ausblick auf unbeantwortete und neue Fragestellungen

Aus den vorliegenden Ergebnissen resultiert eine Vielzahl an Fragestellungen die in Zukunft tieferen Einblick in die Pathophysiologie und Ansätze für mögliche Therapien ermöglichen könnten.

Bezüglich des Patientenkollektivs wäre es interessant, in Bezug auf die Studien zu Vorhersagen über die Wirksamkeit von Schulungen, die Therapieeffekte getrennt nach niedrigem und hohem AD-Ausprägungsgrad zu untersuchen. Auch die Differenzierung in die Formen endogene und exogene Dermatitis anhand der IgE-Konzentration verspricht besonders auf der immunologischen Ebene interessante Erkenntnisse. Für beide Zielsetzungen sind deutlich größere Stichprobenumfänge notwendig, was aufgrund der nun etablierten Studienumgebung keine besonderen Schwierigkeiten hervorrufen sollte.

Im Rahmen der Selbstauskünfte der Patienten wäre es von Interesse, Fragebögen wie den Skindex-29 [233] oder Marburger-Hautfragebogen [234] zu verwenden, um Veränderungen des Copingverhaltens bezüglich der AD-Symptomatik bewerten zu können. In Bezug auf den beschriebenen Einfluss von Diäten auf Krankheitsaktivität und intermediäre Lymphozyten wären die Erhebung von Informationen über Ernährungsgewohnheiten und deren Änderung durch die Schulungsinhalte interessant. Gleichzeitig wären Untersuchungen bezüglich gänzlich anderer Stressbewältigungsmechanismen interessant. Zum Beispiel hat die verstärkte Zuwendung zu Sport, Hobbies oder Familie nicht zu unterschätzende Effekte, diese wurden in den bisher verwendeten Fragebögen jedoch nicht untersucht. Darüber hinaus wäre es ratsam, den hier gemessenen Abfall des Angstepfindens mittels eines weiteren Scores, wie z.B. dem HADS-Fragebogen [235] zu validieren um die These einer stattgefundenen Umbewertung des Stresses weiter zu untermauern.

Die fehlenden Veränderungen in den Serumparametern von BDNF und SLURP-1 werfen die Frage auf, wie sich diese im Therapieverlauf in den klinisch gebesserten Hautläsionen verhalten. Ein vom Serumgehalt abweichendes Verhalten könnte auf lokale Einflüsse und Regulationsmechanismen im Zielorgan hindeuten. Diese Fragestellung ist gleichermaßen für die Immunzellpopulationen interessant, denn für einige Populationen ist das Blut lediglich der Weg zum Ziel.

Innerhalb der Zellpopulationen zeigen sich spannende Hinweise auf Veränderungen, so sollte z.B. zukünftig eine Differenzierung des T-Helferzellenanstiegs z.B. mittels ihrer Produkte IL-4 und IFN- γ vorgenommen werden. Zu erwarten wäre hier ein Rückgang der Th2 Zellen. T-regulatorische Zellpopulationen sollten mittels PCR-Analyse auf den Methylierungsstatus des Transkriptionsfaktors FoxP3 untersucht

Diskussion

werden um eindeutige Aussagen über die Aktivität der Zellen in Bezug auf erfolgreiche Therapien treffen zu können.

Auch die intermediären Monozyten, die auch in diversen anderen Fachrichtungen intensiv beforscht werden, sollten genauer untersucht werden. Da die Zellen aktuell als Übergangsformen auf dem Weg in ihr Zielgewebe diskutiert werden, wären besonders hier Vergleiche zwischen Biopsien und Serumlevels interessant. Des Weiteren sollten Einflüsse von Diäten und andere Änderungen des Lebensstils auf die Klasse der intermediären Monozyten untersucht werden um Ergebnisse aus anderen Feldern im Hinblick auf die AD-Therapie validieren zu können. Auch sollten erneute Testmessungen mit verschiedenen nAChR α 7-Antikörpern durchgeführt werden um hier in Zukunft valide Aussagen treffen zu können.

5 Zusammenfassung

Das Auftreten der atopischen Dermatitis nimmt in Industrieländern stetig zu, sodass heute bereits 20% aller Neugeborenen daran leiden. Als Hautkrankheit autoimmuner Genese konnte trotz umfangreicher Forschungsanstrengungen bisher keine kausale Therapie gefunden werden. Die Forschungsergebnisse zeigen jedoch, dass die Aktivität maßgeblich vom Stresserleben und dessen Verarbeitung abhängt, wodurch Auswirkungen auf alle Lebensbereiche entstehen. Daraus resultiert der Bedarf an multimodalen Therapiekonzepten, die in Gießen im Rahmen einer dreitägigen Schulungsmaßnahme vermittelt werden. Das Ziel dieser Studie war es, die Therapieeffekte auf Körper und Psyche auf verschiedenen Ebenen nachzuvollziehen. Hierzu wurde ein Kollektiv von Schulungsteilnehmern (n = 16) zu Beginn, zum Ende und nach drei Monaten auf Veränderungen des Hautzustandes untersucht. Es wurden zudem Fragebögenscores zu erlebtem Stress- und Angstepfinden, zu Copingverhalten sowie zur Gesundheit und Lebensqualität erhoben. Auch wurden Blutproben auf Veränderungen in den Cortisol-, IgE-, BDNF- und SLURP-1 Spiegeln sowie in den Immunzellpopulationen von Monozyten, T-regulatorischen Zellen und dendritischen Zellen untersucht. Die Ergebnisse wurden mit einer an AD erkrankten Kontrollgruppe (n = 19) sowie einer hautgesunden Gruppe (n = 20) verglichen. Es zeigt sich eine signifikante Verbesserung des Hautzustandes und des Juckreizes und damit einhergehend ein Absinken des Angstepfindens jedoch bei unverändertem Stressempfinden. Weiterhin zeigt sich ein Anstieg von naiven T-regulatorischen Gedächtniszellen und begleitend ein Abfall von intermediären Monozytenpopulationen als Zeichen einer rückläufigen somatischen Entzündungsreaktion. In den Stressmediatorspiegeln von Cortisol kann ein abfallender Trend als Zeichen einer verminderten Stressreaktion festgestellt werden, die übrigen Levels bleiben konstant. So weist auch das Copingverhalten keine Veränderungen auf. Diese Daten lassen die Schlussfolgerung zu, dass die Schulungsmaßnahme erfolgreich und langfristig die Symptome der Erkrankung lindert. Zudem lassen sie in den Immunzellpopulationen Erklärungen für diese Wirksamkeit erkennen. Gleichzeitig finden sich keine Einflüsse auf das Stressempfinden oder das psychomotorische Copingverhalten. Für zukünftige Studien hinaus sind Vergleiche von gesunder zu läsionaler Haut interessant, da sich Veränderungen teilweise nicht in den Serumspiegeln, jedoch aber im Zielorgan feststellen lassen. Gleichzeitig sollte in den Fragebogen das Copingverhalten bezüglich der Symptome beachtet werden. Darüber hinaus wäre der Vergleich der Therapieeffekte in unterschiedlich stark erkrankten Kollektiven interessant.

6 Summary

Atopic dermatitis is an autoimmune disease with a constantly rising incidence in developed countries. At present, 20% of the newborns suffer from this disease. Despite extensive research efforts a causal therapy has not been found to date. The research results show however, that the disease activity depends on stress experience and handling of stress, which affects all fields of everyday life. As a result, multimodal therapy concepts are needed. In Gießen, these were implemented in form of a three-day-education program. The aim of this study is to comprehend the consequences of this therapy on body and spirit on different levels. A group of AD-participants (n=16) was examined on the skin changes in the beginning, at the end of the education program and three months later. Furthermore questionnaire scores on stress and anxiety experience, coping behaviour, health and life quality were compiled. Also blood samples on cortisol, IgE, BDNF, SLURP-1-levels as well as immune-cell-populations of monocytes, T-regulatory-cells and dendritic cells were analyzed. The results were compared with a diseased group (n=20) and a skin-healthy control group (n=19). A significant improvement of the skin condition and pruritus in the diseased group that participated in the education program could be shown, along with decreasing of anxiety sensation, however by unvaried stress sensation and coping behaviour. Furthermore an increase of the naive T-regulatory- memory cells was observed, accompanied by intermediate monocyte population, characteristic to a regressive somatic inflammatory reaction. In the stress mediator levels of cortisol a descending trend, as a sign of a reduced stress reaction, was detected, while the other levels remained constant. These data draw the conclusion, that the educational program relieves the symptoms of the disease successfully and in long-term, whereas in the immune cell population changes could be identified, that could possibly provide an adequate explanation to this outcome. At the same time the lack of influence on stress sensation or psycho-motoric coping behaviour could hint at a reassessment of stress perception, rather than an actual decrease of stress.

For future aims, comparisons of cell- and marker-concentrations in biopsies of diseased and healthy skins could provide new insights in movement activity because certain changes are not visible in blood, but in target organs. Furthermore, direct coping behaviour regarding the symptoms, should also be taken account of in the questionnaires. Last but not least, comparisons of therapeutic effects in groups of different AD-severity could open prove to be interesting.

7 Abkürzungsverzeichnis

-	negativ, wenn an Marker angefügt
+	positiv, wenn an Marker angefügt
ACh	Acetylcholin
ACSA	Anamnestic Comparative Self Assessment
AD	Atopische Dermatitis
BDNF	brain-derived neurotrophic factor
BDNF	brain-derived neurotrophic factor
BMI	Body-Mass-Index
BI	Barsky-Index
BRCS	Brief Resilient Coping Scale
CCR	Chemokinrezeptor
CGRP	Calcitonin-gene related peptide
DC	Dendritische Zellen
DHUS	Daily Uplifts and Hassles Fragebogen
ELISA	Enzyme-linked Immunoassay
FACS	Fluorescence-activated cell sorter
FSC	Forward-Scatter
HPT	Hypothalamus-Hypophyse-Nebennierenrinden Achse
IES	Impact of Event Scale
IFN- α	Interferon- α
IFN- γ	Interferon- γ
IgE	Immunglobulin E
KND	Kontrollgruppe mit atopischer Dermatitis
KO	Kontrollgruppe hautgesund
Konz.	Konzentration
m	männlich
mDC	myeloide dendritische Zellen
MW	Mittelwert
nAChR	Nicotinischer Acetylcholin Rezeptor

nAChR α 7	alpha-7 nicotinischer Acetylcholin Rezeptor
ND	Neurodermitis (Synonym für Atopische Dermatitis)
NGF	Nerve growth factor
NK	Natürliche Killerzellen
NNCS	Non-neuronales cholinerges System
PBMCs	Periphere mononukleare Zellen
pDC	plasmocytoide dendritische Zellen
PSQ-30	Perceived Stress Questionnaire
RSES	Rosenberg Self-Esteem Scale
SA	Sympathikus-Nebennierenmark Achse
SCORAD	Scoring of Atopic Dermatitis Fragebogen
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler
SF-12	Short Form Questionnaire
SLURP-1	Secreted Ly-6/uPAR-related protein 1
SND	Schulungsgruppe mit atopischer Dermatitis
SQL	Structured Query Language
SSC	Sideward-Scatter
STAI	State/Trait Anxiety Inventory
SWOP-K9	Fragebogen zu Selbstwirksamkeit, Pessimismus und Optimismus
TGF- β	Transforming growth factor β
Th1-Zellen	T-Helferzellen Typ 1
Th2-Zellen	T-Helferzellen Typ 2
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
Tregs	T-regulatorische Zellen
w	weiblich

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zeitliches Ablaufschema der Studie 25

Abbildung 2: Liste der verwendeten Fragebogensets, unterteilt nach Themengebieten
28

Abbildung 3: Gating-Strategie zur Messung des Immunstatus 34

Abbildung 4: Gating Strategie zur Messung der T-regulatorischen
Lymphozytenpopulationen 35

Abbildung 5: Gatingstrategie zur Identifizierung der dendritischen Zellen 36

Abbildung 6: Dimensionslose SCORAD Werte (MW, SEM) über die Termine 1, 2 und 3
(T1, T2, T3) separiert nach Schulungsteilnehmern (SND) und erkrankte (KND) und
gesunde Kontrollen (KO). ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$ 53

Abbildung 7: Dimensionslose Werte (MW, SEM) von Juckreiz und ACSA-Score zur
Lebensqualität über den Studienverlauf. ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$ 54

Abbildung 8: Dimensionslose Werte der Fragebogenscores STAI-X, PSQ-30 und
DHUS zur Erfassung von Stress- und Angstempfinden (MW; SEM). ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$ 56

Abbildung 9: Dimensionslose Werte der Fragebogenscores COPE und SWOP-K9 zur
Erfassung des Copingverhaltens über den Studienverlauf (MW; SEM). ** = $p \leq 0,05$; *
= $p \leq 0,01$ 57

Abbildung 10: Dimensionslose Werte der Fragebogenscores BRCS und RSES zur
weiteren Erfassung des Copingverhaltens über den Studienverlauf (MW; SEM) 58

Abbildung 11: Dimensionslose Werte der Fragebögenscores zur Erfassung der
empfundenen Gesundheit und der Somatisierungsneigung über den Studienverlauf
(MW; SEM). ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$ 58

Abbildung 12: Darstellung der Serumkonzentrationen über den Studienverlauf (MW;
SEM). Anpassung der Skalenwerte zur besseren Darstellung. ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$ 59

Abbildung 13: Darstellung der Populationen von Lymphozyten und Monozyten in
Prozent ihrer Mutterkonzentrationen über den Studienverlauf (MW; SEM). ** = $p \leq 0,05$
; * = $p \leq 0,01$ 61

Abbildung 14: Darstellung der Populationen von T-regulatorischen Zellen in Prozent ihrer Mutterkonzentrationen über den Studienverlauf (MW; SEM). ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$ 63

Abbildung 15: Darstellung der Populationen der dendritischen Zellen in Prozent ihrer Mutterkonzentrationen über den Studienverlauf (MW; SEM). ** = $p \leq 0,05$; * = $p \leq 0,01$ 65

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klinische Kriterien zur Diagnosestellung der AD (American Academy of Dermatology) 2

Tabelle 2: Liste aller verwendeten Geräte und Instrumente 37

Tabelle 3: Verwendete Labormaterialien und übrige Arbeitsmittel 38

Tabelle 4: Liste der selbst hergestellten Medien 39

Tabelle 5: Liste der verwendeten Reagenzien (ausgenommen die bereits in den Kits Enthaltenen) 39

Tabelle 6: Liste der verwendeten ELISA Kits 37

Tabelle 7: Liste mit Funktion der verwendeten Antikörper der FACS Messungen (Hersteller ist Biolegend Vertrieb (Fell, Deutschland)) 40

Tabelle 8: Liste der verwendeten Software zur Studienplanung, Laboruntersuchung und statistischen Auswertung sowie Anfertigung der Dissertation 41

Tabelle 9: Zuweisung der Färbeantikörper zur Markierung der Monozyten und natürlichen Killerzellen mit den angegebenen Spektren an Wellenlängen 47

Tabelle 10: Zuweisung der Färbeantikörper zur Markierung der T-regulatorischen Zellpopulationen 48

Tabelle 11: Zuweisung der Färbeantikörper zur Markierung der dendritischen Zellpopulationen 49

Tabelle 12: Basisdaten aller Studienteilnehmer und deren Verteilung über die verschiedenen Gruppen (Angaben in Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD)) 52

Tabelle 13: Vergleich der Ergebnisse der Fragebogenauswertung innerhalb der Gruppen SND, KND und KO über die Zeitpunkte (Termine) 1, 2 und 3.

Statistischer Test: Friedman. Angabe von Teststatistik Q und Signifikanz p.
Signifikanzen und Trends sind fett markiert 55

Tabelle 14: Vergleich der Ergebnisse der Auswertungen der Serumkonzentrationen von Cortisol, IgE, BDNF und SLURP-1 innerhalb der Gruppen SND, KND und KO über die Zeitpunkte (Termine) 1, 2 und 3. Statistischer Test: Friedman. Angabe von Teststatistik Q und Signifikanz p. Signifikanzen und Trends sind fett markiert 59

Tabelle 15: Vergleich der Ergebnisse der Auswertungen des Immunstatus innerhalb der Gruppen SND, KND und KO über die Zeitpunkte (Termine) 1, 2 und 3. Statistischer Test: Friedman. Angabe von Teststatistik Q und Signifikanz p. Signifikanzen und Trends sind fett markiert 60

Tabelle 16: Vergleich der Ergebnisse der Auswertungen der T-regulatorischen Zellpopulationen innerhalb der Gruppen SND, KND und KO über die Zeitpunkte (Termine) 1, 2 und 3. Statistischer Test: Friedman. Angabe von Teststatistik Q und Signifikanz p. Signifikanzen und Trends sind fett markiert 62

Tabelle 17: Vergleich der Ergebnisse der Auswertungen der dendritischen Zellpopulationen innerhalb der Gruppen SND, KND und KO über die Zeitpunkte (Termine) 1, 2 und 3. Statistischer Test: Friedman. Angabe von Teststatistik Q und Signifikanz p. Signifikanzen und Trends sind fett markiert 64

10 Literaturverzeichnis

- [1] D. Yach, C. Hawkes, C. Gould, and H. KJ, "The global burden of chronic diseases: Overcoming impediments to prevention and control," *JAMA*, vol. 291, no. 21, pp. 2616–2622, Jun. 2004.
- [2] T. Bodenheimer, K. Lorig, H. Holman, and K. Grumbach, "Patient self-management of chronic disease in primary care," *JAMA*, vol. 288, no. 19, pp. 2469–2475, Nov. 2002.
- [3] T. L. Diepgen, M. Fartasch, J. Ring, S. Scheewe, D. Staab, R. Szczechanski, T. Werfel, U. Wahn, and U. Gieler, "[Education programs on atopic eczema. Design and first results of the German Randomized Intervention Multicenter Study].," *Hautarzt.*, vol. 54, no. 10, pp. 946–51, Oct. 2003.
- [4] D. Leung and T. Bieber, "Atopic dermatitis.," *Lancet*, vol. 361, no. 9352, pp. 151–60, Jan. 2003.
- [5] R. G. Hanifin JM, "Diagnostic features of atopic dermatitis," *Acta Derm Venereol*, vol. 92, no. (Suppl.), pp. 44–47, 1980.
- [6] F. Lawrance and M. D. Eichenfeld, "Guidelines of Care for the Management of Atopic," *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 70, no. 2, pp. 338–351, 2015.
- [7] Z. Pastar, J. Lipozencić, and S. Ljubojević, "Etiopathogenesis of atopic dermatitis--an overview.," *Acta dermatovenerologica Croat. ADC / Hrvat. dermatolosko Drus.*, vol. 13, no. 1, pp. 54–62, 2005.
- [8] T. Bieber, "Atopic dermatitis," *Ann. Dermatol.*, vol. 22, no. 2, pp. 125–137, 2010.
- [9] L. Maintz and N. Novak, "Getting more and more complex: the pathophysiology of atopic eczema.," *Eur. J. Dermatol.*, vol. 17, no. 4, pp. 267–283, 2007.
- [10] N. B. Silverberg and J. I. Silverberg, "Inside out or outside in: Does atopic dermatitis disrupt barrier function or does disruption of barrier function trigger atopic dermatitis?," *Cutis*, vol. 96, no. 6, pp. 359–361, 2015.
- [11] J. M. Hanifin, "Evolving Concepts of Pathogenesis in Atopic Dermatitis and Other Eczemas," *J. Invest. Dermatol.*, vol. 129, no. 2, pp. 320–322, 2009.
- [12] P. M. Elias and M. Schmuth, "Abnormal skin barrier in the etiopathogenesis of atopic dermatitis," *Curr. Allergy Asthma Rep.*, vol. 9, no. 4, pp. 265–272, 2009.
- [13] S. J. Brown and A. D. Irvine, "Atopic eczema and the filaggrin story.," *Semin. Cutan. Med. Surg.*, vol. 27, no. 2, pp. 128–137, Jun. 2008.
- [14] T. R. and J. K. Markus Grewe, Carla A.F.M. Bruijnzeel-Koomen, Erwin Schöpf, Theo Thepen, Alice G. Langeveld-Wildschut, "A role for Th1 and Th2 cells in the immunopathogenesis of atopic dermatitis," *Immunol Today.*, vol. 19, no. 8, pp. 359–361, 1998.

- [15] T. Hinz, A. Staudacher, and T. Bieber, "[Advances in the pathogenesis of atopic dermatitis].," *Hautarzt.*, vol. 57, no. 7, pp. 567-570-575, Jul. 2006.
- [16] K. Hon, M. Lam, T. Leung, W. Kam, and K. Lee, "Nocturnal wrist movements are correlated with objective clinical scores and plasma chemokine levels in children with atopic dermatitis," *Br. J. Dermatol.*, vol. 154, pp. 629–635, 2006.
- [17] M. Uehara, R. Izukura, and T. Sawai, "Blood eosinophilia in atopic dermatitis," *Clin. Exp. Dermatol.*, vol. 15, no. 4, pp. 264–266, 1990.
- [18] C. A. Akdis and M. Akdis, "Immunological differences between intrinsic and extrinsic types of atopic dermatitis," *Clin. Exp. Allergy*, vol. 33, no. 12, pp. 1618–1621, 2003.
- [19] Y. Tokura, "Extrinsic and intrinsic types of atopic dermatitis," *J. Dermatol. Sci.*, vol. 58, no. 1, pp. 1–7, 2010.
- [20] P. Schmid, D. Simon, and H. . Simon, "Epidemiology , clinical features , and immunology of the "" intrinsic "" (non-IgE-mediated) type of atopic dermatitis (constitutional dermatitis)," *Allergy*, vol. 56, pp. 841–849, 2001.
- [21] M. Suárez-Fariñas, B. Dhingra, B. Gittler, and E. Guttman-Yassky, "Intrinsic AD shows similar Th2 and higher Th17 immune activation compared to extrinsic AD," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 132, no. 2, pp. 361–370, 2014.
- [22] D. Malajian and E. Guttman-Yassky, "New pathogenic and therapeutic paradigms in atopic dermatitis," *Cytokine*, vol. 73, no. 2, pp. 311–318, 2015.
- [23] H. Hashizume, T. Horibe, A. Ohshima, T. Ito, H. Yagi, and M. Takigawa, "Anxiety accelerates T-helper 2-tilted immune responses in patients with atopic dermatitis," *Br. J. Dermatol.*, vol. 152, no. 6, pp. 1161–1164, 2005.
- [24] N. Novak, P. Allam, E. Geiger, and T. Bieber, "Characterization of monocyte subtypes in the allergic form of atopic eczema/dermatitis syndrome," *Allergy*, vol. 57, no. 10, pp. 931–935, 2002.
- [25] J. Linnet and G. B. Jemec, "An assessment of anxiety and dermatology life quality in patients with atopic dermatitis," *Br. J. Dermatol.*, vol. 140, no. 2, pp. 268–272, 1999.
- [26] A. Buske-Kirschbaum, A. Geiben, and D. Hellhammer, "Psychobiological aspects of atopic dermatitis: An overview," *Psychother. Psychosom.*, vol. 70, no. 1, pp. 6–16, 2001.
- [27] C. Hammen, "Stress and depression.," *Annu. Rev. Clin. Psychol.*, vol. 1, pp. 293–319, 2005.
- [28] E. Orion and R. Wolf, "Psychological factors in skin diseases: Stress and skin: Facts and controversies," *Clin. Dermatol.*, vol. 31, no. 6, pp. 707–711, 2013.
- [29] U. Gieler, C. Schulze, and U. Stangier, "[The concept of disease in patients with atopic dermatitis].," *Z. Hautkr.*, vol. 60, no. 15, p. 1224–1230,1235, Aug. 1985.

- [30] M. A. Gupta and A. K. Gupta, "Psychiatric and psychological co-morbidity in patients with dermatologic disorders: epidemiology and management.," *Am. J. Clin. Dermatol.*, vol. 4, no. 12, pp. 833–842, 2003.
- [31] B. Barankin and J. DeKoven, "Psychosocial effect of common skin diseases," *Can. Fam. Physician*, vol. 48, no. APRIL., pp. 712–716, 2002.
- [32] M. Augustin, "Lebensqualität bei Haut- erkrankungen : Vergleich verschiedener Lebensqualitäts- Fragebögen bei Psoriasis und atopischer Dermatitis," pp. 715–722, 1999.
- [33] M. A. Gupta, D. R. Pur, B. Vujcic, and A. K. Gupta, "Suicidal behaviors in the dermatology patient," *Clin. Dermatol.*, vol. 35, no. 3, pp. 302–311, 2017.
- [34] K. Kolves, E. Barker, and D. De Leo, "Allergies and suicidal behaviors: a systematic literature review.," *Allergy asthma Proc.*, vol. 36, no. 6, pp. 433–438, 2015.
- [35] J. F. Stalder, C. Bernier, A. Ball, L. De Raeve, U. Gieler, M. Deleuran, D. Marcoux, L. F. Eichenfield, P. Lio, S. Lewis-Jones, C. Gelmetti, R. Takaoka, C. Chiaverini, L. Misery, and S. Barbarot, "Therapeutic patient education in atopic dermatitis: Worldwide experiences," *Pediatr. Dermatol.*, vol. 30, pp. 329–334, 2013.
- [36] M. J. Ford, "Diabetic patient education.," *Public Health Nurs.*, vol. 41, no. 10, pp. 527–530, Oct. 1949.
- [37] I. O. Sim, "Humor intervention program for children with chronic diseases," *Appl. Nurs. Res.*, vol. 28, no. 4, pp. 404–412, 2015.
- [38] D. Staab, T. L. Diepgen, M. Fartasch, J. Kupfer, T. Lob-Corzilius, J. Ring, S. Scheewe, R. Scheidt, G. Schmid-Ott, C. Schnopp, R. Szczepanski, T. Werfel, M. Wittenmeier, U. Wahn, and U. Gieler, "Age related, structured educational programmes for the management of atopic dermatitis in children and adolescents: multicentre, randomised controlled trial.," *BMJ*, vol. 332, pp. 933–938, 2006.
- [39] H. C. Williams, "Educational programmes for young people with eczema.," *BMJ*, vol. 332, no. April, pp. 923–924, 2006.
- [40] K. Pickett, G. Frampton, and E. Loveman, "Education to improve quality of life of people with chronic inflammatory skin conditions: a systematic review of the evidence," *Br. J. Dermatol.*, vol. 174, no. 6, pp. 1228–1241, 2016.
- [41] E. Weisshaar, T. L. Diepgen, T. Bruckner, M. Fartasch, J. Kupfer, T. Lobcorzilius, J. Ring, S. Scheewe, R. Scheidt, G. Schmid-Ott, C. Schnopp, D. Staab, R. Szczepanski, T. Werfel, M. Wittenmeier, U. Wahn, and U. Gieler, "Itch intensity evaluated in the German Atopic Dermatitis Intervention Study (GADIS): Correlations with quality of life, coping behaviour and SCORAD severity in 823 children," *Acta Derm. Venereol.*, vol. 88, pp. 234–239, 2008.

- [42] A. W. M. Evers, P. Duller, E. M. G. J. De Jong, M. E. Otero, C. M. Verhaak, P. G. M. Van Der Valk, P. C. M. Van De Kerkhof, and F. W. Kraaimaat, "Effectiveness of a multidisciplinary itch-coping training programme in adults with atopic dermatitis," *Acta Derm. Venereol.*, vol. 89, pp. 57–63, 2009.
- [43] A. Heratizadeh, T. Werfel, and A. Wollenberg, "Effects of structured patient education in adults with atopic dermatitis: Multicenter randomized controlled trial," *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2017.
- [44] U. Stangier, Ulrich; Ehlers, Anke; Gieler, *Neurodermitis bewältigen. Verhaltenstherapie, Dermatologische Schulung, Autogenes Training*. Berlin: Springer Berlin, 1996.
- [45] T. L. Diepgen, M. Fartasch, J. Ring, S. Scheewe, D. Staab, R. Szczechanski, T. Werfel, U. Wahn, and U. Gieler, "Education programs on atopic eczema. Design and first results of the German Randomized Intervention Multicenter Study.," *Hautarzt.*, vol. 54, no. 10, pp. 946–51, Oct. 2003.
- [46] B. G. Bae, S. H. Oh, C. O. Park, S. Noh, J. Y. Noh, K. R. Kim, and K. H. Lee, "Progressive muscle relaxation therapy for atopic dermatitis: Objective assessment of efficacy," *Acta Derm. Venereol.*, vol. 92, no. 1, pp. 57–61, 2012.
- [47] Y. Chida, A. Steptoe, N. Hirakawa, N. Sudo, and C. Kubo, "The effects of psychological intervention on atopic dermatitis: A systematic review and meta-analysis," *Int. Arch. Allergy Immunol.*, vol. 144, pp. 1–9, 2007.
- [48] L. Rensing, M. Koch, B. Rippe, and V. Rippe, *Mensch im Stress*. München: Spektrum, 2006.
- [49] W. B. Cannon, "Adaptaciones de la homeostasis," *An. Med. Ateneo Ramon Cajal. Mex.*, vol. 3, pp. 1–9, Mar. 1945.
- [50] H. Selye, "On the mechanism through which hydrocortisone affects the resistance of tissues to injury; an experimental study with the granuloma pouch technique.," *J Am Med Assoc.*, vol. 152, no. 13, pp. 1207–1213, 1953.
- [51] G. Kaluza, *Stressbewältigungstraining. Trainingsmanual zur psychologischen Gesundheitsförderung*. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2004.
- [52] F. Alexander, *Psychosomatic medicine, its principles and applications*. London: George Allen & Unwin Ltd., 1952.
- [53] E. P. Whittkower, "Eczema; a psychosomatic study.," *AMA Arch Derm Syphilol.*, vol. Feb; 63, no. (2), pp. 207–19, 1951.
- [54] J. M. Beare, D. Burrows, and J. D. Merrett, "The effects of mental and physical stress on the incidence of skin disorders.," *Br. J. Dermatol.*, vol. 98, no. 5, pp. 553–8, May 1978.
- [55] A. Kodama, T. Horikawa, T. Suzuki, W. Ajiki, T. Takashima, S. Harada, and M. Ichihashi, "Effect of stress on atopic dermatitis: investigation in patients after the great hanshin

- earthquake.," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 104, no. 1, pp. 173–6, Jul. 1999.
- [56] A. Picardi and D. Abeni, "Stressful life events and skin diseases: disentangling evidence from myth.," *Psychother. Psychosom.*, vol. 70, no. 3, pp. 118–36, 2001.
- [57] R. M. King and G. V Wilson, "Use of a Diary Technique to investigate psychosomatic relations in atopic dermatitis.," pp. 697–706, 1991.
- [58] N. H. Rod, T. S. Kristensen, P. Lange, E. Prescott, and F. Diderichsen, "Perceived stress and risk of adult-onset asthma and other atopic disorders: A longitudinal cohort study," *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 67, no. 11, pp. 1408–1414, 2012.
- [59] N. W. Andersson, M. V. Hansen, A. D. Larsen, K. S. Hougaard, H. A. Kolstad, and V. Schlünssen, "Prenatal maternal stress and atopic diseases in the child: A systematic review of observational human studies," *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 71, no. 1, pp. 15–26, 2016.
- [60] U. Gieler, S. Schoof, T. Gieler, S. Scheewe, C. Schut, and J. Kupfer, "Atopic eczema and stress among single parents and families: An empirical study of 96 mothers," *Acta Derm. Venereol.*, vol. 97, no. 1, pp. 42–46, 2017.
- [61] M. Hashiro and M. Okumura, "The relationship between the psychological and immunological state in patients with atopic dermatitis.," *J. Dermatol. Sci.*, vol. 16, no. July 1996, pp. 231–235, 1998.
- [62] C. Kirschbaum, K.-M. Pirke, and D. H. Hellhammer, "The 'Trier Social Stress Test' – A Tool for Investigating Psychobiological Stress Responses in a Laboratory Setting," *Neuropsychobiology*, vol. 28, no. 1–2, pp. 76–81, 1993.
- [63] A. Buske-Kirschbaum, M. Ebrecht, S. Kern, A. Gierens, and D. H. Hellhammer, "Personality characteristics in chronic and non-chronic allergic conditions," *Brain. Behav. Immun.*, vol. 22, pp. 762–768, 2008.
- [64] A. Ehlers, A. Osen, K. Wenninger, and U. Gieler, "Atopic dermatitis and stress: possible role of negative communication with significant others.," *Int. J. Behav. Med.*, vol. 1, no. 2, pp. 107–121, 1994.
- [65] J. Hong, J. Buddenkotte, T. G. Berger, and M. Steinhoff, "Management of itch in atopic dermatitis," *Semin. Cutan. Med. Surg.*, vol. 30, no. 2, pp. 71–86, 2011.
- [66] C. Schut, U. Weik, N. Tews, U. Gieler, R. Deinzer, and J. Kupfer, "Coping as mediator of the relationship between stress and itch in patients with atopic dermatitis: a regression and mediation analysis," *Exp. Dermatol.*, vol. 24, no. 15, pp. 148–150, 2015.
- [67] C. C. Engel, "Somatization and multiple idiopathic physical symptoms: Relationship to traumatic events and post- traumatic stress disorder.," in *Trauma and health, physical health consequences of exposure to extreme stress*, P. P. Schnurr and B. L. Green, Eds. Washington D.C.: American Psychological Association, 2004, pp. 191–215.

- [68] M. a Gupta, "Somatization disorders in dermatology.," *Int. Rev. Psychiatry*, vol. 18, no. 1, pp. 41–7, 2006.
- [69] W. B. Cannon, *Bodily changes in pain, hunger, fear and rage, an account of recent researches into the function of emotional excitement*. New York and London, D. Appleton and Co., 1915.
- [70] H. Engler, R. Doenlen, C. Riether, A. Engler, H. O. Besedovsky, A. del Rey, G. Pacheco-López, and M. Schedlowski, "Chemical destruction of brain noradrenergic neurons affects splenic cytokine production," *J. Neuroimmunol.*, vol. 219, no. 1–2, pp. 75–80, 2010.
- [71] E. R. de Kloet, M. Joëls, and F. Holsboer, "Stress and the brain: from adaptation to disease," *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 6, no. 6, pp. 463–475, 2005.
- [72] E. M. J. Peters, C. Liezmann, B. F. Klapp, and J. Kruse, "The neuroimmune connection interferes with tissue regeneration and chronic inflammatory disease in the skin," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1262, pp. 118–126, 2012.
- [73] C. Liezmann, B. Klapp, and E. M. Peters, "Stress, atopy and allergy: A re-evaluation from a psychoneuroimmunologic perspective.," *Dermatoendocrinol.*, vol. 3, no. 1, pp. 37–40, Jan. 2011.
- [74] R. M. Sapolsky, L. M. Romero, and a. U. Munck, "How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses ? Preparative Actions *," *Endocr. Rev.*, vol. 21, no. April, pp. 55–89, 2000.
- [75] D. H. Hellhammer, S. Wüst, and B. M. Kudielka, "Salivary cortisol as a biomarker in stress research," *Psychoneuroendocrinology*, vol. 34, no. 2, pp. 163–171, 2009.
- [76] C. Schut, U. Weik, N. Tews, U. Gieler, R. Deinzer, and J. Kupfer, "Psychophysiological effects of stress management in patients with atopic dermatitis: A randomized controlled trial," *Acta Derm. Venereol.*, vol. 93, pp. 57–61, 2013.
- [77] L. E. Carlson, M. Speca, K. D. Patel, and E. Goodey, "Mindfulness-based stress reduction in relation to quality of life, mood, symptoms of stress and levels of cortisol, dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) and melatonin in breast and prostate cancer outpatients," *Psychoneuroendocrinology*, vol. 29, no. 4, pp. 448–474, 2004.
- [78] M. D. Klatt, J. Buckworth, and W. B. Malarkey, "Effects of Low-Dose Mindfulness-Based Stress Reduction (MBSR-Id) on Working Adults," *Heal. Educ. Behav.*, vol. 36, no. 3, pp. 601–614, 2009.
- [79] C. Kirschbaum and D. H. Hellhammer, "Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: Recent developments and applications," *Psychoneuroendocrinology*, vol. 19, no. 4, pp. 313–333, 1994.
- [80] A. Buske-Kirschbaum, S. Jobst, A. Wustmans, C. Kirschbaum, W. Rauh, and D.

- Hellhammer, "Attenuated free cortisol response to psychosocial stress in children with atopic dermatitis," *Psychosom. Med.*, vol. 59, no. 4, pp. 419–426, 1997.
- [81] K. Seiffert, E. Hilbert, H. Schaechinger, C. C. Zouboulis, and H. C. Deter, "Psychophysiological reactivity under mental stress in atopic dermatitis," *Dermatology*, vol. 210, no. 4, pp. 286–293, Jan. 2005.
- [82] A. Buske-Kirschbaum, A. Geiben, H. Höllig, E. Morschhäuser, and D. Hellhammer, "Altered responsiveness of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis and the sympathetic adrenomedullary system to stress in patients with atopic dermatitis," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 87, no. 9, pp. 4245–4251, 2002.
- [83] I. J. Elenkov and G. P. Chrousos, "Pro / Anti-inflammatory Cytokines and Susceptibility to Disease," *Trends Endocrinol. Metab.*, vol. 10, no. 9, pp. 359–368, 1999.
- [84] J. Wallengren and R. Håkanson, "Effects of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in human skin and their involvement in sensory nerve-mediated responses.," *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 143, pp. 267–273, 1987.
- [85] A. Braun, E. Appel, R. Baruch, and U. Herz, "Role of nerve growth factor in a mouse model of allergic airway inflammation and asthma.," *Eur. J. Immunol.*, vol. 28, pp. 3240–3251, 1998.
- [86] M. Kerschensteiner, E. Gallmeier, L. Behrens, V. V Leal, T. Misgeld, W. E. Klinkert, R. Kolbeck, E. Hoppe, R. L. Oropeza-Wekerle, I. Bartke, C. Stadelmann, H. Lassmann, H. Wekerle, and R. Hohlfeld, "Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation?," *J. Exp. Med.*, vol. 189, no. 5, pp. 865–870, 1999.
- [87] R. J. Wright, R. T. Cohen, and S. Cohen, "The impact of stress on the development and expression of atopy.," *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 5, no. 1, pp. 23–9, Feb. 2005.
- [88] E. M. J. Peters, U. Raap, P. Welker, A. Tanaka, H. Matsuda, S. Pavlovic-Masnicosa, S. Hendrix, and C. Pincelli, "Neurotrophins act as neuroendocrine regulators of skin homeostasis in health and disease," *Horm. Metab. Res.*, vol. 39, no. 2, pp. 110–124, Feb. 2007.
- [89] M. Toyoda, M. Nakamura, T. Makino, T. Hino, M. Kagoura, and M. Morohashi, "Nerve growth factor and substance P are useful plasma markers of disease activity in atopic dermatitis," *Br. J. Dermatol.*, vol. 147, no. 1, pp. 71–79, 2002.
- [90] K. Rössing, N. Novak, S. Mommert, F. Pfab, M. Gehring, B. Wedi, a. Kapp, and U. Raap, "Brain-derived neurotrophic factor is increased in serum and skin levels of patients with chronic spontaneous urticaria," *Clin. Exp. Allergy*, vol. 41, no. 10, pp. 1392–1399, Oct. 2011.
- [91] S. Pavlovic, M. Daniltchenko, D. J. Tobin, E. Hagen, S. P. Hunt, B. F. Klapp, P. C. Arck,

- and E. M. J. Peters, "Further exploring the brain-skin connection: stress worsens dermatitis via substance P-dependent neurogenic inflammation in mice.," *J. Invest. Dermatol.*, vol. 128, no. 2, pp. 434–446, Feb. 2008.
- [92] T. Okabe, M. Hide, O. Koro, and S. Yamamoto, "Substance P induces tumor necrosis factor- a release from human skin via mitogen-activated protein kinase," pp. 309–315, 2000.
- [93] R. Cocchiara, N. Lampiasi, G. Albegiani, a Bongiovanni, a Azzolina, and D. Geraci, "Mast cell production of TNF-alpha induced by substance P evidence for a modulatory role of substance P-antagonists.," *J. Neuroimmunol.*, vol. 101, pp. 128–136, 1999.
- [94] S. Pavlovic, M. Daniltchenko, D. J. Tobin, E. Hagen, S. P. Hunt, B. F. Klapp, P. C. Arck, and E. M. J. Peters, "Further exploring the brain-skin connection: stress worsens dermatitis via substance P-dependent neurogenic inflammation in mice.," *J. Invest. Dermatol.*, vol. 128, no. 2, pp. 434–46, Feb. 2008.
- [95] U. Raap, C. Goltz, N. Deneka, M. Bruder, H. Renz, A. Kapp, and B. Wedi, "Brain-derived neurotrophic factor is increased in atopic dermatitis and modulates eosinophil functions compared with that seen in nonatopic subjects," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 115, no. 6, pp. 1268–1275, Jun. 2005.
- [96] K. Namura, G. Hasegawa, M. Egawa, T. Matsumoto, R. Kobayashi, T. Yano, N. Katoh, S. Kishimoto, M. Ohta, H. Obayashi, H. Ose, M. Fukui, N. Nakamura, and T. Yoshikawa, "Relationship of serum brain-derived neurotrophic factor level with other markers of disease severity in patients with atopic dermatitis," *Clin. Immunol.*, vol. 122, no. 2, pp. 181–186, 2007.
- [97] L. Ma, X.-H. Gao, L.-P. Zhao, Z.-H. Di, U. O. Mchepange, L. Zhang, H.-D. Chen, and H.-C. Wei, "Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphisms and serum levels in Chinese atopic dermatitis patients.," *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, vol. 23, no. 11, pp. 1277–1281, Nov. 2009.
- [98] B. Zhe-Yu Chen, Deqiang Jing, Kevin G. Bath, Alessandro Ieraci, Tanvir Khan, Chia-Jen Siao, Daniel G. Herrera, Miklos Toth, Chingwen Yang, Bruce S. McEwen and and F. S. L. L. Hempstead, "Genetic Variant BDNF (Val66Met) Polymorphism Alters Anxiety-Related Behavior," *Science (80-)*, vol. 314, no. 5796, pp. 140–143, 2006.
- [99] K. Yamada and T. Nabeshima, "Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in memory processes.," *J. Pharmacol. Sci.*, vol. 91, no. 4, pp. 267–270, 2003.
- [100] D. A. Amodeo, G. Grospe, H. Zang, Y. Dwivedi, and M. E. Ragozzino, "Cognitive flexibility impairment and reduced frontal cortex BDNF expression in the ouabain model of mania," *Neuroscience*, vol. 345, pp. 229–242, 2016.
- [101] S. Pavlovic, C. Liezmann, S. M. Blois, R. Joachim, J. Kruse, N. Romani, B. F. Klapp, and E. M. J. Peters, "Substance P is a key mediator of stress-induced protection from allergic

- sensitization via modified antigen presentation.," *J. Immunol.*, vol. 186, no. 2, pp. 848–855, Jan. 2011.
- [102] A. Mulla and J. C. Buckingham, "Regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis by cytokines.," *Baillieres. Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 13, no. 4, pp. 503–521, Dec. 1999.
- [103] F. Kindt, S. Wiegand, V. Niemeier, J. Kupfer, C. Löser, M. Nilles, H. Kurzen, W. Kummer, U. Gieler, and R. V. Haberberger, "Reduced expression of nicotinic α subunits 3, 7, 9 and 10 in lesional and nonlesional atopic dermatitis skin but enhanced expression of α subunits 3 and 5 in mast cells," *Br. J. Dermatol.*, vol. 159, no. 4, pp. 847–857, 2008.
- [104] J. W. Tjiu, P. J. Lin, W. H. Wu, Y. P. Cheng, H. C. Chiu, H. Y. Thong, B. L. Chiang, W. S. Yang, and S. H. Jee, "SLURP1 mutation-impaired T-cell activation in a family with mal de Meleda," *Br. J. Dermatol.*, vol. 164, no. 1, pp. 47–53, 2011.
- [105] H. Kurzen, I. Wessler, C. J. Kirkpatrick, K. Kawashima, and S. a. Grando, "The non-neuronal cholinergic system of human skin," *Horm. Metab. Res.*, vol. 39, pp. 125–135, 2007.
- [106] F. Chimienti, R. C. Hogg, L. Plantard, C. Lehmann, N. Brakch, J. Fischer, M. Huber, D. Bertrand, and D. Hohl, "Identification of SLURP-1 as an epidermal neuromodulator explains the clinical phenotype of Mal de Meleda," *Hum. Mol. Genet.*, vol. 12, no. 22, pp. 3017–3024, 2003.
- [107] I. Wessler, C. J. Kirkpatrick, and K. Rack??, "Non-neuronal acetylcholine, a locally acting molecule, widely distributed in biological systems: Expression and function in humans," *Pharmacol. Ther.*, vol. 77, no. 1, pp. 59–79, 1998.
- [108] K. Horiguchi, S. Horiguchi, N. Yamashita, K. Irie, J. Masuda, H. Takano-Ohmuro, T. Himi, M. Miyazawa, Y. Moriwaki, T. Okuda, H. Misawa, H. Ozaki, and K. Kawashima, "Expression of SLURP-1, an endogenous $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor allosteric ligand, in murine bronchial epithelial cells," *J. Neurosci. Res.*, vol. 87, no. 12, pp. 2740–2747, Sep. 2009.
- [109] E. M. J. Peters, A. Michenko, J. Kupfer, W. Kummer, S. Wiegand, V. Niemeier, N. Potekaev, A. Lvov, and U. Gieler, "Mental stress in atopic dermatitis - Neuronal plasticity and the cholinergic system are affected in atopic dermatitis and in response to acute experimental mental stress in a randomized controlled pilot study," *PLoS One*, vol. 9, no. 12, pp. 1–17, 2014.
- [110] K. S. Lips, A. Lührmann, T. Tschernig, T. Stoeger, F. Alessandrini, V. Grau, R. V. Haberberger, H. Koepsell, R. Pabst, and W. Kummer, "Down-regulation of the non-neuronal acetylcholine synthesis and release machinery in acute allergic airway inflammation of rat and mouse," *Life Sci.*, vol. 80, no. 24–25, pp. 2263–2269, 2007.
- [111] K. Beyer, D. Chung, G. Schulz, M. Mishoe, B. Niggemann, U. Wahn, and H. A.

- Sampson, "The role of wheat ω -5 gliadin IgE antibodies as a diagnostic tool for wheat allergy in childhood," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 122, no. 2, pp. 419–421, 2008.
- [112] T. Yamamoto, T. Kodama, J. Lee, N. Utsunomiya, S. Hayashi, H. Sakamoto, H. Kuramoto, and M. Kadowaki, "Anti-allergic role of cholinergic neuronal pathway via $\alpha 7$ nicotinic ACh receptors on mucosal mast cells in a murine food allergy model," *PLoS One*, vol. 9, no. 1, 2014.
- [113] H. Wang, M. Yu, M. Ochani, C. A. Amella, M. Tanovic, S. Susarla, J. H. Li, H. Wang, H. Yang, L. Ulloa, Y. Al-Abed, C. J. Czura, and K. J. Tracey, "Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation.," *Nature*, vol. 421, no. 6921, pp. 384–388, 2003.
- [114] A. K. Abbas, A. H. H. Lichtman, and S. Pillai, *Cellular and molecular immunology*. Elsevier Health Sciences, 2014.
- [115] F. O. Nestle, P. Di Meglio, J.-Z. Qin, and B. J. Nickoloff, "Skin immune sentinels in health and disease," *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 9, no. 10, pp. 679–691, 2009.
- [116] J. K. Salmon, C. A. Armstrong, and J. C. Ansel, "Conferences and Reviews The Skin as an Immune Organ," pp. 181–183.
- [117] T. S. Kupper and R. C. Fuhlbrigge, "Immune surveillance in the skin: mechanisms and clinical consequences," *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 4, no. 3, pp. 211–222, 2004.
- [118] S. Romagnani, "The Th1/Th2 paradigm," *Immunol. Today*, vol. 18, no. 6, pp. 263–266, 1997.
- [119] D. Hijnen, E. F. Knol, Y. Y. Gent, B. Giovannone, S. J. P. Beijm, T. S. Kupper, C. A. F. M. Bruijnzeel-Koomen, and R. A. Clark, "CD8(+) T cells in the lesional skin of atopic dermatitis and psoriasis patients are an important source of IFN- γ , IL-13, IL-17, and IL-22.," *J. Invest. Dermatol.*, vol. 133, no. 4, pp. 973–9, 2013.
- [120] V. H. J. Van Der Velden, M. P. Laan, M. R. M. Baert, R. De Waal Malefyt, H. J. Neijens, and H. F. J. Savelkoul, "Selective development of a strong Th2 cytokine profile in high-risk children who develop atopy: Risk factors and regulatory role of IFN- γ , IL-4 and IL-10," *Clin. Exp. Allergy*, vol. 31, no. 7, pp. 997–1006, 2001.
- [121] I. J. Elenkov and G. P. Chrousos, "Stress system - Organization, physiology and immunoregulation," *Neuroimmunomodulation*, vol. 13, pp. 257–267, 2007.
- [122] M. L. Giustizieri, F. Mascia, A. Frezzolini, O. De Pità, L. M. Chinni, A. Giannetti, G. Girolomoni, and S. Pastore, "Keratinocytes from patients with atopic dermatitis and psoriasis show a distinct chemokine production profile in response to T cell-derived cytokines," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 107, no. 5 SUPPL., pp. 871–877, 2001.
- [123] A. Kock, "Human keratinocytes are a source for tumor necrosis factor alpha: evidence for synthesis and release upon stimulation with endotoxin or ultraviolet light," *J. Exp.*

- Med.*, vol. 172, no. 6, pp. 1609–1614, 1990.
- [124] A. I. Chernyavsky, S. Marchenko, C. Phillips, and S. A. Grando, “Auto/paracrine nicotinic peptides participate in cutaneous stress response to wounding,” *Dermatoendocrinol*, vol. 4, no. 3, pp. 324–330, 2012.
- [125] M. Mandl, S. Schmitz, C. Weber, and M. Hristov, “Characterization of the cd14⁺⁺cd16⁺ monocyte population in human bone marrow,” *PLoS One*, vol. 9, no. 11, 2014.
- [126] E. S. Wohleb, D. B. McKim, D. T. Shea, N. D. Powell, A. J. Tarr, J. F. Sheridan, and J. P. Godbout, “Re-establishment of Anxiety in Stress-Sensitized Mice Is Caused by Monocyte Trafficking from the Spleen to the Brain Eric,” *Biol Psychiatry*, vol. 15, no. 75, pp. 970–981, 2014.
- [127] K. L. Wong, J. J.-Y. Tai, W.-C. Wong, H. Han, X. Sem, W.-H. Yeap, P. Kourilsky, and S.-C. Wong, “Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets.,” *Blood*, vol. 118, no. 5, pp. e16-31, 2011.
- [128] J. Skrzeczyńska-Moncznik, M. Bzowska, S. Loseke, E. Grage-Griebenow, M. Zembala, and J. Pryjma, “Peripheral blood CD14^{high} CD16⁺ monocytes are main producers of IL-10,” *Scand. J. Immunol.*, vol. 67, no. 2, pp. 152–159, 2008.
- [129] S.-C. Lo, W.-J. Lee, C.-Y. Chen, and B.-C. Lee, “Intermediate CD14⁺⁺CD16⁺ monocyte predicts severe coronary stenosis and extensive plaque involvement in asymptomatic individuals,” *Int. J. Cardiovasc. Imaging*, vol. 0, no. 0, p. 0, 2017.
- [130] M. Tsukamoto, N. Seta, K. Yoshimoto, K. Suzuki, and K. Yamaoka, “Are Induced By Interleukin-10 and Positively Correlate With Disease Activity in Rheumatoid Arthritis,” pp. 1–10, 2017.
- [131] A. G. Taylor, T. G. Fischer-White, J. G. Anderson, K. E. Adelstein, M. Murugesan, J. E. Lewis, M. M. Scott, R. P. A. Gaykema, and L. E. Goehler, “Stress, Inflammation and Pain: A Potential Role for Monocytes in Fibromyalgia-related Symptom Severity,” *Stress Heal.*, pp. 503–513, 2015.
- [132] A. Vorselaars, D. Hijdra, H. Crommelin, C. Van Moorsel, and J. Grutters, “Significant changes in monocyte subsets during infliximab therapy in severe sarcoidosis,” *Eur. Respir. J.*, vol. 46, no. suppl 59, Oct. 2015.
- [133] Y. Yang, X. Zhang, D. Zhang, H. Li, L. Ma, M. Xuan, H. Wang, and R. Yang, “Abnormal Distribution and Function of Monocyte Subsets in Patients With Primary Immune Thrombocytopenia.,” *Clin. Appl. Thromb. Off. J. Int. Acad. Clin. Appl. Thromb.*, pp. 1–7, 2016.
- [134] J. E. Kim, G. Lin, J. Zhou, J. A. Mund, J. Case, and W. Wayne, “Weight loss achieved using an energy restriction diet with normal or higher dietary protein decreased the number of CD14⁺⁺CD16⁺ pro-inflammatory monocytes and plasma lipids and

- lipoproteins in middle-aged, overweight and obese adults,” *Nutr. Res.*, vol. 40, pp. 75–84, 2017.
- [135] D. M. Mosser and X. Zhang, “Interleukin-10: New perspectives on an old cytokine,” *Immunol. Rev.*, vol. 226, no. 1, pp. 205–218, 2008.
- [136] O. Narumoto, K. Horiguchi, S. Horiguchi, Y. Moriwaki, H. Takano-Ohmuro, S. Shoji, H. Misawa, N. Yamashita, T. Nagase, K. Kawashima, and N. Yamashita, “Down-regulation of secreted lymphocyte antigen-6/urokinase-type plasminogen activator receptor-related peptide-1 (SLURP-1), an endogenous allosteric $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor modulator, in murine and human asthmatic conditions,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 398, no. 4, pp. 713–718, Aug. 2010.
- [137] K. Kawashima, T. Fujii, Y. Moriwaki, H. Misawa, and K. Horiguchi, “Reconciling neuronally and nonneuronally derived acetylcholine in the regulation of immune function,” *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1261, no. 1, pp. 7–17, 2012.
- [138] I. Apostolou and H. von Boehmer, “In vivo instruction of suppressor commitment in naive T cells,” *J. Exp. Med.*, vol. 199, no. 10, pp. 1401–8, 2004.
- [139] A. Sogut, O. Yilmaz, C. Kirmaz, K. Ozbilgin, E. Onur, O. Celik, E. Pinar, S. Vatansever, G. Dinc, and H. Yuksel, “Regulatory-T, T-helper 1, and T-helper 2 cell differentiation in nasal mucosa of allergic rhinitis with olive pollen sensitivity,” *Int. Arch. Allergy Immunol.*, vol. 157, no. 4, pp. 349–353, 2012.
- [140] A. Noble, A. Giorgini, and J. A. Leggat, “Cytokine-induced IL-10-secreting CD8 T cells represent a phenotypically distinct suppressor T-cell lineage,” *Blood*, vol. 107, no. 11, pp. 4475–4483, 2006.
- [141] A. Ray, A. Khare, N. Krishnamoorthy, and Z. Qi, “NIH Public Access,” vol. 3, no. 3, pp. 216–229, 2011.
- [142] H. Zhang, H. Kong, X. Zeng, L. Guo, X. Sun, and S. He, “Subsets of regulatory T cells and their roles in allergy,” *J. Transl. Med.*, vol. 12, no. 1, p. 125, 2014.
- [143] T. Nakatani, Y. Kaburagi, Y. Shimada, M. Inaoki, K. Takehara, N. Mukaida, and S. Sato, “CCR4 memory CD4+ T lymphocytes are increased in peripheral blood and lesional skin from patients with atopic dermatitis,” *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 107, no. 2, pp. 353–8, 2001.
- [144] T. Imai, M. Nagira, S. Takagi, M. Kakizaki, M. Nishimura, J. Wang, P. W. Gray, K. Matsushima, and O. Yoshie, “Selective recruitment of CCR4-bearing Th2 cells toward antigen-presenting cells by the CC chemokines thymus and activation-regulated chemokine and macrophage-derived chemokine,” *Int. Immunol.*, vol. 11, no. 1, pp. 81–88, Jan. 1999.
- [145] M. Bofill, E. Almirall, A. McQuaid, R. Peña, R. Ruiz-Hernandez, M. Naranjo, L. Ruiz, B. Clotet, and F. E. Borrás, “Differential expression of the cytokine receptors for human

- interleukin (IL)-12 and IL-18 on lymphocytes of both CD45RA+ and CD45RO + phenotype from tonsils, cord and adult peripheral blood," *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 138, no. 3, pp. 460–465, 2004.
- [146] N. Zhang, B. Schröppel, G. Lal, C. Jakubzick, X. Mao, N. Yin, R. Jessberger, J. C. Ochando, Y. Ding, and J. S. Bromberg, "Regulatory T cells sequentially migrate from the site of tissue inflammation to the draining LN to suppress the alloimmune response," *Immunity*, vol. 30, no. 3, pp. 458–469, 2009.
- [147] D. Simon, L. R. Braathen, and H.-U. Simon, "Increased lipopolysaccharide-induced tumour necrosis factor-alpha, interferon-gamma and interleukin-10 production in atopic dermatitis," *Br. J. Dermatol.*, vol. 157, no. 3, pp. 583–586, 2007.
- [148] J. A. Dunstan, J. Hale, L. Breckler, H. Lehmann, S. Weston, P. Richmond, and S. L. Prescott, "Atopic dermatitis in young children is associated with impaired interleukin-10 and interferon- γ responses to allergens, vaccines and colonizing skin and gut bacteria," *Clin. Exp. Allergy*, vol. 35, no. 10, pp. 1309–1317, 2005.
- [149] W. Liu, A. L. Putnam, Z. Xu-Yu, G. L. Szot, M. R. Lee, S. Zhu, P. A. Gottlieb, P. Kapranov, T. R. Gingeras, B. Fazekas de St Groth, C. Clayberger, D. M. Soper, S. F. Ziegler, and J. A. Bluestone, "CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells.," *J. Exp. Med.*, vol. 203, no. 7, pp. 1701–11, 2006.
- [150] N. Seddiki, B. Santner-Nanan, J. Martinson, J. Zaunders, S. Sasson, A. Landay, M. Solomon, W. Selby, S. I. Alexander, R. Nanan, A. Kelleher, and B. F. de St. Groth, "Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells," *J. Exp. Med.*, vol. 203, no. 7, pp. 1693–1700, 2006.
- [151] L. S. Ou, E. Goleva, C. Hall, and D. Y. M. Leung, "T regulatory cells in atopic dermatitis and subversion of their activity by superantigens," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 113, no. 4, pp. 756–763, 2004.
- [152] C. Brandt, V. Pavlovic, A. Radbruch, M. Worm, and R. Baumgrass, "Low-dose cyclosporine A therapy increases the regulatory T cell population in patients with atopic dermatitis," *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 64, no. 11, pp. 1588–1596, 2009.
- [153] A. Szegedi, S. Baráth, G. Nagy, P. Szodoray, M. Gál, S. Sipka, E. Bagdi, A. H. Banham, and L. Krenács, "Regulatory T cells in atopic dermatitis: Epidermal dendritic cell clusters may contribute to their local expansion," *Br. J. Dermatol.*, vol. 160, no. 5, pp. 984–993, 2009.
- [154] T. Honda, G. Egawa, S. Grabbe, and K. Kabashima, "Update of immune events in the murine contact hypersensitivity model: toward the understanding of allergic contact dermatitis," *J. Invest. Dermatol.*, vol. 133, no. 2, pp. 303–315, 2013.
- [155] E. Geiger, R. Magerstaedt, J. H. Wessendorf, S. Kraft, D. Hanau, and T. Bieber, "IL-4

- induces the intracellular expression of the alpha chain of the high-affinity receptor for IgE in in vitro-generated dendritic cells.," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 105, no. 1 Pt 1, pp. 150–156, Jan. 2000.
- [156] L. Ziegler-Heitbrock, P. Ancuta, S. Crowe, M. Dalod, V. Grau, N. Derek, P. J. M. Leenen, Y. Liu, G. Macpherson, G. J. Randolph, J. Schmitz, K. Shortman, S. Sozzani, H. Strobl, M. Zembala, J. M. Austyn, M. B. Lutz, and D. N. Hart, "Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood," vol. 116, no. 16, pp. 5–7, 2014.
- [157] G. Trinchieri, "Interleukin-12: A proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity," *Annu. Rev. Immunol.*, no. 13, pp. 251–176, 1995.
- [158] K. Zedan, "Immunoglobulin E, Interleukin-18 and Interleukin-12 in Patients with Atopic Dermatitis: Correlation with Disease Activity," *J. Clin. Diagnostic Res.*, pp. 1–5, 2015.
- [159] M. Rissoan and V. Soumelis, "Reciprocal Control of T Helper Cell and Dendritic Cell Differentiation," vol. 283, no. February, pp. 1183–1186, 1999.
- [160] M. Moser, "Regulation of Th1/Th2 development by antigen-presenting cells in vivo.," *Immunobiology*, vol. 204, no. 5, pp. 551–7, 2001.
- [161] J. R. Tversky, V. L. Trong, A. P. Bieneman, K. L. Chichester, R. G. Hamilton, and J. T. Schroeder, "Human blood dendritic cells from allergic subjects have impaired capacity to produce interferon- α via TLR9," *Clin Exp Allergy*, vol. 38, no. 5, pp. 781–788, 2008.
- [162] A. Wollenberg, M. Wagner, S. Günther, A. Towarowski, E. Tuma, M. Moderer, S. Rothenfusser, S. Wetzel, S. Endres, and G. Hartmann, "Plasmacytoid Dendritic Cells: A New Cutaneous Dendritic Cell Subset with Distinct Role in Inflammatory Skin Diseases," *Society*, pp. 1096–1103, 2002.
- [163] Y. Zheng, C. N. Manzotti, M. Liu, F. Burke, K. I. Mead, and D. M. Sansom, "CD86 and CD80 differentially modulate the suppressive function of human regulatory T cells," *J Immunol*, vol. 172, no. 5, pp. 2778–2784, 2004.
- [164] Y. Hayashi, Y. Ishii, M. Hata-Suzuki, R. Arai, K. Chibana, A. Takemasa, and T. Fukuda, "Comparative analysis of circulating dendritic cell subsets in patients with atopic diseases and sarcoidosis.," *Respir. Res.*, vol. 14, no. 1, p. 29, 2013.
- [165] M. Hata, S. Takahara, H. Tsuzaki, Y. Ishii, K. Nakata, K. S. Akagawa, and K. Satoh, "Expression of Th2-skewed pathology mediators in monocyte-derived type 2 of dendritic cells (DC2)," *Immunol. Lett.*, vol. 126, no. 1–2, pp. 29–36, 2009.
- [166] S. Ebner, S. Hofer, V. A. Nguyen, C. Furhapter, M. Herold, P. Fritsch, C. Heufler, and N. Romani, "A Novel Role for IL-3: Human Monocytes Cultured in the Presence of IL-3 and IL-4 Differentiate into Dendritic Cells That Produce Less IL-12 and Shift Th Cell Responses Toward a Th2 Cytokine Pattern," *J. Immunol.*, vol. 168, no. 12, pp. 6199–

6207, 2002.

- [167] G. J. Randolph, V. Angeli, and M. A. Swartz, "Dendritic-cell trafficking to lymph nodes through lymphatic vessels," *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 5, no. 8, pp. 617–628, 2005.
- [168] M. Haniffa, A. Shin, V. Bigley, N. McGovern, P. Teo, P. See, P. S. Wasan, X. N. Wang, F. Malinarich, B. Malleret, A. Larbi, P. Tan, H. Zhao, M. Poidinger, S. Pagan, S. Cookson, R. Dickinson, I. Dimmick, R. F. Jarrett, L. Renia, J. Tam, C. Song, J. Connolly, J. K. Y. Chan, A. Gehring, A. Bertoletti, M. Collin, and F. Ginhoux, "Human Tissues Contain CD141 hi Cross-Presenting Dendritic Cells with Functional Homology to Mouse CD103 + Nonlymphoid Dendritic Cells," *Immunity*, vol. 37, no. 1, pp. 60–73, 2012.
- [169] M. Haniffa, M. Gunawan, and L. Jardine, "Human skin dendritic cells in health and disease," *J. Dermatol. Sci.*, vol. 77, no. 2, pp. 85–92, 2015.
- [170] R. Ader, N. Cohen, and D. Felten, "Psychoneuroimmunology: interactions between the nervous system and the immune system," *Lancet*, vol. 345, no. 8942, pp. 99–103, 1995.
- [171] *Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis.*, vol. 186, no. 1, 1993, pp. 23–21.
- [172] A. Ehlers, U. Stangier, and U. Gieler, "Treatment of atopic dermatitis: a comparison of psychological and dermatological approaches to relapse prevention.," *J. Consult. Clin. Psychol.*, vol. 63, no. 4, pp. 624–635, 1995.
- [173] C. Charman and H. Williams, "Outcome measures of disease severity in atopic eczema.," *Arch. Dermatol.*, vol. 136, no. 6, pp. 763–9, 2000.
- [174] C. Blome, M. A. Radtke, L. Eissing, and M. Augustin, "Quality of Life in Patients with Atopic Dermatitis: Disease Burden, Measurement, and Treatment Benefit," *Am. J. Clin. Dermatol.*, vol. 17, no. 2, pp. 163–169, 2016.
- [175] J. L. Bernheim, "Evaluation of the quality of life during treatment," *Bull. Cancer*, vol. 73, pp. 614–619, 1986.
- [176] S. Lewis-Jones, "Quality of life and childhood atopic dermatitis: The misery of living with childhood eczema," *Int. J. Clin. Pract.*, vol. 60, no. 8, pp. 984–992, 2006.
- [177] P. C. Kendall, a J. Finch, S. M. Auerbach, J. F. Hooke, and P. J. Mikulka, "The State-Trait Anxiety Inventory: a systematic evaluation.," *J. Consult. Clin. Psychol.*, vol. 44, no. 3, pp. 406–12, Jun. 1976.
- [178] C. Hull, *Essentials of behavior*. New Haven, CT: Yale University Press, 1951.
- [179] S. Levenstein, C. Prantera, V. Varvo, M. L. Scribano, E. Berto, C. Luzi, and a Andreoli, "Development of the Perceived Stress Questionnaire: a new tool for psychosomatic research.," *J. Psychosom. Res.*, vol. 37, no. 1, pp. 19–32, Jan. 1993.
- [180] A. D. Kanner, J. C. Coyne, C. Schaefer, and R. S. Lazarus, "Comparison of two modes of stress measurement: daily hassles and uplifts versus major life events.," *J. Behav.*

- Med.*, vol. 4, no. 1, pp. 1–39, Mar. 1981.
- [181] C. S. Carver, “You want to measure coping but your protocol’s too long: consider the brief COPE.,” *Int. J. Behav. Med.*, vol. 4, no. 1, pp. 92–100, Jan. 1997.
- [182] V. G. Sinclair and K. a. Wallston, “The Development and Psychometric Evaluation of the Brief Resilient Coping Scale,” *Assessment*, vol. 11, no. 1, pp. 94–101, Mar. 2004.
- [183] M. F. Scheier and C. S. Carver, “Optimism, coping, and health: assessment and implications of generalized outcome expectancies.,” *Health Psychol.*, vol. 4, pp. 219–247, 1985.
- [184] M. Jerusalem and R. Schwarzer, *General self-efficacy scale*. Berlin: Freie Universität zu Berlin, 1981.
- [185] K. B. Scholler G, Fliege H, “No Title,” *Psychother Psychosom Med Psychol.*, vol. 49, no. 8, pp. 275–283, 1999.
- [186] M. Rosenberg, “No Title,” *Princeton University Press*, Princeton, NJ, 1965.
- [187] E. A. Newnham, K. E. Harwood, and A. C. Page, “Evaluating the clinical significance of responses by psychiatric inpatients to the mental health subscales of the SF-36.,” *J. Affect. Disord.*, vol. 98, no. 1–2, pp. 91–7, Feb. 2007.
- [188] A. J. Barsky, G. Wyshak, and G. L. Klerman, “The somatosensory amplification scale and its relationship to hypochondriasis.,” *J. Psychiatr. Res.*, vol. 24, no. 4, pp. 323–334, 1990.
- [189] M. Nakao, A. J. Barsky, H. Kumano, and T. Kuboki, “Relationship between somatosensory amplification and alexithymia in a Japanese psychosomatic clinic,” *Psychosomatics*, vol. 43, no. 1, pp. 55–60, 2002.
- [190] H. Güleç and K. Sayar, “Reliability and validity of the Turkish form of the Somatosensory Amplification Scale,” *Psychiatry Clin. Neurosci.*, vol. 61, no. 1, pp. 25–30, 2007.
- [191] E. Engvall and P. Perlmann, “Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G.,” *Immunochemistry*, vol. 8, no. 9, pp. 871–4, Sep. 1971.
- [192] L. Melin, T. Frederiksen, P. Noren, and B. G. Swebilius, “Behavioural treatment of scratching in patients with atopic dermatitis.,” *Br. J. Dermatol.*, vol. 115, pp. 467–474, 1986.
- [193] Z. S. Chren MM, Lasek RJ, Flocke SA, “Improved discriminative and evaluative capability of a refined version of Skindex, a quality-of-life instrument for patients with skin diseases,” *Arch Dermatol.*, vol. 133, no. 11, pp. 1433–1440, 1997.
- [194] L. Beck, T. Bieber, H. Ren, R. Kao, E. Guttman-Yassky, and M. Suarez-Farinas, “Dupilumab treatment in adults with moderate-to-severe atopic dermatitis,” *N Engl J Med*, vol. 371, no. 2, pp. 130–139, 2014.

- [195] S. B. Shuba Rajashri Iyengar, Elizabeth G. Hoyte, Angelica Loza and and K. C. N. David Chiang, Dale T. Umetsu, "Immunologic Effects of Omalizumab in Children with Severe Refractory Atopic Dermatitis: A Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial," *Int Arch Allergy Immunol.*, vol. 162, no. 1, pp. 89–93, 2013.
- [196] R. Bissonnette, Y. Poulin, Y. Zhou, J. Tan, H. C. Hong, J. Webster, W. Ip, L. Tang, and M. Lyle, "Efficacy and safety of topical WBI-1001 in patients with mild to severe atopic dermatitis: Results from a 12-week, multicentre, randomized, placebo-controlled double-blind trial," *Br. J. Dermatol.*, vol. 166, no. 4, pp. 853–860, 2012.
- [197] H. Golan, "Placebos and suggestion in psychosomatic disease.," *J Am Soc Psychosom Dent Med*, vol. 12, no. 4, pp. 105–121, 1965.
- [198] P. Enck, S. Klosterhalfen, and K. Weimer, "Unsolved, Forgotten, and Ignored Features of the Placebo Response in Medicine.," *Clin. Ther.*, vol. 39, no. 3, pp. 458–468, 2016.
- [199] K. Munzel and R. Schandry, "[Atopic eczema: psychophysiological reactivity with standardized stressors].," *Hautarzt.*, vol. 41, no. 11, pp. 606–611, Nov. 1990.
- [200] M. E. Faulstich, D. A. Williamson, E. G. Duchmann, S. L. Conerly, and P. J. Brantley, "Psychophysiological analysis of atopic dermatitis.," *J. Psychosom. Res.*, vol. 29, no. 4, pp. 415–417, 1985.
- [201] T. Koehler and D. Weber, "Psychophysiological reactions of patients with atopic dermatitis.," *J. Psychosom. Res.*, vol. 36, no. 4, pp. 391–394, May 1992.
- [202] C. J. Totenhagen, J. Serido, M. A. Curran, and E. A. Butler, "Daily hassles and uplifts: a diary study on understanding relationship quality.," *J. Fam. Psychol.*, vol. 26, no. 5, pp. 719–728, Oct. 2012.
- [203] H. Fliege, M. Rose, P. Arck, O. B. Walter, R.-D. Kocalevent, C. Weber, and B. F. Klapp, "The Perceived Stress Questionnaire (PSQ) reconsidered: validation and reference values from different clinical and healthy adult samples.," *Psychosom. Med.*, vol. 67, no. 1, pp. 78–88, 2005.
- [204] C. Grano, M. Fernandes, D. Aminoff, S. Bucci, F. Lucidi, and C. Violani, "The role of coping strategies on health-related quality of life in adults with anorectal malformations," *Pediatr. Surg. Int.*, vol. 32, no. 8, pp. 1–7, 2016.
- [205] M. Rosenberg, C. Schooler, C. Schoenbach, and R. Florence, "Global Self-Esteem and specific Self-Esteem: Different Concepts, different Outcomes," vol. 60, no. 1, pp. 141–156, 2014.
- [206] N. Hlavacova, P. Solarikova, M. Marko, I. Brezina, and D. Jezova, "Blunted cortisol response to psychosocial stress in atopic patients is associated with decrease in salivary alpha-amylase and aldosterone: Focus on sex and menstrual cycle phase," *Psychoneuroendocrinology*, vol. 78, pp. 31–38, 2017.

- [207] H. Hashizume and M. Takigawa, "Anxiety in allergy and atopic dermatitis.," *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 6, no. 5, pp. 335–9, 2006.
- [208] M. S. Senra and A. Wollenberg, "Psychodermatological aspects of atopic dermatitis," *Br. J. Dermatol.*, vol. 170, no. SUPPL. 1, pp. 38–43, 2014.
- [209] R. H. Matousek, P. L. Dobkin, and J. Pruessner, "Cortisol as a marker for improvement in mindfulness-based stress reduction," *Complement. Ther. Clin. Pract.*, vol. 16, no. 1, pp. 13–19, 2010.
- [210] H. Fukuda, T. Suzuki, A. Saotome, E. Sode, and H. Mukai, "Efficacy of inpatient treatment for atopic dermatitis evaluated by changes in serum cortisol levels.," *J. Dermatol.*, vol. 40, no. 1, pp. 43–7, Jan. 2013.
- [211] G. Scheich, R. Rudolph, and S. Wilhelm, "Personality Characteristics and Serum IgE Level in Patients with Atopic Dermatitis," vol. 31, no. 6, pp. 637–642, 1993.
- [212] U. Raap, T. Werfel, C. Goltz, N. Deneka, K. Langer, M. Bruder, A. Kapp, G. Schmid-Ott, and B. Wedi, "Circulating levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with disease severity in the intrinsic type of atopic dermatitis," *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 61, no. 12, pp. 1416–1418, 2006.
- [213] I. Ninan, "Synaptic regulation of affective behaviors; role of BDNF lpe," *Neuropharmacology*, vol. 76, no. January, pp. 684–695, 2014.
- [214] M. H. Greenhill and J. E. Finesinger, "Neurotic symptoms and emotional factors in atopic dermatitis.," *Arch. Dermatol.*, vol. 46, pp. 187– 189, 1942.
- [215] A. Rabin, J. Kepecs, and M. Robin, "Atopic Dermatitis: A Clinical Psychiatric Study.," *Psychosom. Med.*, vol. 13, no. 1, 1951.
- [216] A. Torrelo, J. Ortiz, A. Alomar, S. Ros, E. Pedrosa, and J. Cuervo, "Health-related quality of life, patient satisfaction, and adherence to treatment in patients with moderate or severe atopic dermatitis on maintenance therapy: the CONDA-SAT study.," *Actas Dermosifiliogr.*, vol. 104, no. 5, pp. 409–417, 2013.
- [217] B. Favre, L. Plantard, L. Aeschbach, N. Brakch, S. Christen-Zaech, P. a de Viragh, A. Sergeant, M. Huber, and D. Hohl, "SLURP1 is a late marker of epidermal differentiation and is absent in Mal de Meleda.," *J. Invest. Dermatol.*, vol. 127, no. 2, pp. 301–8, 2007.
- [218] Y. Moriwaki, Y. Watanabe, T. Shinagawa, M. Kai, M. Miyazawa, T. Okuda, K. Kawashima, A. Yabashi, S. Waguri, and H. Misawa, "Primary sensory neuronal expression of SLURP-1, an endogenous nicotinic acetylcholine receptor ligand," *Neurosci. Res.*, vol. 64, no. 4, pp. 403–412, 2009.
- [219] Y. Mansouri and E. Guttman-Yassky, "Immune Pathways in Atopic Dermatitis, and Definition of Biomarkers through Broad and Targeted Therapeutics," *J. Clin. Med.*, vol. 4, no. 5, pp. 858–873, 2015.

- [220] D. J. Atherton, M. Sewell, J. F. Soothill, R. S. Wells, and C. E. Chilvers, "A double-blind controlled crossover trial of an antigen-avoidance diet in atopic eczema," *Lancet (London, England)*, vol. 1, no. 8061, pp. 401–403, Feb. 1978.
- [221] A. Nosrati, L. Afifi, M. J. Danesh, K. Lee, D. Yan, K. Beroukhim, R. Ahn, and W. Liao, "Dietary modifications in atopic dermatitis: patient-reported outcomes," *J. Dermatolog. Treat.*, pp. 1–19, Jan. 2017.
- [222] P. P. Van Asperen, M. Lewis, M. Rogers, A. S. Kemp, and S. Thompson, "Experience with an elimination diet in children with atopic dermatitis," *Clin. Allergy*, vol. 13, no. 5, pp. 479–485, Sep. 1983.
- [223] S. Dhar, R. Malakar, R. Banerjee, S. Chakraborty, J. Chakraborty, and S. Mukherjee, "An uncontrolled open pilot study to assess the role of dietary eliminations in reducing the severity of Atopic Dermatitis in infants and children," *Indian J. Dermatol.*, vol. 54, no. 2, pp. 183–185, Jun. 2009.
- [224] L. B. Boyette, C. Macedo, K. Hadi, B. D. Elinoff, J. T. Walters, B. Ramaswami, G. Chalasani, J. M. Taboas, F. G. Lakkis, and D. M. Metes, "Phenotype, function, and differentiation potential of human monocyte subsets," *PLoS One*, vol. 12, no. 4, p. e0176460, 2017.
- [225] M. A. Gavin, T. R. Torgerson, E. Houston, P. DeRoos, W. Y. Ho, A. Stray-Pedersen, E. L. Ocheltree, P. D. Greenberg, H. D. Ochs, and A. Y. Rudensky, "Single-cell analysis of normal and FOXP3-mutant human T cells: FOXP3 expression without regulatory T cell development," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 103, no. 17, pp. 6659–64, 2006.
- [226] K. Sato and S. Fujita, "Dendritic Cells-Nature and Classification," *Allergol. Int.*, vol. 56, no. 3, pp. 183–191, 2007.
- [227] T. Bieber, "The pro- and anti-inflammatory properties of human antigen-presenting cells expressing the high affinity receptor for IgE (Fc ϵ RI)," *Immunobiology*, vol. 212, no. 6, pp. 499–503, 2007.
- [228] H. Fujita, A. Shemer, M. Suárez-Fariñas, L. M. Johnson-Huang, S. Tintle, I. Cardinale, J. Fuentes-Duculan, I. Novitskaya, J. A. Carucci, J. G. Krueger, and E. Guttman-Yassky, "Lesional dendritic cells in patients with chronic atopic dermatitis and psoriasis exhibit parallel ability to activate T-cell subsets," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 128, no. 3, 2011.
- [229] H. Jin, J.-M. Kim, G.-W. Kim, H.-S. Kim, H.-C. Ko, M.-B. Kim, and B.-S. Kim, "Inappropriate amounts of topical tacrolimus applied on Korean patients with eczema," *J. Dermatolog. Treat.*, vol. 28, no. 4, pp. 327–331, May 2017.
- [230] S. J. Ersser, F. C. Cowdell, P. G. Nicholls, S. M. Latter, and E. Healy, "A pilot randomized controlled trial to examine the feasibility and efficacy of an educational nursing intervention to improve self-management practices in patients with mild-moderate psoriasis," *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol.*, vol. 26, no. 6, pp. 738–745,

2012.

- [231] U. Stangier, A. Ehlers, and U. Gieler, "Predicting long-term outcome in group treatment of atopic dermatitis," *Psychother. Psychosom.*, vol. 73, no. 5, pp. 293–301, 2004.
- [232] C. Schut, V. Mahmutovic, U. Gieler, and J. Kupfer, "Patient education programs for childhood atopic dermatitis: who is interested?," *JDDG J. der Dtsch. Dermatologischen Gesellschaft*, vol. 10, no. 9, pp. 657–661, 2012.
- [233] M. M. Chren, R. J. Lasek, L. M. Quinn, E. N. Mostow, and S. J. Zyzanski, "Skindex, a quality-of-life measure for patients with skin disease: reliability, validity, and responsiveness.," *J. Invest. Dermatol.*, vol. 107, no. 5, pp. 707–713, 1996.
- [234] U. Stangier, Ulrich; Ehlers, Anke; Gieler, "Measuring Adjustment to Chronic Skin Disorders: Validation of a Self-Report Measure.," *Psychol. Assess.*, vol. Vol 15, no. 4, pp. 532–549.
- [235] R. P. Herrmann-Lingen, C., Buss, U., Snaith, *HADS-D Hospital Anxiety and Depression Scale*, Deutsche V. Bern: Hans Huber, 1995.

11 Anhang

11.1 Verwendetes Fragebogenset

- 1 -

(Patientencode)

A	D	S		
---	---	---	--	--

(Untersuchungscode)

U	
---	--



PSYCHONEUROIMMUNOLOGIE LABOR

Sehr geehrte Teilnehmerin, sehr geehrter Teilnehmer,

Die Überaktivität des Immunsystems spielt bei Entstehung und Unterhaltung von entzündlichen Erkrankungen und bei der Geweberegeneration eine wichtige Rolle. Stress ist für die Immunantwort ein wichtiger Faktor und kann zu einer Veränderung von Entzündungsreaktionen z.B. in der Haut führen. In unserem Forschungsprojekt „Stress und Neuro-Immudysbalance“ untersuchen wir daher am Beispiel Haut und Haar, ob und wie Stress die Fähigkeit von regenerierenden Geweben beeinträchtigt und zu gesteigerter Bereitschaft zu Entzündungen führt. D.h. wir untersuchen ob das Erleben von körperlichem und seelischem Stress, wie wir sie mit Hilfe dieses Fragebogens feststellen können, Haarwachstum behindern und Hautentzündung verschlechtern oder sogar auslösen können.

Wie Stress und Hauterkrankungen zusammenhängen, wird in der Wissenschaft, aber vor allem in den Medien immer wieder diskutiert. Viele der zugrunde liegende Mechanismen sind jedoch bis heute weitgehend unklar. Deshalb möchten wir nun in dieser Untersuchung einige der Faktoren ermitteln, die maßgeblich an der Stress-bedingten Verschlechterung dieser Erkrankungen beteiligt sind. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sollen ein verbessertes Verständnis der Mechanismen und die Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten von entzündlichen Hauterkrankungen wie der Psoriasis ermöglichen und werden Ihnen nach Abschluss der Untersuchung selbstverständlich zur Verfügung gestellt.

Auf den folgenden Seiten finden Sie eine Reihe von Äußerungen über verschiedene Gesichtspunkte, die auf Personen mit und ohne Stress oder Hauterkrankungen zutreffen können. Nicht alle Fragen werden Sie persönlich betreffen. Wir bitten Sie dennoch alle Fragen zu beantworten.

Wir interessieren uns für das Ausmaß, in dem diese Äußerungen auf Sie persönlich zutreffen. Der Fragebogen befasst sich mit Ihrer eigenen, persönlichen Meinung. Es gibt keine „falschen“ oder „richtigen“ Antworten!

Bitte kreuzen Sie bei jeder Aussage eine Zahl an und lassen Sie keine Frage aus.

Bitte lesen Sie die Aussagen sorgfältig, aber verbringen Sie nicht soviel Zeit bei den einzelnen Punkten.

Ihre erste Antwort ist die beste !

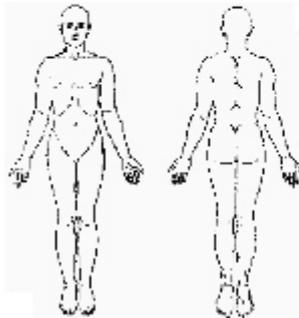
Manche Aussagen treffen für Sie nur manchmal oder selten zu.

Bitte lassen Sie trotzdem keine Äußerung aus !

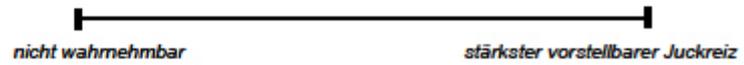
Wählen Sie den Grad der Abstufung, der für Sie am ehesten zutrifft.

Herzlichen Dank für Ihre Mitarbeit !

PSYCHONEUROIMMUNOLOGIE LABOR



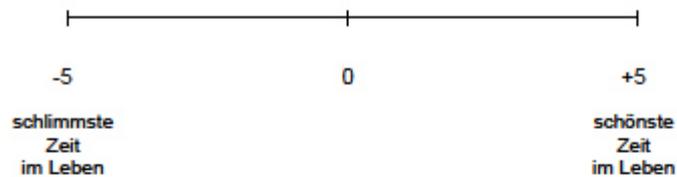
Markieren sie bitte mit einem Kreuz die Stärke von ihrem Juckreiz auf dieser Skala



ACSA

Bei der folgenden Frage sollen Sie bitte einschätzen, wie sehr Ihre augenblickliche Lebensqualität Ihrer Lebensqualität während der schönsten bzw. schlimmsten Zeit in Ihrem Leben ähnelt.

Wenn Ihre augenblickliche Lebensqualität stärker der schönsten Zeit im Leben ähnelt, machen Sie weiter rechts auf der Linie ein Kreuz. Wenn Ihre augenblickliche Lebensqualität stärker der schlimmsten Zeit in Ihrem Leben ähnelt, machen Sie weiter links auf der Linie ein Kreuz.



Im folgenden Fragebogen finden Sie eine Reihe von Feststellungen, mit denen man sich selbst beschreiben kann. Bitte lesen Sie jede Feststellung durch und wählen Sie aus den vier Antworten diejenige aus, die angibt, wie Sie sich **jetzt**, d.h. **in diesem Moment** fühlen. Kreuzen Sie bitte bei jeder Feststellung die Zahl unter der von Ihnen gewählten Antwort an.

Es gibt keine richtigen oder falschen Antworten. Überlegen Sie bitte nicht lange und denken Sie daran, diejenige Antwort auszuwählen, die Ihren **augenblicklichen** Gefühlszustand am besten beschreibt.

	überhaupt nicht	ein wenig	ziemlich	sehr
1) Ich bin ruhig.	1	2	3	4
2) Ich fühle mich geborgen.	1	2	3	4
3) Ich fühle mich angespannt.	1	2	3	4
4) Ich bin bekümmert.	1	2	3	4
5) Ich bin gelöst.	1	2	3	4
6) Ich bin aufgeregt.	1	2	3	4
7) Ich bin besorgt, dass etwas schiefgehen könnte.	1	2	3	4
8) Ich fühle mich ausgeruht.	1	2	3	4
9) Ich bin beunruhigt.	1	2	3	4
10) Ich fühle mich wohl.	1	2	3	4
11) Ich fühle mich selbstsicher.	1	2	3	4
12) Ich bin nervös.	1	2	3	4
13) Ich bin zappelig.	1	2	3	4
14) Ich bin verkrampft.	1	2	3	4
15) Ich bin entspannt.	1	2	3	4
16) Ich bin zufrieden.	1	2	3	4
17) Ich bin besorgt.	1	2	3	4
18) Ich bin überreizt.	1	2	3	4
19) Ich bin froh.	1	2	3	4
20) Ich bin vergnügt.	1	2	3	4
Bitte prüfen Sie, ob Sie alle Feststellungen zutreffend beantwortet haben.				

Anleitung: Im folgenden Fragebogen finden Sie eine Reihe von Feststellungen, mit denen man sich selbst beschreiben kann. Bitte lesen Sie jede Feststellung durch und wählen Sie aus den vier Antworten diejenige aus, die angibt, wie Sie sich **im Allgemeinen** fühlen. Kreuzen Sie bitte bei jeder Feststellung die Zahl unter der von Ihnen gewählten Antwort an.

Es gibt keine richtigen oder falschen Antworten. Überlegen Sie bitte nicht lange und denken Sie daran, diejenige Antwort auszuwählen, die am Besten beschreibt, wie Sie sich **im Allgemeinen** fühlen.

	überhaupt nicht	ein wenig	ziemlich	sehr
21) Ich bin vergnügt.	1	2	3	4
22) Ich werde schnell müde.	1	2	3	4
23) Mir ist zum Weinen zumute.	1	2	3	4
24) Ich glaube, mir geht es schlechter als anderen Leuten.	1	2	3	4
25) Ich verpasse günstige Gelegenheiten, weil ich mich nicht schnell genug entscheiden kann.	1	2	3	4
26) Ich fühle mich ausgeruht.	1	2	3	4
27) Ich bin ruhig und gelassen.	1	2	3	4
28) Ich glaube, dass mir meine Schwierigkeiten über den Kopf wachsen.	1	2	3	4
29) Ich mache mir zuviel Gedanken über unwichtige Dinge.	1	2	3	4
30) Ich bin glücklich.	1	2	3	4
31) Ich neige dazu, alles schwer zu nehmen.	1	2	3	4
32) Mir fehlt es an Selbstvertrauen.	1	2	3	4
33) Ich fühle mich geborgen.	1	2	3	4
34) Ich mache mir Sorgen über mögliches Mißgeschick.	1	2	3	4
35) Ich fühle mich niedergeschlagen.	1	2	3	4
36) Ich bin zufrieden.	1	2	3	4
37) Unwichtige Gedanken gehen mir durch den Kopf und bedrücken mich.	1	2	3	4
38) Enttäuschungen nehme ich so schwer, dass ich sie nicht vergessen kann.	1	2	3	4
39) Ich bin ausgeglichen.	1	2	3	4
40) Ich werde nervös und unruhig, wenn ich an meine derzeitigen Angelegenheiten denke.	1	2	3	4
Bitte prüfen Sie, ob Sie alle Feststellungen zutreffend beantwortet haben.				

In diesen Fragen geht es um Ihre Beurteilung Ihres Gesundheitszustandes. Bitte beantworten Sie wieder jede der Fragen, indem Sie bei den Antwortmöglichkeiten das Feld ankreuzen, das am besten auf Sie zutrifft.

	ausgezeichnet	sehr gut	gut	weniger gut	schlecht
1) Wie würden Sie Ihren Gesundheitszustand im allgemeinen beschreiben?	1	2	3	4	5

Im folgenden sind einige Tätigkeiten beschrieben, die Sie vielleicht an einem normalen Tag ausüben.

Sind Sie durch Ihren derzeitigen Gesundheitszustand bei diesen Tätigkeiten eingeschränkt? Wenn ja, wie stark?	ja, stark eingeschränkt	ja, etwas eingeschränkt	nein, überhaupt nicht eingeschränkt
2) mittelschwere Tätigkeiten, z.B. einen Tisch verschieben, staubsaugen, kegeln, Golf spielen	1	2	3
3) mehrere Treppenabsätze steigen	1	2	3

Hatten Sie in der vergangenen Woche aufgrund Ihrer **körperlichen** Gesundheit irgendwelche Schwierigkeiten bei der Arbeit oder anderen alltäglichen Tätigkeiten im Beruf bzw. zu Hause?

	ja	nein
4) Ich habe weniger geschafft als ich wollte.	1	2
5) Ich konnte nur bestimmte Dinge tun.	1	2

Hatten Sie in der vergangenen Woche aufgrund **seelischer Probleme** irgendwelche Schwierigkeiten bei der Arbeit oder anderen alltäglichen Tätigkeiten im Beruf bzw. zu Hause (z.B. weil Sie sich niedergeschlagen oder ängstlich fühlten)?

	ja	nein
6) Ich habe weniger geschafft als ich wollte.	1	2
7) Ich konnte nicht so sorgfältig wie üblich arbeiten.	1	2

	überhaupt nicht	ein bisschen	mäßig	ziemlich	sehr
8) Inwieweit haben Schmerzen Sie in der vergangenen Woche bei der Ausübung Ihrer Alltagstätigkeiten zu Hause und im Beruf behindert?	1	2	3	4	5

In diesen Fragen geht es darum, wie Sie sich fühlen und wie es Ihnen in der vergangenen Woche gegangen ist.

Wie oft waren Sie in der vergangenen Woche...	immer	meistens	ziemlich oft	manchmal	selten	nie
9) ... ruhig und gelassen?	1	2	3	4	5	6
10) ... voller Energie?	1	2	3	4	5	6
11) ... entmutigt und traurig?	1	2	3	4	5	6

	immer	meistens	manchmal	selten	nie
12) Wie häufig haben Ihre körperliche Gesundheit oder seelische Probleme in der vergangenen Woche Ihre Kontakte zu anderen Menschen (Besuche bei Freunden, Verwandten usw.) beeinträchtigt?	1	2	3	4	5

Bitte prüfen Sie, ob Sie jede Frage beantwortet haben. Danke.

BI

Beantworten Sie bitte zum Abschluss dieses Themenbereiches noch die folgenden 5 Fragen. Hier ist pro Frage eine Antwort möglich. Bitte markieren Sie mit einem Kreuz, die für Sie zutreffende Antwortmöglichkeit.

	überhaupt t nicht	ein bisschen	etwas	erheblich	sehr stark
1) Plötzlicher Lärm stört mich deutlich.	1	2	3	4	5
2) Ich fühle mich unwohl, wenn es an einem Ort zu heiß	1	2	3	4	5
3) Ich kann Schmerzen gleich schlecht vertragen wie andere Menschen.	1	2	3	4	5
4) Ich meine oft zu merken, dass sich verschiedene Dinge im Körper ereignen.	1	2	3	4	5
5) Hungergefühle im Magen merke ich schnell.	1	2	3	4	5

SWOP-K9

Hier geht es um Einstellungen und Gefühle

	stimmt nicht	stimmt kaum	stimmt eher	stimmt genau
1) Wenn mir jemand Widerstand leistet, finde ich Mittel und Wege, mich durchzusetzen.	1	2	3	4
2) Ich erwarte fast nie, dass die Dinge nach meinem Sinn verlaufen.	1	2	3	4
3) Es bereitet mir keine Schwierigkeiten, meine Absichten und Ziele zu verwirklichen.	1	2	3	4
4) Ich blicke stets optimistisch in die Zukunft.	1	2	3	4
5) In unerwarteten Situationen weiß ich immer, wie ich mich verhalten soll.	1	2	3	4
6) Die Dinge entwickeln sich nie so, wie ich es mir wünsche.	1	2	3	4
7) Auch bei überraschenden Ereignissen glaube ich, dass ich gut damit zurechtkommen werde.	1	2	3	4
8) Schwierigkeiten sehe ich gelassen entgegen, weil ich mich immer auf meine Fähigkeiten verlassen kann.	1	2	3	4
9) Ich sehe stets die guten Seiten der Dinge.	1	2	3	4

Beurteilen Sie bitte jetzt, inwiefern die folgenden Aussagen auf Ihr Denken und Handeln in den vergangenen vier Wochen unangenehmen oder schwierigen Situationen zutreffen.

<i>Bitte machen Sie für jede Aussage eine Angabe.</i>		überhaupt nicht	ein bisschen	ziemlich	sehr
1)	Ich habe mich mit der Arbeit oder anderen Sachen beschäftigt, um auf andere Gedanken zu kommen.	1	2	3	4
2)	Ich habe mich darauf konzentriert, etwas an meiner Situation zu verändern.	1	2	3	4
3)	Ich habe mir eingeredet, dass alles nicht wahr ist.	1	2	3	4
4)	Ich habe Alkohol oder andere Mittel zu mir genommen, um mich besser zu fühlen.	1	2	3	4
5)	Ich habe aufmunternde Unterstützung von anderen erhalten.	1	2	3	4
6)	Ich habe es aufgegeben, mich damit zu beschäftigen.	1	2	3	4
7)	Ich habe aktiv gehandelt, um die Situation zu verbessern.	1	2	3	4
8)	Ich wollte einfach nicht glauben, dass mir das passiert.	1	2	3	4
9)	Ich habe meinen Gefühlen freien Lauf gelassen.	1	2	3	4
10)	Ich habe andere Menschen um Rat und Hilfe gebeten.	1	2	3	4
11)	Um das durchzustehen, habe ich mich mit Alkohol oder anderen Mitteln besänftigt.	1	2	3	4
12)	Ich habe versucht, die Dinge von einer positiveren Seite zu betrachten.	1	2	3	4
13)	Ich habe mich selbst kritisiert und mir Vorwürfe gemacht.	1	2	3	4
14)	Ich habe versucht, mir einen Plan zu überlegen, was ich tun kann.	1	2	3	4
15)	Jemand hat mich getröstet und mir Verständnis entgegen gebracht.	1	2	3	4
16)	Ich habe gar nicht mehr versucht, die Situation in den Griff zu kriegen.	1	2	3	4
17)	Ich habe versucht, etwas Gutes in dem zu finden, was mir passiert ist.	1	2	3	4
18)	Ich habe Witze darüber gemacht.	1	2	3	4
19)	Ich habe etwas unternommen, um mich abzulenken.	1	2	3	4
20)	Ich habe mich damit abgefunden, dass es passiert ist.	1	2	3	4
21)	Ich habe offen gezeigt, wie schlecht ich mich fühle.	1	2	3	4
22)	Ich habe versucht, Halt in meinem Glauben zu finden.	1	2	3	4
23)	Ich habe versucht, von anderen Menschen Rat oder Hilfe einzuholen.	1	2	3	4
24)	Ich habe gelernt, damit zu leben.	1	2	3	4
25)	Ich habe mir viele Gedanken darüber gemacht, was hier das Richtige wäre.	1	2	3	4
26)	Ich habe mir für die Dinge, die mir widerfahren, selbst die Schuld gegeben.	1	2	3	4
27)	Ich habe gebetet oder meditiert.	1	2	3	4
28)	Ich habe alles mit Humor genommen.	1	2	3	4

BRCS

Bitte geben Sie an, wie gut die folgenden Aussagen auf einer Skala von 1 bis 5 Ihre Handlungen und Verhaltensweisen beschreiben. Eine 1 bedeutet, dass das beschriebene Verhalten gar nicht auf Sie zutrifft, und eine 5 bedeutet, dass die Aussage voll und ganz auf Sie zutrifft.

	überhaupt nicht	etwas	ein wenig	ziemlich	voll und ganz
1) Ich versuche mir etwas einfallen zu lassen, wie ich schwierige Situationen verändern kann.	1	2	3	4	5
2) Egal was mir passiert, ich glaube ich habe meine Reaktionen unter Kontrolle.	1	2	3	4	5
3) Ich glaube, ich kann mich weiterentwickeln, wenn ich mich mit schwierigen Situationen auseinandersetze.	1	2	3	4	5
4) Ich suche aktiv nach Wegen, um die Verluste auszugleichen, die mir in meinem Leben widerfahren sind.	1	2	3	4	5

RSES

	völlig falsch	falsch	richtig	völlig richtig
1) Alles in allem gesehen, bin ich mit mir selber zufrieden.	1	2	3	4
2) Gelegentlich glaube ich, daß ich zu nichts gut bin.	1	2	3	4
3) Ich glaube, daß ich eine Menge Stärken habe.	1	2	3	4
4) Ich bin fähig, Dinge genauso gut zu tun wie die meisten anderen Leute.	1	2	3	4
5) Ich glaube, dass ich nicht viel habe, auf das ich stolz sein kann.	1	2	3	4
6) Hin und wieder komme ich mir nutzlos vor.	1	2	3	4
7) Ich glaube, dass ich zumindest eine ebenso wertvolle Person bin wie andere auch.	1	2	3	4
8) Ich wünschte, ich könnte mehr Achtung vor mir selber haben.	1	2	3	4
9) Alles in allem gesehen, fühle ich mich eher als Versager.	1	2	3	4
10) Ich bin überzeugt, dass mir wichtige Dinge, die ich in Angriff nehme, auch gut gelingen.	1	2	3	4

Im Folgenden finden Sie eine Reihe von Feststellungen. Bitte lesen Sie jede durch und wählen Sie aus den vier Antworten diejenige aus, die angibt, wie häufig die Feststellung auf Ihr Leben **in den letzten 4 Wochen** zutrifft. Kreuzen Sie bitte bei jeder Feststellung das Feld unter der von Ihnen gewählten Antwort an. Es gibt keine richtigen oder falschen Antworten. Überlegen Sie bitte nicht lange. Bitte lassen Sie keine Frage aus. Wenn etwas nicht zutrifft, kreuzen Sie bitte das linke Kästchen an.

	fast nie	manchmal	häufig	meistens
1) Sie fühlen sich ausgeruht.	1	2	3	4
2) Sie haben das Gefühl, dass zu viele Forderungen an Sie gestellt werden.	1	2	3	4
3) Sie sind gereizt oder grantig.	1	2	3	4
4) Sie haben zuviel zu tun.	1	2	3	4
5) Sie fühlen sich einsam oder isoliert.	1	2	3	4
6) Sie befinden sich in Konfliktsituationen.	1	2	3	4
7) Sie haben das Gefühl, Dinge zu tun, die Sie wirklich mögen.	1	2	3	4
8) Sie fühlen sich müde.	1	2	3	4
9) Sie fürchten, Ihre Ziele nicht erreichen zu können.	1	2	3	4
10) Sie fühlen sich ruhig.	1	2	3	4
11) Sie müssen zu viele Entscheidungen treffen.	1	2	3	4
12) Sie fühlen sich frustriert.	1	2	3	4
13) Sie sind voller Energie.	1	2	3	4
14) Sie fühlen sich angespannt.	1	2	3	4
15) Ihre Probleme scheinen sich aufzutürmen.	1	2	3	4
16) Sie fühlen sich gehetzt.	1	2	3	4
17) Sie fühlen sich sicher und geschützt.	1	2	3	4
18) Sie haben viele Sorgen.	1	2	3	4
19) Sie fühlen sich von anderen unter Druck gesetzt.	1	2	3	4
20) Sie fühlen sich entmutigt.	1	2	3	4
21) Sie haben Spaß.	1	2	3	4
22) Sie haben Angst vor der Zukunft.	1	2	3	4
23) Sie haben das Gefühl, Dinge zu tun, weil Sie sie tun müssen und nicht weil Sie sie tun wollen.	1	2	3	4
24) Sie fühlen sich kritisiert oder bewertet	1	2	3	4
25) Sie sind leichten Herzens.	1	2	3	4
26) Sie fühlen sich mental erschöpft.	1	2	3	4
27) Sie haben Probleme, sich zu entspannen.	1	2	3	4
28) Sie fühlen sich mit Verantwortung überladen.	1	2	3	4
29) Sie haben genug Zeit für sich.	1	2	3	4
30) Sie fühlen sich unter Termindruck.	1	2	3	4

Im Folgenden finden Sie eine Reihe von Ereignissen, die Menschen täglich erleben können. Denken Sie bitte an die **letzten 24 Stunden** und geben Sie an, welche von den aufgeführten Ereignissen Sie in diesem Zeitraum erlebt haben, indem Sie ein Kreuz zu dem Kästchen „ja“ oder „nein“ machen. Gehen Sie bitte alle Ereignisse durch.

	ja	nein
1) Ich habe vergeblich auf jemanden gewartet.	1	2
2) Jemand gab mir einen hilfreichen Rat.	1	2
3) Ich habe jemandem eine Freude gemacht.	1	2
4) Ich habe erlebt, dass meine Meinung richtig war.	1	2
5) Ich habe einen Geldbetrag oder Gewinn erhalten.	1	2
6) Ich hatte Streit mit jemandem.	1	2
7) Ich habe eine unerwartete Rechnung erhalten.	1	2
8) Ich habe einen Witz oder ein Anekdote gehört.	1	2
9) Ich habe unerfreulichen Besuch erhalten.	1	2
10) Ich habe eine interessante Veranstaltung besucht.	1	2
11) Ich habe Essen oder ein Getränk genossen.	1	2
12) Ich habe ein gutes Gespräch geführt.	1	2
13) Ich habe einen Bekannten oder Freund wieder getroffen.	1	2
14) Ich hatte Zeit für meine Hobbys.	1	2
15) Ich habe einen spannenden Film gesehen.	1	2
16) Ich habe mir Sorgen um meine finanzielle Situation gemacht.	1	2
17) Ich bin unfreundlich bedient worden.	1	2
18) Ich habe bei einem Termin lange warten müssen.	1	2
19) Ich habe vergessen, etwas Wichtiges zu erledigen.	1	2
20) Mir wurde eine interessante Tätigkeit angeboten.	1	2
21) Ich habe den Bus oder Zug verpasst.	1	2
22) Jemand hat mir ein Kompliment oder ein Lob gemacht.	1	2
23) Ich habe mich über das Wetter geärgert.	1	2
24) Ich habe etwas Verlorenes wieder gefunden.	1	2
25) Ich habe einen schlechten Einkauf gemacht.	1	2
26) Ich habe etwas geschenkt bekommen.	1	2
27) Ich habe einen wichtigen Termin vergessen oder verpasst.	1	2
28) Ich habe heute Morgen verschlafen.	1	2
29) Ich habe Glück gehabt (etwa bei einem Sturz oder im Straßenverkehr).	1	2
30) Ich habe Schmerzen gehabt	1	2

	ja	nein
31) Ich bin in einen Streit hineingezogen worden.	1	2
32) Besuch, auf den ich mich gefreut habe, hat abgesagt.	1	2
33) Ich habe ein schlechtes Fernsehprogramm gesehen.	1	2
34) Ich habe einen Strafzettel bekommen.	1	2
35) Ich bin in einen Verkehrsstau geraten.	1	2
36) Ich habe etwas Schönes für mich selbst gekauft.	1	2
37) Ich habe etwas gefeiert.	1	2
38) Ich habe schlecht geschlafen oder zuwenig Schlaf gehabt.	1	2
39) Ich habe willkommenen Besuch erhalten.	1	2
40) Mir ist ein Missgeschick passiert (z.B. etwas zerbrochen, verschüttet, Knopf abgerissen, etwas verloren etc.).	1	2
41) Ich habe ein fesselndes Buch gelesen.	1	2
42) Ich habe eine Wette gewonnen.	1	2
43) Jemand ist zu mir besonders freundlich und nett gewesen.	1	2
44) Ich habe einen besonders günstigen Einkauf gemacht.	1	2
45) Ich habe gegen meine Überzeugung bzw. gegen meinen Willen gehandelt.	1	2
46) Ich habe mich über das Wetter gefreut.	1	2
47) Es ist etwas kaputt gegangen (z.B. Waschmaschine, Heizung, Auto usw.).	1	2
48) Ich hatte Handwerker im Haus.	1	2
49) Ich habe eine schlechte Veranstaltung besucht.	1	2
50) Ich habe einen guten Einfall gehabt.	1	2
51) Ich habe mir Sorgen um meine Gesundheit gemacht.	1	2
52) Ich habe einen erfreulichen Brief erhalten.	1	2
53) Ein Ausflug oder eine Freizeitbeschäftigung „fiel ins Wasser“.	1	2
54) ich bin durch Lärm belästigt worden.	1	2
55) Ich bin eingeladen worden.	1	2
56) Ich habe Zärtlichkeiten empfangen.	1	2
57) Ich habe heute Morgen so richtig ausgeschlafen und mich richtig fit gefühlt.	1	2
58) Ich habe mir Sorgen um meine Familie gemacht.	1	2
59) Ich wurde über eine wichtige Entscheidung nicht informiert bzw. wurde nicht daran beteiligt.	1	2
60) Ich habe ein lange gewälztes Problem gelöst.	1	2

12 Publikationsverzeichnis

M. H. Schock, Ko-Autor von E. M. J. Peters in: „Profiling the neuroendocrine response in patients diagnosed with melanoma: does stress matter?“ (Publikation ausstehend)

M. H. Schock in: „Neuroendocrine dysbalance in atopic dermatitis: A pilot study in the setting of an educational programme.“ (Publikation in Arbeit)

13 Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Ort, Datum Unterschrift

14 Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Prof. Eva Peters für die Überlassung des Themas und der ausgezeichneten, motivierenden und verständnisvollen Betreuung über die gesamte Dauer der Promotion.

Herrn Prof. Uwe Gieler und Herrn Prof. Kruse danke ich für die organisatorische Unterstützung und gelungene wissenschaftliche Zusammenarbeit.

Des Weiteren fühle ich mich den MTAs der AG Psychoneuroimmunologie, besonders Sandra Laux und Susanne Tumala, sowie des Labor in der Hautklinik, Helga Fischer zum Dank verpflichtet.

Danken möchte ich auch der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Jürgen Lohmeyer und der leitenden MTA Frau Gabriele Michels für die Möglichkeit zur Durchführung der Tests in der FACS-Core Facility.

Für die seelische Unterstützung und Motivation bin ich meiner Familie, meinen Eltern Gisela und Hartmut, meinen Geschwistern Elisabeth und Anna Magdalena und ganz besonders meiner Ehefrau Gülfem dankbar.