

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein

(Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. J. Ring)

***Bestimmung der Neutrophilen-Elastase während anaphylaktischer Reaktionen bei
Patienten mit allergologischer Provokationstestung und stationärer Rush-
Hyposensibilisierung***

Regina Corona Kerzl

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

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

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. M. W. Ollert
2. Priv.-Doz. Dr. C. I. Traidl-Hoffmann

Die Dissertation wurde am 29.10.2008 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 21.01.2009 angenommen.

MEINEM FREUND, DANIEL JOHANNES FRANZ, GEWIDMET.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	6
1.1	Insektengift-, Nahrungsmittel-, und Medikamentenallergien	6
1.1.1	Bienen-/Wespengiftallergie	6
1.1.2	Nahrungsmittelunverträglichkeit	7
1.1.3	Arzneimittelunverträglichkeit	7
1.1.4	Schwierigkeiten in der Allergiediagnostik	8
1.1.5	Neutrophile Granulozyten bei allergischen Reaktionen	9
1.1.6	Mediatoren neutrophiler Granulozyten	10
1.1.7	Polymorphkernige Granulozyten Elastase (PMN-Elastase)	11
1.1.8	Diagnostische Validität der PMN-Elastase	12
1.2	Fragestellung der Arbeit	14
2	MATERIAL UND METHODEN	15
2.1	Versuchspersonen	15
2.2	Versuchsbeschreibung	16
2.2.1	Hyposensibilisierung	16
2.2.2	Oraler Provokationstest	16
2.2.3	Methodik	18
2.2.3.1	ELISA (Enzyme-linked immuno sorbent assay)	19
2.2.3.2	Testdurchführung	19
2.3	Reagenzien und Material	20
2.4	Statistische Analyse	21
3	ERGEBNISSE	23
3.1	Charakterisierung der Abnahmezeitpunkte	23
3.2	Charakterisierung des Patientenguts	24
3.2.1	Alter und Geschlechterverteilung der Patienten	25
3.2.2	Patienten mit atopischer Disposition	26
3.2.2.1	Statistik	27
3.3	Verteilung der Reaktionen innerhalb der Patientengruppen	28
3.4	Verhalten der PMN-Elastase zu den Zeitpunkten A, C und D	31
3.4.1	Vergleich männliche und weibliche Probanden	31
3.4.1.1	Statistik	33

3.4.2	Vergleich Patientengruppen mit Reaktion und ohne Reaktion	34
3.4.2.1	Patientengruppen mit Reaktion	35
3.4.2.2	Patientengruppen ohne Reaktion	38
3.5	Relative Veränderung der PMN-Elastase	40
3.5.1	Patientengruppen mit Reaktion	40
3.5.2	Patientengruppen ohne Reaktion	43
3.5.3	Statistik	45
4	DISKUSSION	48
4.1	PMN-Elastase als Parameter verschiedener Erkrankungen	48
4.2	PMN-Elastase bei anaphylaktischen Reaktionen	48
4.2.1	PMN-Elastase zum Zeitpunkt A	49
4.2.2	PMN-Elastase zum Zeitpunkt C	50
4.2.2.1	Elastaseverhalten und Reaktionsstärke	51
4.2.2.2	Elastaseveänderung und Exponate bei Reaktion	51
4.2.3	Elastaseverhalten und Exponatkonzentration	52
4.2.4	PMN-Elastase zum Zeitpunkt D	53
4.2.5	Elastase im Zeitraum A-C und A-D	54
4.3	PMN-Elastase bei Patienten mit atopischer Disposition	55
4.4	Einfluss von Glukokortikoiden und Antihistaminika	56
4.5	Ausblick	58
5	ZUSAMMENFASSUNG	60
6	LITERATURVERZEICHNIS	62
7	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	69
7.1	Abbildungen	69
7.2	Tabellen	70
8	DANKSAGUNG	71
9	LEBENS LAUF	72

Abkürzungsverzeichnis

A:	Zeitpunkt vor Provokation
A-B:	Zeitraum vor Provokation bis 1h nach Reaktion
AB_pct:	Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt B
A-C:	Zeitraum vor Provokation bis ca. 24 h nach Reaktion
AC_pct:	Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt C
A-D:	Zeitraum vor Provokation bis zur Entlassung aus stationärem Aufenthalt
AD_pct:	Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt D
B:	Zeitpunkt 1h nach Reaktion
B-C:	Zeitraum 1h nach Reaktion bis ca. 24h nach Reaktion
BC_pct:	Prozentuale Änderung von Zeitpunkt B zu Zeitpunkt C
BW:	Patienten mit Bienen-/Wespengifthyposensibilisierung
BW(+):	Patienten mit Bienen-/Wespengifthyposensibilisierung mit Reaktion
BW(-):	Patienten mit Bienen-/Wespengifthyposensibilisierung ohne Reaktion
C:	Zeitpunkt ca. 24 h nach Reaktion
D:	Zeitpunkt bei Entlassung aus stationärem Aufenthalt
ELISA:	Enzyme-linked immuno sorbent assay
FLMP:	N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine
M:	Patienten mit Medikamentenallergie
M(+):	Patienten mit Medikamentenallergie mit Reaktion
M(-):	Patienten mit Medikamentenallergie ohne Reaktion
N:	Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie
N(+):	Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie mit Reaktion
N(-):	Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie ohne Reaktion
PAF:	Plättchenaktivierender Faktor
VIP:	Vasoaktives intestinales Polypeptid

1 EINLEITUNG

1.1 Insektengift-, Nahrungsmittel-, und Medikamentenallergien

In den letzten Jahren hat die nachweisbare Zunahme allergischer Erkrankungen zu verstärktem Interesse an der Grundlagenforschung und der Allergiediagnostik geführt (Ring, J. 2004). Neben der Gruppe der Inhalationsallergene, stellen vor allem die Gruppen der Ingestionsallergenträger, wie z.B. Nahrungsmittel und Medikamente, und die der injizierten Allergenträger, z.B. Insekten und Arzneimittel, häufige Allergenquellen dar (Ring, J. 2004). Unverträglichkeitsreaktionen auf diese Allergene sind immer häufiger zu beobachten und nehmen daher einen immer größeren Stellenwert in der Praxis des Allergologen ein (Hertenberger, B. 1994).

1.1.1 Bienen-/Wespengiftallergie

Von den oben genannten Gruppen zeigen Allergien auf Insektengifte eine hohe Prävalenz. 0,8-5% der Bevölkerung sind von systemischen Überempfindlichkeitsreaktionen auf Insektenstiche betroffen (Müller, U. 1993). In Deutschland werden jährlich 10-40 Todesfälle registriert, die hierauf zurückzuführen sind. Man vermutet allerdings, dass die tatsächliche Häufigkeit wahrscheinlich noch wesentlich höher liegt, da bei vielen plötzlichen Todesfällen mit ungeklärter Ursache, bei denen unter anderem an eine anaphylaktische Reaktion auf Insektengift gedacht wurde, signifikant häufiger hymenopteregenspezifische IgE-Antikörper gefunden werden konnten, als bei Kontrollen (Schwartz, H.J. et al., 1988).

Bezüglich des Vorkommens systemischer Reaktionen innerhalb der Gruppe der Hymenopteren gibt es jedoch Unterschiede. Wie es auch die Zusammensetzung des Patientenguts der Gruppe der Insektengiftallergiker widerspiegelt, kommen diese im deutschsprachigen Raum vor allem durch Stiche der Honigbiene (*Apis mellifera*) und der bestimmter Faltenwespen (*Vespula germanica*, *Vespula vulgaris*) zustande, wohingegen Stiche anderer Vertreter, wie z.B. der Hummeln (*Bombus* spp.) oder der Hornissen (*Vespa crabro*) eher selten vorkommen. Der Vollständigkeit halber seien hier noch andere Faltenwespen (*Dolichovespula* spp.), Feldwespen (*Polistes* spp.), Holzbienen (*Xylocopa* spp.), Ameisen (*Formicidae*), oder bestimmte Dipteren (Mücken, Bremsen) erwähnt, die ebenfalls anaphylaktische Reaktionen hervorrufen können

(Pirker, C. 1992; Reunala, H. 1990), die jedoch zahlenmäßig in Mitteleuropa nur eine geringe Rolle spielen.

1.1.2 Nahrungsmittelunverträglichkeit

Neben den systemisch-allergischen Reaktionen auf Hymenopterengift, nehmen Nahrungsmittel-, und vor allem Nahrungsmittelzusatzstoffallergien einen immer größeren Stellenwert bei der Aufklärung allergischer Reaktionen ein. Sie stellen nicht nur einen Großteil aller anaphylaktischen Reaktionen dar, sondern die Patienten zeigen hier oft auch eine sehr ernste Symptomatik. In der Schweiz wurden schon 1998 etwa ein Viertel aller anaphylaktischen Reaktionen durch Nahrungsmittel ausgelöst (Rohrer, A.L. 1998) und in den USA geht man davon aus, dass ca.120 Patienten pro Jahr daran versterben (Burks, W. 1999). In England waren in einer Studie bei mehr als der Hälfte der 172 teilnehmenden Patienten mit Anaphylaxie die schwersten Fälle auf Lebensmittelallergene zurückzuführen (Pumphrey, R.S. 1996). Diese hohe Fallzahl der Reaktionen auf Nahrungsmittel wird in den USA und England vor allem durch den dort vorherrschenden hohen Erdnusskonsum erklärt (Sampson, H.A. 1996). Des Weiteren wird die Situation der Nahrungsmittelallergiker vor allem durch versteckte Allergene in Lebensmitteln erschwert. Dies stellt ein zunehmend ernstzunehmendes Problem in dem Prozess der exakten Diagnosefindung dar, welcher wiederum Voraussetzung für eine erfolgreiche Prävention ist. Die Aktualität und das Ausmaß der unzureichenden Allergendeklaration wird in einer Studie aus Schweden deutlich, der zufolge 120 Patienten innerhalb eines Zeitraums von 10 Jahren auf versteckte, durch Kontamination eingebrachte, oder inadäquat deklarierte Allergene reagierten (Malmheden-Yman, I. 1999). Daher wird auch die Grundlagenforschung in diesem Bereich immer wichtiger um die Allergenität der einzelnen Lebensmittel für die jeweiligen Patienten einschätzen zu können und diese dann entsprechend erfolgreich zu behandeln.

1.1.3 Arzneimittelunverträglichkeit

Auch Unverträglichkeitsreaktionen auf Medikamente, selbst in klinisch üblicher Dosis, werden immer häufiger beobachtet (Ring, J. 2004). Allergien auf Medikamente stellen 1/6 bis 1/3 aller unerwünschten Arzneimittelwirkungen dar (Weber-Mani, U. 2003). Auch Studien aus den USA und Großbritannien belegen die Ernsthaftigkeit. Demnach

sterben in den USA jährlich 0,32% der im Krankenhaus stationären Patienten an Arzneimittelunverträglichkeiten und in Großbritannien waren 1 von 10 000 Krankenhausaufnahmen im Jahr 1995 durch Anaphylaxie bedingt (Pouyanne, P. et al., 2000). Die Schwierigkeit bei der Diagnostik der Arzneimittelunverträglichkeit rührt vor allem daher, dass hier nicht nur die für Allergien typischen Reaktionen, wie Urticaria, Angioödem oder Anaphylaxie auftreten, sondern, dass Arzneimittelallergien praktisch alle klinischen Symptome imitieren können (Weber-Mani, U. 2003). Dies macht den Prozess der exakten Diagnosefindung umso schwieriger, und desto hilfreicher wären hier geeignete Parameter, um das Vorhandensein und die Schweregrade der Allergien der einzelnen Patienten zuverlässig abschätzen zu können.

1.1.4 Schwierigkeiten in der Allergiediagnostik

In den letzten Jahren wurden im Zuge der stetig voranschreitenden Allergieforschung mehrere Ansätze geliefert, um neben Gesamt-IgE und spezifischem-IgE weitere geeignete serologische Parameter für die Allergiediagnostik zu erhalten. Prinzipiell können alle an der allergischen Entzündungsreaktion beteiligten Zellen solche Parameter liefern. Früher untersuchte man z.B. die Freisetzung von Granulinhalt aus basophilen Granulozyten durch die Messung mit Tolidin-Blau. Heute bestimmt man deren Aktivierung mit Hilfe der Durchflusszytometrie, bei der die Expression von Oberflächenmarkern wie CD63 und CD203 bei einer spezifischen, IgE-vermittelten, allergischen Reaktion gemessen wird. (Knol, E.F. et al., 1991; Ocmant, A. et al., 2007; Sanz, M.L et al., 2002). Die Bestimmung des aus Mastzellen und Basophilen freigesetzten Histamins erlaubt die Diagnose einer Mastzellaktivierung im Zusammenhang mit einer allergischen Reaktion oder als Zustand bei okkulten Mastozytose. Allerdings ist die Messung wegen der kurzen Halbwertszeit des Histamins in der Allergiediagnostik nur während akuter Provokationen aussagekräftig (Ring, J. 2004) und zudem sehr aufwendig, so dass sie nur für wissenschaftlichen Zwecke und nicht unbedingt für den Klinikalltag geeignet ist. Ebenso verhält es sich mit der Bestimmung der Ausscheidung des Histaminmetaboliten N-Methyl-Histamin im Urin. Mit der Analyse der Tryptasekonzentrationen im Serum nach Reaktion auf verschiedene Substanzen, wie z.B. Insektengifte, Nahrungsmittel und Medikamente, fand man schließlich einen Parameter, dessen Erhöhung signifikant mit dem Schweregrad der Anaphylaxie korrelierte. Zumindest kann man damit Patienten, die sowohl an Mastozytose, als auch an Insektengiftallergie leiden, einer Hochrisikogruppe

zuordnen, die lebenslang hyposensibilisiert werden sollte (Ludolph-Hauser, D. et al., 2001; Rueff, F. et al., 2006). Die von den Mastzellen freigesetzte Tryptase stellt somit zwar einen relevanten, aber auch sehr speziellen Marker der Allergiediagnostik dar. Die Frage nach einem generellen, objektivierbaren und anhand von anamnestischen Angaben und klinischen Symptomen verifizierbaren Parameter des Schweregrades einer Allergie, und der durch sie hervorgerufenen Anaphylaxie, bleibt offen.

1.1.5 Neutrophile Granulozyten bei allergischen Reaktionen

Neben den bisher genannten Effektorzellen allergischer Reaktionen sind auch die neutrophilen Granulozyten wesentlich an der Entstehung der allergischen Entzündungsreaktion beteiligt.

Neutrophile Granulozyten sind generell bekannt für ihre Beteiligung an der Entstehung von Abwehr- und Entzündungsreaktionen multipler Genese und es ist schwierig die Rolle der Granulozyten als Ganzes zu erfassen. Ihr Verhalten unterliegt den ständig wechselnden Einflüssen der Umgebung, die ihrerseits sehr komplex sein können und oftmals scheinbar widersprüchliche Reaktionen hervorrufen. So tragen sie einerseits durch ihre Phagozytosefähigkeit wesentlich zur Körperabwehr bei, andererseits können sie aber auch durch die dafür nötige Sezernierung von proteolytischen Enzymen sowie Freisetzung reaktiver Sauerstoffmetabolite Gewebe zerstören (Holgate, S.T. 1996).

Zahlreiche Arbeiten zeigen, dass z.B. beim allergischen Asthma zunächst neutrophile Granulozyten ins Gewebe einwandern und erst sekundär, mit einer Latenz von mehreren Stunden bis Tagen, Eosinophile nachmigrieren (Alessandrini, F. et al., 2006; Lommatzsch, M. et al., 2006). Dies lässt wiederum eine größere Bedeutung der Neutrophilen innerhalb der allergischen Entzündungsreaktion vermuten.

Die neutrophilen Granulozyten werden bei allergischen Reaktionen durch verschiedene Mechanismen auf zellulärer und humoraler Ebene aktiviert. So induzieren z.B. echte Chemotaxine wie das Komplement-Anaphylatoxin C5a oder bestimmte Bakterienprodukte wie FLMP (Feng, D. et al., 1998) nach der Bindung an spezifische Neutrophilen-Rezeptoren deren gerichtete Migration zum Entzündungsherd. Ferner können diese Wirkung andere chemotaktische Zytokine, wie IL-8 (Fujimoto, K. et al., 1999; Johnston, B. and Butcher, E.C. 2002; Ono, S.J. et al., 2003; Romero, D.G. et al., 2006; Schuster, A. et al., 1995), aber auch Kallikreine und Kinine hervorrufen (Holgate, S.T., 1996).

Eine wesentliche Rolle in der Aktivierung neutrophiler Granulozyten spielen die Mastzellen. Für die Entstehung früher allergischer Entzündungen kommt ihnen eine große Bedeutung zu. Charakteristischer Weise werden sie durch Brückenbildung der auf ihrer Zelloberfläche exprimierten, hochaffinen IgE-Rezeptoren nach Bindung eines Allergens aktiviert. Sie können aber auch durch nicht-immunologische Stimulation über Substanz P, VIP, Somatostatin, Compound 48/80, Morphin und die Komplement-Anaphylatoxine C5a und C3a Histamin freisetzen. Über die genaue Funktion von Mastzellen bei chronisch allergischen Entzündungsprozessen herrscht noch Erkenntnisbedarf (Holgate, S.T., 1996). Ihre Wirkungen auf die neutrophilen Granulozyten sind jedoch bedeutend.

Mit Hilfe des von ihnen synthetisierten Leukotriens LTC₄, welches die Permeabilität postkapillärer Venolen steigert und unter anderem für seine ausgeprägte bronchokonstriktorische Wirkung bekannt ist, bewirken die Mastzellen die Adhäsion neutrophiler Granulozyten am Endothel. Der Thrombozyten-aktivierende Faktor PAF und das von ihnen ebenfalls synthetisierte IL-5 fördern die Migration der Neutrophilen. Letzteres ist mit IL-3 und IL-4 auch für die direkte Leukozytenaktivierung und damit für die Degranulation und Sezernierung neutrophiler Mediatoren verantwortlich.

1.1.6 Mediatoren neutrophiler Granulozyten

Betrachtet man neutrophile Granulozyten unter dem Elektronenmikroskop, so erkennt man Zellen mit einem mittleren Durchmesser von 7 µm mit einem mehrfach gelappten Kern. Das Zytoplasma der Neutrophilen enthält zahlreiche Granula, die nach Peroxidase-Färbung eine unterschiedliche Färbung zeigen. Man unterscheidet demnach zwischen Peroxidase-positiven, azurophilen, und Peroxidase-negativen, spezifischen Granula, die jeweils eine Vielzahl von Enzymen mit unterschiedlichen Funktionen innerhalb der Immunabwehr enthalten. Eine Reihe von Proteinen ist dabei für die Abtötung von Bakterien und die Phagozytose von Immunkomplexen und Zelltrümmern wichtig. Zu diesen gehört z.B. die Myeloperoxidase, die in der Produktion der toxisch-reaktiven Sauerstoffmetabolite in den Phagolysosomen eine Rolle spielt (Holgate, S.T., 1996). Lysosomale Proteasen sind auch wesentlich am Entzündungsgeschehen beteiligt. Sie werden im Laufe der Entzündungsreaktion an die extrazelluläre Umgebung abgegeben und können so das Ausmaß der inflammatorischen Antwort des Organismus verstärken (Hocke-Kalbfleisch, U., 1996). Eine Übersicht über die Zusammensetzung des Granulainhalts zeigt Tab. 1.

Granulainhalt humaner polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten

	Azurophile Granula	Spezifische Granula
Mikrobizide Enzyme	Lysozym Myeloperoxidase	Lysozym
Neutrale Proteasen	Elastase Kollagenasen Kathepsin G	Kollagenase
Saure Hydrolasen	Phosphatasen Lipasen Sulphatasen Histonase Kathepsin D β -Glyzerophosphatase Esterase Neuraminidase 5'-Nukleotidase	Phosphatase
Sonstige	Bakterizides/Permaebilitäts-induzierendes Protein Defensine Glykosaminoglykane Chondroitinsulfat Heparinsulfat	Laktoferrin Vit. B 12-bindendes Protein C3bi-Rezeptor Cytochrom B Flavoproteine

Tab. 1: Granulainhalt polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten**1.1.7 Polymorphkernige Granulozyten Elastase (PMN-Elastase)**

Unter den lysosomalen Enzymen spielen vor allem die neutralen Proteinasen eine wichtige Rolle im Entzündungsprozess. Von allen daran beteiligten Enzymen kommt der PMN-Elastase die größte Bedeutung zu, da sie zur Verlaufsbeobachtung auf Grund ihrer hohen enzymatischen Aktivität am besten geeignet ist (Ohlemüller, H., 1986). Die PMN-Elastase ist ein kationisches Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 30 000 Dalton mit einer endopeptidolytischen Aktivität für verschiedene Proteine (Shotton, D.M. and Hartley, B.S., 1973). Die natürlichen Substrate der PMN-Elastase zeigt Tab. 2.

Proteinase	Biologische Substrate
Elastase	– Elastin, Kollagen III + IV, Proteoglykane, Fibronectin
	– Komplement-Faktoren (C3 + C5), Immunglobuline
	– Protein-Inhibitoren (AT II, α 1- PI)
	– Transportproteine (Transferrin + Präalbumin)

Tab. 2: Auswahl biologischer Substrate der PMN-Elastase

Physiologischer Weise dient die PMN-Elastase der Aufrechterhaltung des Proteinkatabolismus, sowie dem Abbau von Stoffwechselprodukten und der Phagozytose von Fremdorganismen (Jochum, M. et al., 1986). Ferner besitzt die PMN-Elastase die Fähigkeit sowohl zur Hemmung zahlreicher humoraler Faktoren und Proteinaseinhibitoren, als auch zur Zerstörung von Elastin, Kollagen und Proteoglykanen (Hocke-Kalbfleisch, U. 1996). Während bei normalen Phagozytosevorgängen nur geringere Mengen an Proteinasen in den Extrazellulärraum abgegeben werden, können unter speziellen Bedingungen hohe Konzentrationen in Gewebe und Blutbahn gelangen. Bisher wurde dies z.B. im Rahmen entzündlicher Prozesse beobachtet (Jochum, M. et al., 1986). Dort werden die Proteinasen dann an die im Plasma meist im Überschuss vorhandenen Proteinase-Inhibitoren gebunden und deaktiviert. Der α 1- Proteinaseinhibitor (α 1-PI) ist dabei der wichtigste Hemmstoff der PMN-Elastase. Dieser wird als Akutphaseprotein bei jeder Entzündung gebildet und inhibiert die Elastase zu 90%. Die restlichen 10% werden durch α 2-Makroglobulin (α 2-M) gehemmt (Hocke-Kalbfleisch, U. 1996).

1.1.8 Diagnostische Validität der PMN-Elastase

Der PMN-Elastase kommt auf Grund ihrer Eigenschaft als rasch ansteigender Indikator eines entzündungsauslösenden Reizes in verschiedensten Bereichen der Medizin Bedeutung zu. So wird sie beispielsweise als Parameter zur Differenzierung chronisch entzündlicher Gelenkserkrankungen eingesetzt. Bei der Erkennung und Verlaufskontrolle septischer Erkrankungen (Duswald, K.H. et al., 1985) oder

bakterieller Infektionen ist die PMN-Elastase insofern aussagekräftig, als dass ihre Plasmakonzentration dort stark mit der Schwere des Krankheitszustandes korreliert. Ferner wird sie zur Einschätzung postoperativer und posttraumatischer Komplikationen und (Hocke-Kalbfleisch, U. 1996) bei der Erkennung und Verlaufskontrolle septischer Erkrankungen (Tanaka, H. et al., 1989) eingesetzt. Da die PMN-Elastase auch bei Tumoren auf Grund des starken Gewebeumsatzes erhöht sein kann, bietet sie zudem die Möglichkeit zur Differentialdiagnostik von tumorbedingten und entzündlichen Grunderkrankungen, wie z.B. Leukämien (Hastka, J. 1988). Neueste Studien heben zudem ihre Bedeutung im Zusammenhang mit Proteinase 3 bei Typ-III-Immunreaktionen, wie z.B. der Arthus-Reaktion im Rahmen einer allergischen Vaskulitis, hervor (Kessenbrock, K. et al., 2008).

1.2 Fragestellung der Arbeit

Auf Grund der Ähnlichkeit der pathophysiologischen Prozesse bei Entzündungen und allergischen Reaktionen und der Tatsache, dass in den oben genannten Einsatzgebieten die Korrelation der Höhe des Elastasespiegels mit der Intensität des entzündlichen Stimulus und der Reaktion der neutrophilen Granulozyten auf diesen Reiz bereits festgestellt wurde, stellte sich nun die Frage, inwieweit ein Anstieg der PMN-Elastase bei anaphylaktischen Reaktionen zu verzeichnen wäre, und ob dieser dann mit dem Schweregrad der Allergie des einzelnen Patienten korreliert. Auf diese Fragestellung hin sollten Patienten mit Allergien auf Bienen- und Wespengift, Nahrungsmittel und Nahrungsmittelzusatzstoffe oder Medikamente während ihres stationären Aufenthalts in der Klinik untersucht werden. Hierzu wurden Patienten mit Bienen- oder Wespengiftallergie während der stationären Rush-Hyposensibilisierung eingeschlossen und die PMN-Elastase jeweils vor Beginn und nach eventuellen anaphylaktischen Reaktionen bestimmt. Ebenso wurden Probanden mit Nahrungsmittel-, Nahrungsmittelzusatzstoff-, oder Medikamentenunverträglichkeit im Rahmen einer Suchdiät, einer oralen Provokationstestung bei Verdacht auf Idiosynkrasie (OPTI) oder einer Placebo-kontrollierten oralen Provokationstestung provoziert und die PMN-Elastase jeweils vor und nach einem Anaphylaxieereignis gemessen. Etwaige Unterschiede im Hinblick auf das Verhalten der Elastase innerhalb der jeweiligen Gruppen sollten anschließend in die Ergebnisdiskussion miteinbezogen werden.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchspersonen

Es wurden 114 Patienten mit anamnestischen Verdacht auf Unverträglichkeitsreaktionen gegenüber Bienen- und Wespengift, Nahrungsmitteln, Nahrungsmittelzusatzstoffen, Konservierungsstoffen und Arzneimitteln untersucht, die sich zur Diagnostik der Unverträglichkeitsreaktionen in stationärer Behandlung befanden.

Die Patienten wurden je nach Diagnose in drei große Gruppen (BW, N, M) unterteilt. In der Gruppe „BW“ wurden alle Patienten zusammengefasst, bei denen bei bekannter Bienen- oder Wespengiftallergie eine stationäre Rush-Hyposensibilisierung durchgeführt wurde. Gruppe „N“ bezeichnet alle Patienten mit oraler Provokation durch Nahrungsmittel oder Nahrungsmittelzusätze, und Gruppe „M“ die Patienten mit Medikamentenprovokation.

Im Nachhinein wurden alle Gruppen nach negativer (-) und positiver (+) Reaktion unterteilt (siehe Tab. 3).

Gruppe	Merkmal
BW(+)	Patienten mit Bienen-/Wespengift-Hyposensibilisierung mit Reaktion
BW (-)	Patienten mit Bienen-/Wespengift-Hyposensibilisierung ohne Reaktion
N (+)	Patienten mit oraler Provokation durch Nahrungsmittel oder Nahrungsmittelzusätze mit Reaktion
N (-)	Patienten mit oraler Provokation durch Nahrungsmittel oder Nahrungsmittelzusätze ohne Reaktion
M(+)	Patienten mit Medikamentenprovokation mit Reaktion
M (-)	Patienten mit Medikamentenprovokation ohne Reaktion

Tab. 3: Übersicht über die Patientengruppen

2.2 Versuchsbeschreibung

2.2.1 Hyposensibilisierung

Bei Patienten der Gruppe BW wurde unter ärztlicher Kontrolle eine stationäre Hyposensibilisierung durchgeführt. Dabei wurde nach dem Schema der „Schnell-Hyposensibilisierung“ (Ring, J. 2004) verfahren, bei dem die Patienten mit maximal drei Injektionen pro Tag über durchschnittlich 5 Tage provoziert wurden.

Generell wird bei der Schnellhyposensibilisierung mit 0,1 ml von einem Hundertstel der niedrigsten im Pricktest, bzw. einem Zehntel im Intrakutantest, positiven Konzentration begonnen und über 0,1, 0,4 und 0,7 ml zur nächst höheren Konzentration gesteigert.

Die Reaktionen der Patienten bis zum Erreichen der Erhaltungskonzentration von 100µg wurden von ärztlicher Seite dokumentiert. Sobald diese Konzentration problemlos vertragen wurde, konnten die Patienten aus der stationären Behandlung entlassen und ambulant im Abstand von 2, 3 und 4 Wochen ambulant weiterbehandelt werden.

2.2.2 Orale Provokationstest

Patienten der Gruppen N und M wurden stationär und unter Puls- und Blutdruckkontrolle oral provoziert. Dabei wurde bei den Patienten nach Durchführung einer Eliminationsdiät innerhalb eines symptomfreien Intervalls eine Provokationsreihe im Sinne einer Suchdiät angeschlossen, die verschiedene Standardnahrungsmittel umfasste (siehe Tab. 4). Danach erfolgte gegebenenfalls die orale Provokationstestung bei Idiosynkrasie (OPTI) zum Ausschluss einer pseudoallergischen Reaktion (Ring, J. 2004). Hierfür nahmen die Patienten das verdächtige Agens (siehe z.B. Tab. 5) in Gelatinekapseln morgens ein. Die jeweilige Dosis richtete sich nach dem individuellen Schweregrad der klinischen Symptomatik und wurde in 2-h-Intervallen gesteigert. Die Provokationstestung erfolgte einfach-blind, wobei Titandioxid-, oder Mannit-Silikat-Kapseln als Placebo verwendet wurden. Im Verlauf der Provokation wurden objektive und subjektive klinische Kriterien, wie z.B. Pulsfrequenz, Blutdruck oder Hautzeichen, erfasst und die aufgetretenen Symptome von den Ärzten und Patienten dokumentiert.

Stufe 1: Milch und Milchprodukte
Stufe 2: Kohlehydrate und Gemüse
Stufe 3: Fleisch
Stufe 4: Geflügel und Ei
Stufe 5: Fisch und Meeresfrüchte
Stufe 6: Gemischte Mahlzeiten mit Farb- und Konservierungsstoffen

Tab. 4: Suchdiät für Erwachsene (J. Ring, 2004)

Bei Patienten mit Medikamentenunverträglichkeit (Gruppe M) wurden nach oben genannten Bedingungen ebenfalls orale Provokationstestungen durchgeführt.

Tag 1: Tartrazin 10-50 PHB-Ester 500 mg
Tag 2: Farbenmischung I-II
I: je 5 mg
- Chinolingelb E104,
- Gelborange S110,
- Azorubin E122,
- Amaranth E123,
- Cochenillerot E124
II: je 5 mg
- Erythrosin E127,
- Patentblau E131,
- Eisenoxide E172

Tab. 5: Substanzen des OPTI; Schema nach Ring und Przybilla (J. Ring, 2004)

Tab. 6 zeigt eine Übersicht der verschiedenen Exponate in den jeweiligen Gruppen.

Gruppe	Exponate	n
BW	Bienengift	5
	Wespengift	12
N	Eigenes Saftprodukt	1
	Acetylsalicylsäure	3
	Diclofenac	1
	Koriander	1
	Kümmel	1
	OPTI	6
	Paracetamol	2
	Sellerie	1
	Suchdiät	12
	Paracetamol+Codein	1
	Thunfisch	1
	Wurst	1
M	Acetylsalicylsäure	12
	Cefuroximaxetil	4
	Ciprofloxacin	4
	Clindamycin	3
	Cotrimoxazol	1

Gruppe	Exponate	n
M	Decortin H	2
	Dexamethason	1
	Diclofenac	5
	Doxycyclin	4
	Fortecortin	1
	Ibuprofen	5
	Isocillin	1
	Latex	1
	Lidocain	2
	Mepivacain	4
	Mirtazapin	1
	NaCl	1
	Na-Salicylat	1
	Metamizol	3
	Piroxicam	4
	Prednisolon	1
	Roxithromycin	4
	Oxidierete Cellulose-Gaze	2
	Ultracain	2
	Rofecixib	1
	Prilocain	1

Tab. 6: Übersicht über die verwendeten Exponate

2.2.3 Methodik

Jedem Patienten wurde innerhalb der Studie eine laufende Nummer zugeordnet. Patienten, die während der Studienlaufzeit zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten unter jeweils verschiedenen Diagnoseschwerpunkten stationär aufgenommen worden waren, wurden bei der zweiten Aufnahme mit einer neuen Nummer versehen. Für jeden Patienten waren mindestens zwei Blutabnahmen vorgesehen: Am Aufnahmetag vor Beginn der Provokationen, bzw. Hyposensibilisierung (Probe A), und nach Beendigung

der Testreihe (Probe D). Patienten, die reagierten, wurde zusätzlich ca. 1 Stunde (Probe B) und ca. 24 Stunden (Probe C) nach Reaktion Blut abgenommen, auch wenn die Reaktionen als geringfügig oder als nur subjektiv eingestuft wurden.

2.2.3.1 ELISA (Enzyme-linked immuno sorbent assay)

Zur Ermittlung der Elastasekonzentrationen in den jeweiligen Patientenseren wurde ein ELISA-Kit der Firma Milenia Biotec verwendet. Der Festphasen-Enzymimmunoassay (ELISA) dient der quantitativen Bestimmung des Komplexes aus humaner PMN-Elastase und dem α 1-Proteinase-Inhibitor (α 1-PI) im Plasma. Hierbei liegen die gegen das zu bestimmende PMN-Elastase-Antigen gerichteten, spezifischen, polyklonalen Antikörper (Hühnereigelb) als Festphase einer Mikrotiterplatte vor.

In diese mit Antikörpern beschichtete Mikrotiterplatte werden Standards, Kontrollen und Patientenproben pipettiert und 60 Minuten inkubiert. Die in der Probe vorhandene PMN-Elastase bindet währenddessen an den Antikörper. Anschließend werden nicht gebundene Probenkomponenten durch einen Waschschrift entfernt.

Als nächster Schritt wird ein zweiter, gegen α 1-PI gerichteter und mit Meerrettichperoxidase markierter Antikörper hinzu gegeben und ebenfalls 60 Minuten inkubiert. Während dieser Inkubation wird der an den ersten Antikörper gebundene PMN-Elastase/ α 1-PI Komplex von dem enzymmarkierten Antikörper spezifisch erkannt und es bildet sich ein Sandwich-Komplex aus. Überschüssiges Enzymkonjugat wird durch erneutes Waschen eliminiert.

Nach Zugabe eines chromogenen Substrates, 3,3',5,5'-Tetra-Methyl-Benzidin (TMB), und 20-minütiger Inkubation wird das Substrat vom gebundenen Enzym zu einem farbigen Endprodukt (blau) umgesetzt. Zur Beendigung der Enzymreaktion wird 2 M Salzsäure zugegeben. Dies äußert sich in einem Farbumschlag von blau nach gelb. Die Farbintensität ist zu der Konzentration an PNM-Elastase in den Proben direkt proportional.

Die optische Dichte der Farblösung wird schließlich mit einem Mikrotiterplatten-Messgerät bei 450 nm gemessen (Referenzfilter 630 nm).

2.2.3.2 Testdurchführung

Es wurden acht Standards erstellt. Dazu wurde der PMN-Elastase Standard (Konz.: 1000 ng/ml) in einer Verdünnungsreihe (1:2) mit Standard-/Proben-Puffer verdünnt, um

Standards mit 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,3 und 15,6 ng/ml zu erhalten. Der Standard-/Probenverdünnungspuffer diente dabei als Null-Standard (0 ng/ml).

Alle Patientenproben wurden vor Assaybeginn 1:100 mit Standard-Probenverdünnungspuffer verdünnt.

Eine ausreichende Anzahl an Vertiefungen der Mikrotiterplatte zum Ansatz von Standards, Kontrollen und verdünnten Patientenproben wurde vorbereitet. Anschließend wurden zur Bestimmung der PMN-Elastase jeweils 100 µl Standards, Kontrollen und verdünnte Patientenproben entsprechend der Plattenbelegung auf den Boden der Vertiefungen pipettiert.

Die Mikrotiterplatte wurde bei Raumtemperatur (18-28 °C) auf einem Schüttler inkubiert.

Die Überstände der Vertiefungen wurden dekantiert und viermal mit jeweils 300 µl Waschpuffer gewaschen. Anschließend wurden Flüssigkeitsreste durch Ausklopfen entfernt.

150 µl enzym-markierter Antikörper wurde zu jeder Vertiefung zugegeben.

Die Mikrotiterplatte wurde nochmals bei Raumtemperatur (18-28 °C) auf einem Schüttler inkubiert.

Die Überstände wurden erneut dekantiert und viermal jeweils mit 300 µl Waschpuffer gewaschen. Die restliche Flüssigkeit wurde durch sorgfältiges Ausklopfen der Platte entfernt.

In jede Vertiefung wurde 200 µl TMB-Substratlösung pipettiert.

Die Platte wurde 20 Minuten bei Raumtemperatur (18-28 °C) im Dunkeln inkubiert.

Danach wurden 50 µl Stopp-Lösung in jede Vertiefung pipettiert und vorsichtig vermischt.

Zum Schluss wurde die optische Dichte bei 450 nm entsprechend der Stabilität der Färbung der Lösung innerhalb von 15 Minuten gemessen.

2.3 Reagenzien und Material

Zur Probengewinnung und –Verarbeitung wurden folgende Geräte und Materialien verwendet:

Rollmischgerät RM5, Pipettenspitzen Eppendorf Standard 10–100µl (gelb), Pipette Eppendorf Varipette 50-250 µl (Srn.: 347448), Pipette Eppendorf Reference 100-1000 µl (Srn.: 210802), Pipette Eppendorf Varipette 2-20 µl (gelb) (Srn.: 241540).

Zur Durchführung des ELISA wurde verwendet:

Mikrotiter-Platten-Photometer „MRX“ der Firma Dynex (Srn.: 20100), Microtiterplatten „Immunoplate Maxi Sorb“ der Firma Nunc (Srn.: 439454), Wirbelmischer (Vortex) „REAX 2000“ der Firma Heidolph, Mikrotiterplatten-Schüttler „Minishaker MS 2“ der Firma Merck, Pipette Eppendorf Reference 10 – 1000 µl (gelb) (Srn.: 393558), Pipette Eppendorf Multipette plus (Srn.: 10107499), Pipette Eppendorf Reference 100 – 1000 µl (blau) (Srn.: 398483), Eppendorf Combitips plus 10 ml (Srn.: S11533P), sowie der PMN-Elastase Kit „MKEL 1“ der Firma Milenia Biotec (Bad Nauheim), der folgendes enthielt:

Mikrotiter-Platte teilbar, beschichtet mit polyklonalem Hühnereigelb-Antikörper gegen humane PMN-Elastase (MELPL)

PMN-Elastase Standard in Serumpuffermatrix, enthält aufgereinigten PMN-Elastase/ α 1-PI Komplex (MEL 9)

PMN-Elastase-Kontrollen in Serumpuffermatrix (MELC1/2)

Standard-/Proben-Verdünnungspuffer (MSEL)

Enzym-markierter anti- α 1-PI Antikörper, enthält polyklonalen Kaninchen-Antikörper, markiert mit Meerrettichperoxidase (MEEL)

TMB-Substrat-Lösung (3,3',5,5'-Tetra-Methyl-Benzidin) in gepufferter Peroxid-Lösung (MTPS1)

Stopp-Lösung (enthält 2 M Salzsäure) (MSTUN)

Waschlösung, gepuffert Konzentrat (10x) (MCTWSN)

Abdeckfolie (MVCF1)

2.4 Statistische Analyse

Die statistische Aufbereitung und Analyse der Daten wurde mit den Programmen Microsoft Excel (Microsoft Inc., USA) und SPSS Version 14.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA) vorgenommen.

Alle Daten wurden zunächst deskriptiv analysiert und auf fehlerhafte Eingaben wie z.B. Extremwerte und Ausreißer untersucht.

Für quantitativ stetige Merkmale wurden Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet, sowie die Spannweiten (Minimal- und Maximal-Werte) angegeben. Um die Verteilung metrisch skaliert Merkmale temporär zwischen zwei unabhängigen

Gruppen zu vergleichen wurde der Mann-Whitney-Test verwendet. Der Wilcoxon-Test hingegen wurde zur Untersuchung zwei verbundener Stichproben auf Unterschiede eingesetzt. Als nicht-parametrische Verfahren können der Mann-Whitney- bzw. Wilcoxon-Test unabhängig von jeglichen Verteilungsannahmen vorgenommen werden und erlauben damit insbesondere eine gegen Extremwerte unempfindliche Bewertung von Verteilungsunterschieden.

Alle Tests wurden zu einem zweiseitigen Signifikanzniveau von 5% vorgenommen.

Zur graphischen Darstellung der Ergebnisse kamen Boxplots, Punkt- und Balkendiagramme zum Einsatz. Mit Hilfe von Boxplots kann die Verteilung kontinuierlicher Merkmale repräsentativ illustriert werden. So sind neben dem Median und den 25%- bzw. 75%-Perzentilen (Quartile) auch Ausreißer angegeben. Ausreißerwerte waren definiert als Werte außerhalb des 1,5-fachen Interquartilbereiches, gekennzeichnet durch „o“. Als Extremwerte wurden Beobachtungen außerhalb des 3-fachen Interquartilbereiches gewertet, gekennzeichnet durch „*“. Innerhalb der dargestellten Boxen (Interquartilsabstand) liegen 50% der Beobachtungen. Zudem markieren die ober- und unterhalb des Quartilekastens angebrachten Telegraphen jeweils den letzten, gerade noch innerhalb der 1,5-fachen Boxenlänge befindlichen, Wert.

In den verwendeten Balkendiagrammen sind die zeitlichen Verläufe von Mittelwerten dargestellt, die Standardabweichungen wurden dabei als Fehlerindikatoren wahlweise nach oben oder nach unten aufgetragen.

3 ERGEBNISSE

3.1 Charakterisierung der Abnahmezeitpunkte

Die Elastasewerte wurden vor Beginn der Testungen (A-Wert), nach 1 Stunde (B-Wert), nach 24 Stunden (C-Wert) und vor Entlassung aus dem stationären Aufenthalt (D-Wert) abgenommen.

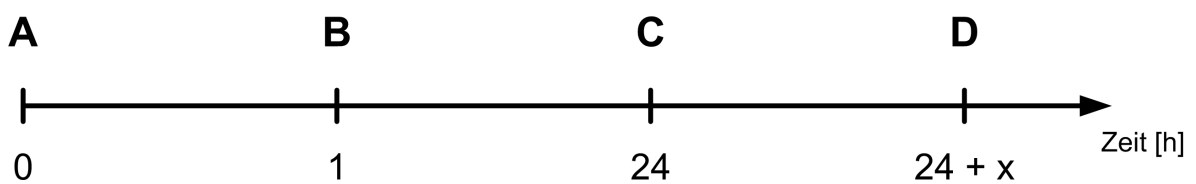


Abb. 1: Darstellung der zeitlichen Verhältnisse der Abnahmezeitpunkte

Da der B-Wert nur von 10 Patienten gewonnen werden konnte und sich statistisch kein Unterschied für die Zeiträume bezüglich des B-Werts ergab, (siehe Tab. 7 und Tab. 8) wurde er zu Gunsten der Übersichtlichkeit im weiteren Verlauf in Tabellen und Abbildungen nicht weiter erwähnt.

Statistiken

	N		Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
	Gültig	Fehlend					25	50	75
AB_pct	10	0	10,3	64,94	-85,2	148,1	-29,6	6,6	39,5
BC_pct	10	0	322,7	610,58	-38,2	1681,6	-26,5	47,6	476,1
AC_pct	10	0	545,4	1148,36	-76,0	3335,6	-33,2	19,8	622,2

Tab. 7: Deskriptive Darstellung der Statistik bzgl. des B-Werts

AB_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt B

AC_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt C

BC_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt B zu Zeitpunkt C

	BC_pct, AB_pct	AC_pct, AB_pct	AC_pct, BC_pct
p-Wert	0,131	0,131	0,432

Tab. 8: Darstellung der p-Werte nach Wilcoxon für den Vergleich unterschiedlichen Zeiträume bzgl. des B-Werts

Ein p-Wert von $< 0,05$ wurde als signifikant gewertet.

AB_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt B

AC_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt C

BC_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt B zu Zeitpunkt C

Der C-Wert wurde durchschnittlich nach 21,34 Stunden abgenommen, wobei das Minimum bei 15 Stunden und das Maximum bei 30 Stunden lag. Der D-Wert wurde nach $5,94 \pm 4,28$ Tagen gewonnen.

Von den insgesamt 114 in die Studie aufgenommenen Patienten konnte nur bei 62 Patienten mindestens zwei Messwerte zu verschiedenen Zeitpunkten gewonnen werden. Die Gründe dafür waren vor allem die oft kurzfristigen Entlassungen aus stationärem Aufenthalt nach Reaktion, da dann keine weiteren Testungen mehr möglich waren, ferner die manchmal vorzeitigen Entlassungen auf eigenen Wunsch der Patienten, der häufig ungünstige Zeitpunkt der Reaktionen (einige Patienten reagierten nachts, wodurch die Gewinnung von Blutproben erheblich erschwert wurde), oder die Verlegung von Patienten in andere Krankenhäuser zur Abklärung zusätzlicher, nicht dermatologischer Befunde.

Tab. 9 zeigt eine Übersicht über die Verteilung der gewonnenen Messwerte auf die Patienten.

Anzahl der Messwerte pro Patient	1	2	3	4	Σ
n	52	44	11	7	114
%	45,61	38,6	9,65	6,14	100,00

Tab. 9: Darstellung der Anzahl der gewonnenen Messwerte pro Patient

Da nur diese 62 Patienten im weiteren Verlauf der Studie interessant waren, wurden im Folgenden nur deren Daten verwendet.

3.2 Charakterisierung des Patientenguts

3.2.1 Alter und Geschlechterverteilung der Patienten

Das betrachtete Patientengut bestand damit aus 42 Frauen und 20 Männern. Das Durchschnittsalter lag bei $46,1 \pm 15,7$ Jahren, wobei der jüngste Patient 15 Jahre alt war und der älteste 85 Jahre. Hinweise auf Atopie fanden sich bei 16 Patienten (siehe Tab. 10). Die Gruppe der Patienten mit Bienen-/Wespengifthyposensibilisierung (BW) umfasste mit 10 Frauen und 7 Männern insgesamt 17 Patienten mit einem Durchschnittsalter von $44,0 \pm 16,0$ Jahren. Die Patienten der Gruppe mit Nahrungsmittel-, oder Nahrungsmittelzusatzstoffallergie bestand aus 9 Frauen und 9 Männern, wobei das Durchschnittsalter hier $44,9 \pm 15,0$ Jahren betrug. Die größte Gruppe stellte die der Patienten mit Medikamentenallergie mit insgesamt 27 Mitgliedern dar, wovon 21 Frauen und 6 Männer waren. Das Durchschnittsalter in dieser Gruppe betrug $50,2 \pm 15,9$ Jahre.

3.2.2 Patienten mit atopischer Disposition

Pat. Nr.	Gruppe	Allergische Rhinitis	Asthma bronchiale	Allergische Disposition	Schweregrad der Reaktion	Symptome	Elastaseveränderung in %	
							A-C	A-D
1	BW (-)		x		—	—	—	+1477,30
28	BW (-)		x		—	—	—	+13,13
71	N (-)			x	—	—	—	+43,62
12	N (-)			x	—	—	—	+27,70
10	N (-)	x			—	—	—	+50,81
104	N (-)	x			—	—	—	+3,23
65	N (-)	x			—	—	—	-57,71**
110	N (+)	x	x		I	1	+11,41*	-4,47*
77	N (+)	x			II	5	+12,73	+10,51
5	N (+)	x			II	2	-7,97	+18,32
9	N (+)	x			I	1,3		-19,48
64	N (+)	x			II	1,2	-92,09	-94,33
73	M (-)	x			—	—	—	-28,77
47	M (-)	x			—	—	—	-50,02
4	M (-)	x			—	—	—	-13,31
96	M (+)		x		I	1,3	+45,16	—
∑	16	13	4	2	I, II	1, 2, 3, 5		

Tab. 10: Charakterisierung der Patienten mit Atopie

BW(+): Patienten mit Bienen-/ Wespengift-Hyposensibilisierung mit Reaktion

BW(-): Patienten mit Bienen-/Wespengifthyposensibilisierung ohne Reaktion

N(+): Patienten mit oraler Provokation durch Nahrungsmittel oder Nahrungsmittelzusätze mit Reaktion

N(-): Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie ohne Reaktion

M(+): Patienten mit Medikamentenprovokation mit Reaktion

M(-): Patienten mit Medikamentenallergie ohne Reaktion

A-C: Zeitraum vor Provokation bis ca.24 h nach Reaktion

A-D: Zeitraum vor Provokation bis vor Entlassung aus stationärem Aufenthalt

*Ausgangsbezugswert der Elastaseveränderung war der B-Wert (1 h nach Reaktion)

**Ausgangswert (A-Wert) wurde nach einer Woche Testung abgenommen

Eine Charakterisierung der Patienten mit atopischer Disposition bzgl. Der aufgetretenen Symptome bei Reaktion und der Elastaseveränderung im Zeitraum A-C und A-D zeigt Tab. 10.

Ein Vergleich der Atopiker mit den Nicht-Atopikern bezüglich der Reaktionsstärke und der prozentualen Veränderung der Elastase im Verlauf der Testung ergab keine Unterschiede (Tab. 10). Lediglich bei Patient Nr. 64 zeigte sich ein starker Abfall des Elastasewertes (A-C:-92,09%; A-D:-94,33%). Dieser kam allerdings bei einem extrem hohen Ausgangswert von A: 416,65 ng/ml zustande.

3.2.2.1 Statistik

Atopiker – Nicht-Atopiker	A	C	D	AC_pct	AD_pct	Alter
p-Wert	0,941	0,166	0,487	0,455	0,530	0,425

Tab. 11: Darstellung der p-Werte nach Mann Whitney für den Vergleich der unterschiedlichen Zeitpunkte und Zeiträume bzgl. der Atopie

Ein p-Wert von < 0,05 wurde als signifikant gewertet.

AC_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt C

AD_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt D

A: Zeitpunkt vor Provokation

C: Zeitpunkt ca. 24 h nach Reaktion

D: Zeitpunkt bei Entlassung aus stationärem Aufenthalt

3.3 Verteilung der Reaktionen innerhalb der Patientengruppen

Die Verteilung der Reaktionen zeigte Unterschiede innerhalb der verschiedenen Gruppen. Abb. 2 verdeutlicht die Verteilung der Patienten mit Reaktion in den jeweiligen Gruppen.

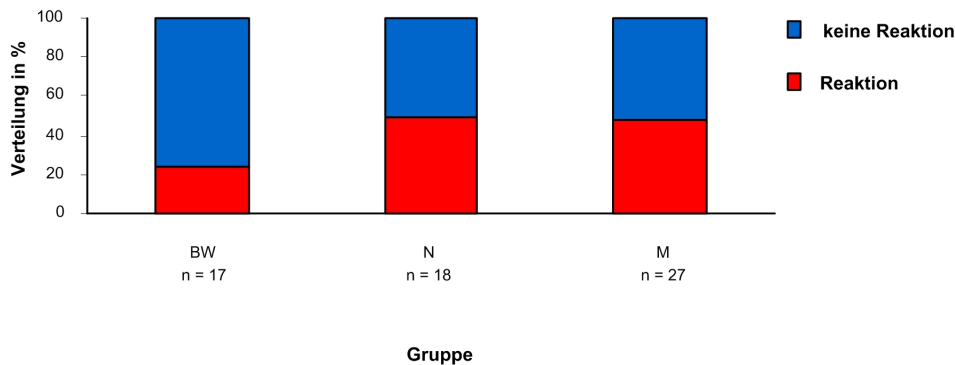


Abb. 2: Darstellung der Verteilung der Patienten mit Reaktion innerhalb der einzelnen Kategorien BW, N und M

BW = Patienten mit Bienen-/Wespen Gift hypersensibilisierung

N = Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie

M = Patienten mit Medikamentenallergie

In der Gruppe der Patienten mit Bienen-/Wespen Gift hypersensibilisierung reagierten 23,52% der Patienten systemisch. Damit liegt die Häufigkeit im Bereich des erwarteten Bereichs von 3-35% (Ring, J. 2004).

Etwas höher lag der prozentuale Anteil der Reaktionen in den anderen beiden Gruppen. Von den Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffprovokation reagierten genau 50%, bei den Patienten mit Medikamentenprovokation 48,14%. In der Gruppe M wurde allerdings nur in seltenen Fällen das anamnestisch suspektes Agens exponiert, da die Patienten oftmals primär zur Testung der Verträglichkeit von Ausweichpräparaten einbestellt waren. Insgesamt wurde nur bei 19 Patienten die eigentliche Problemsubstanz getestet. In den restlichen Fällen beschränkte sich die Testung auf Standard-Substanzen des OPTI (siehe Tab. 5) und mögliche Ausweichpräparate. Hieraus erklärt sich vermutlich auch die relativ geringe Anzahl an stärkeren anaphylaktoiden Reaktionen.

Tab. 12 zeigt eine Übersicht der Symptome der Patienten bei Reaktion.

Pat.Nr.	Gruppe	Symptome ¹⁾	Schweregrad ²⁾	Elastase zum Zeitpunkt C [ng/ml]	AC_pct	Exponat
3	BW(+)	1,2	II	18,57	-85,85	Venomil Bienengift 40 µg
5	N(+)	2	II	17,33	-7,97	Suchdiät Stufe 6
9*	N(+)	1,3	I	46,72	-19,48	OPTI (Kaliummetabisulfit)
14	BW(+)	1,2	II	43,08	42,37	Venomil-Wespengift 70 µg
23	M(+)	1	I	67,2	140,00	Paracetamol
24	N(+)	1	I	25,53	-16,35	Thunfisch
25	M(+)	1	I	50,47	20,11	Acetylsalicylsäure
32	M(+)	2,5	II	802,89	3555,55	Lidocain
40	M(+)	3,5	II	500,64	1910,60	Clindamycin
43	BW(+)	1,2,3	II	64,36	-76,00	Bienengift 40 µg
49*	M(+)	1	I	31,21	-61,85	Placebo
52	M(+)	0	0	57,64	32,84	Ibuprofen
57	BW(+)	1,2,3	II	49,19	40,10	Venomil-Wespengift 70 µg
63	M(+)	2	II	76,63	41,70	Mepivacain
64	N(+)	1,2	II	32,94	-92,09	Suchdiät Stufe 1
69	M(+)	1	0	46,89	26,15	Acetylsalicylsäure
77	N(+)	5	II	35,51	12,73	OPTI (Na-Benzooat)
78	M(+)	4	II	27,39	-35,45	Acetylsalicylsäure
81	M(+)	2,4	II	19,56	-20,52	Diclofenac
82	M(+)	3	I	52,27	192,67	Oxidierter Cellulose-Gaze
89	M(+)	2,3,4	II	31,36	-2,79	Acetylsalicylsäure
96	M(+)	1,2,4	II	38,38	45,16	Paracetamol
105**	N(+)	1,4	II	30,69	-2,63	OPTI Tartrazin/PHB Ester
106**	N(+)	1,2,3,5	II	34,37	24,26	Amaranth
110**	N(+)	1	I	28,9	11,41	OPTI (Kaliummetabisulfit)
116**	N(+)	1,2,5	II	20,14	-32,39	OPTI (Na-Benzooat)
n = 26				MW: 90,5±179,24	MW: 217,01±778,81	

Tab. 12: Übersicht der Symptome, Schweregrade und Exponate aller Patienten mit Reaktion

BW(+) = Patienten mit Bienen-/ Wespengift-Hyposensibilisierung mit Reaktion

N(+) = Patienten mit oraler Provokation durch Nahrungsmittel oder Nahrungsmittelzusätze mit Reaktion

M(+) = Patienten mit Medikamentenprovokation mit Reaktion

AC_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt C

1) Symptomeinteilung:

- 0 = unspezifische Reaktion
- 1 = Hautreaktion
- 2 = Herz-, Kreislaufsymptomatik
- 3 = Quinckesympptomatik
- 4 = Asthmatische Reaktion
- 5 = Übelkeit

2) Einteilung der Schweregrade nach der Skala von Ring und Meßmer 1977 (J. Ring, 2004):

- * D-Wert, da kein C-Wert abgenommen werden konnte
- ** B-Wert statt A-Wert

Insgesamt traten bei 16 Patienten Hautreaktionen auf, bei 13 Probanden konnten Herz-, Kreislaufbeschwerden beobachtet werden. Mit einer Quinckesympptomatik reagierten 7 Personen, asthmatische Reaktionen kamen bei 4 und Übelkeit bei insgesamt 5 Patienten vor.

7 mal waren Reaktionen mit Schweregrad I vertreten, 17 mal hingegen mit Schweregrad II. Höhergradige Reaktionen wurden nicht beschrieben. Gruppenspezifisch traten in Gruppe BW(+) Hautreaktionen, Herzkreislauf-, und Quinckesympptomatik als Reaktionen auf, in den Gruppen N(+) und M(+) wurden zudem noch Asthma und Übelkeit verzeichnet.

3.4 Verhalten der PMN-Elastase zu den Zeitpunkten A, C und D

Zur Verdeutlichung des Verhaltens der PMN-Elastase zu den Zeitpunkten A, C und D, bzw. im Zeitraum A-C und A-D, wurden neben den Säulendiagrammen zur Darstellung der arithmetischen Mittelwerte sowohl Boxplots als auch Punktdiagramme verwendet, da die Boxplots bei bestimmten Kategorien mit niedriger Fallzahl, besonders in der Kategorie BW(+), die Verhältnisse nicht ideal wiedergeben.

3.4.1 Vergleich männliche und weibliche Probanden

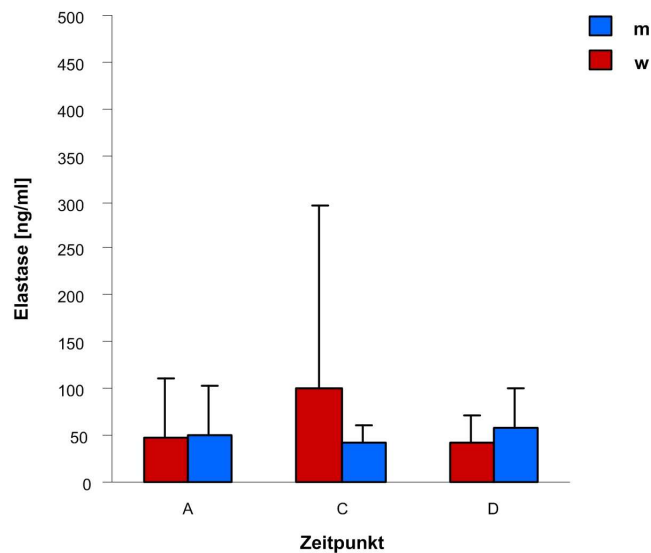


Abb. 3: Darstellung der arithmetischen Elastasemittelwerte bei Frauen und Männern zu den Zeitpunkten A, C und D

- A: Zeitpunkt vor Provokation
C: Zeitpunkt ca. 24 h nach Reaktion
D: Zeitpunkt bei Entlassung aus stationärem Aufenthalt
m: männlich
w: weiblich

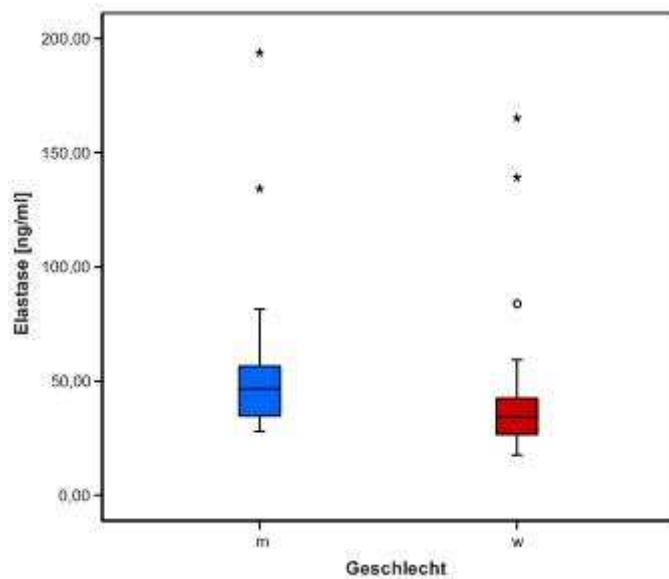


Abb. 4: Darstellung der PMN-Elastasewerte für Männer und Frauen zum Zeitpunkt D

m: männlich

w: weiblich

Abb. 3 vergleicht die arithmetischen Elastasemittelwerte bei Männern und Frauen zu den Zeitpunkten A, C und D. Mit Ausnahme des Zeitpunkts C zeigten die Mittelwerte von Männern und Frauen ein ähnliches Ergebnis. Der überschießende Wert der Frauen zum Zeitpunkt C geht vor allem auf die Ausreißerwerte der Patienten Nr.32 (802,89 ng/ml) und Nr.40 (500,64 ng/ml) zurück, daher auch die Größe des Fehlerindikatorbalkens. Zu erwähnen ist auch noch die unterschiedliche Verteilung der Männer (n=4) und Frauen (n=20) zu diesem Zeitpunkt, wodurch ein Vergleich der Geschlechter erschwert wird.

Abb. 4 beschreibt die Darstellung der PMN-Elastasewerte für Männer und Frauen zum Zeitpunkt D.

Statistisch ergab sich nur eine Signifikanz beim Vergleich Frauen gegen Männer zum Zeitpunkt D (Tab. 13 und Tab. 14). Die klinische Relevanz dieses Ergebnisses ist jedoch fraglich, da kein signifikanter Unterschied zu allen Zeitpunkten festgestellt werden konnte. Somit erscheint ein geschlechtsspezifischer Unterschied der Elastasewerte eher unwahrscheinlich.

3.4.1.1 Statistik

m / w	A	C	D	AC_pct	AD_pct	Alter
p-Wert	0,366	0,877	0,008	0,112	0,362	0,988

Tab. 13: Darstellung der p-Werte nach Mann Whitney für den Vergleich der unterschiedlichen Zeitpunkte und Zeiträume bzgl. des Geschlechts

Ein p-Wert von < 0,05 wurde als signifikant gewertet.

AC_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt C

AD_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt D

A: Zeitpunkt vor Provokation

C: Zeitpunkt ca. 24 h nach Reaktion

D: Zeitpunkt bei Entlassung aus stationärem Aufenthalt

m: männlich

w: weiblich

Statistics

Geschlecht	N		Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum	Percentiles		
	Valid	Missing					25	50	75
A m	20	0	50,9	53,3	12,3	268,2	29,8	38,9	56,7
A w	42	0	48,0	62,1	17,9	416,7	26,4	31,5	45,6
C m	4	16	43,4	17,2	27,4	64,4	28,4	40,9	60,9
C w	20	22	99,9	195,7	17,3	802,9	26,4	36,9	56,3
D m	19	1	58,5	41,2	28,0	193,9	33,5	46,7	58,2
D w	36	6	41,3	30,3	17,6	165,1	26,6	34,3	43,0
AC m	4	16	-,2	,4	-,8	,2	-,7	-,2	,1
AC w	20	22	2,8	8,4	-,9	33,4	-,1	,3	,4
AD m	19	1	1,1	3,5	-,8	14,8	-,1	,0	,5
AD w	36	6	,2	,9	-,9	4,3	-,2	,0	,2
Alter m	20	0	46,4	15,8	15,0	85,0	36,0	44,5	56,3
Alter w	42	0	46,0	15,9	16,0	72,0	29,8	51,5	60,3

Tab. 14: Deskriptive Darstellung der Statistik nach Geschlecht

A: Zeitpunkt vor Provokation

C: Zeitpunkt ca. 24 h nach Reaktion

D: Zeitpunkt bei Entlassung aus stationärem Aufenthalt

m: männlich

w: weiblich

AC: Zeitraum vor Provokation bis ca. 24 h nach Reaktion

AD: Zeitraum vor Provokation bis zur Entlassung aus stationärem Aufenthalt

3.4.2 Vergleich Patientengruppen mit Reaktion und ohne Reaktion

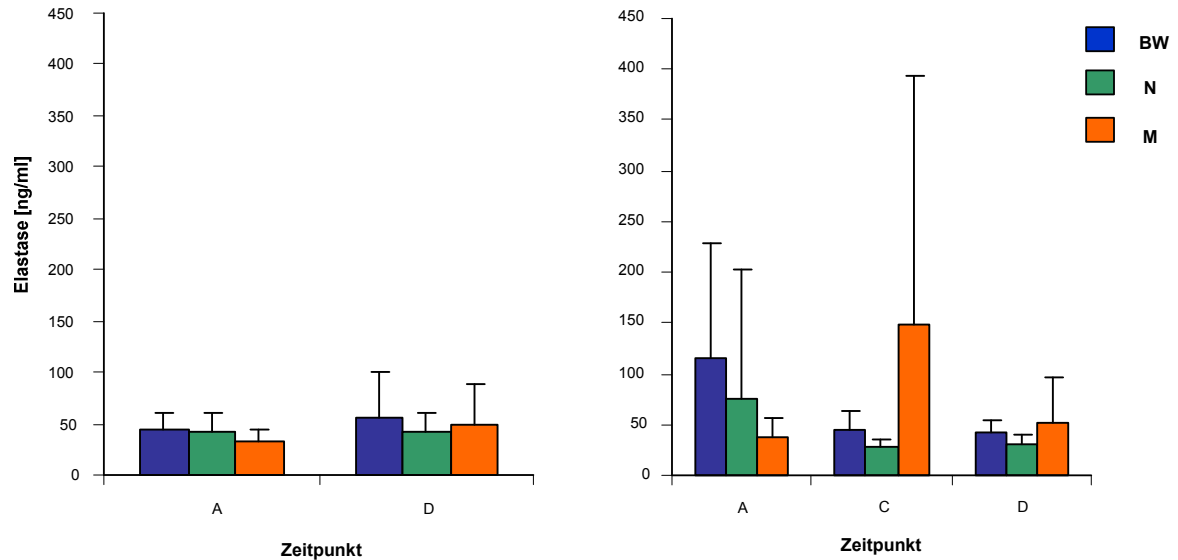


Abb. 5: Arithmetische Elastasemittelwerte der einzelnen Kategorien zu den Zeitpunkten A, C und D

Links sind die Gruppen ohne Reaktion zu den Zeitpunkten A und D dargestellt, rechts die Gruppen mit Reaktion zu den Zeitpunkten A, C und D.

- BW: Patienten mit Bienen-/Wespenallergie
 N: Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie
 M: Patienten mit Medikamentenallergie
 A: Zeitpunkt vor Provokation
 C: Zeitpunkt ca. 24 h nach Reaktion
 D: Zeitpunkt bei Entlassung aus stationärem Aufenthalt

Abbildung 5 vergleicht die arithmetischen Elastasemittelwerte der einzelnen Gruppen ohne Reaktion mit denen der Gruppen mit Reaktion zu den unterschiedlichen Zeitpunkten.

Die Mittelwerte stellen sich zum Zeitpunkt A in allen Untergruppen ohne Reaktion etwas niedriger dar als zum Zeitpunkt D. Insgesamt lagen die Mittelwerte der einzelnen Untergruppen, mit Ausnahme der Gruppen (BW) zum Zeitpunkt A und (M) zum Zeitpunkt C, an beiden Zeitpunkten nah beieinander und waren nur geringfügig unterhalb des für die PMN-Elastase angegebenen Normmittelwerts von 60,9 ng/ml [Milenia, Biotec] angesiedelt.

Vor allem zu den Zeitpunkten A und C wird eine Diskrepanz der Gruppen mit Reaktion zu denen ohne Reaktion deutlich. Diese beruht auf stark überhöhten Ausreißerwerten. Bei Patienten der Gruppe BW(+) zeigte sich auf Grund der Werte der Patienten Nr.3 (131,25 ng/ml) und Nr. 43 (268,21 ng/ml) eine große Streuung der Werte zum Zeitpunkt A (siehe Tab. 10 ff).

Der hohe Mittelwert der Gruppe M(+) zum Zeitpunkt C ergab sich auf Grund der Werte der Patienten Nr. 32 (802,89 ng/ml) und Nr. 40 (500,64 ng/ml). Somit beeinflussten in beiden Gruppen vor allem Ausreißer mit deutlich erhöhten Werten den Mittelwert, so dass dessen Signifikanz eingeschränkt ist.

3.4.2.1 Patientengruppen mit Reaktion

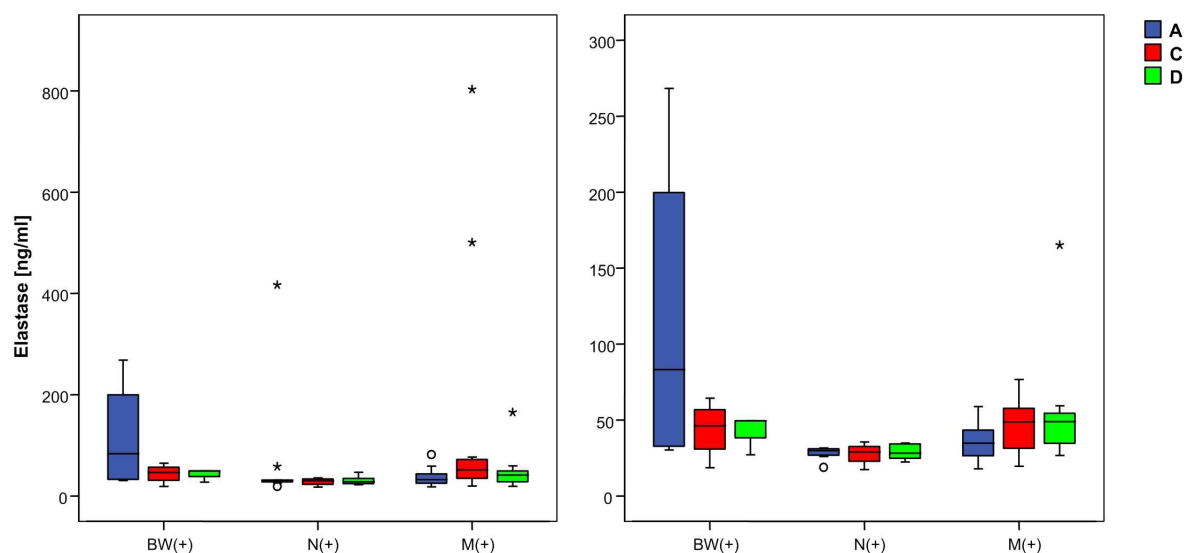


Abb. 6: Darstellung der absoluten PMN-Elastasewerte der Patientengruppen mit Reaktion zu den Zeitpunkten A, C und D

Links werden die Verhältnisse auf der für die Maximalwerte erforderlichen Skala beschrieben, rechts wird zugunsten der Übersicht der Ausschnitt Teil bis 300 ng/ml gewählt.

BW(+): Patienten mit Bienen-/ Wespengift-Hyposensibilisierung mit Reaktion

N(+): Patienten mit oraler Provokation durch Nahrungsmittel oder Nahrungsmittelzusätze mit Reaktion

M(+): Patienten mit Medikamentenprovokation mit Reaktion

A: Zeitpunkt vor Provokation

C: Zeitpunkt ca. 24 h nach Reaktion

D: Zeitpunkt bei Entlassung aus stationärem Aufenthalt

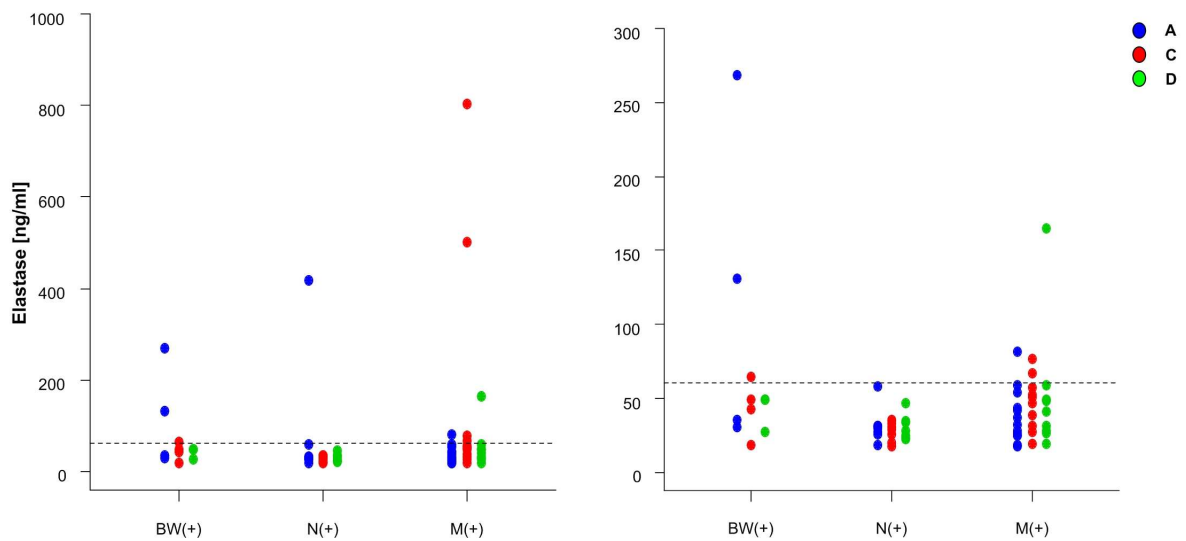


Abb. 7: Darstellung der PMN-Elastase-Einzelwerte der Patientengruppen mit Reaktion zu den Zeitpunkten A, C und D

Links werden die individuellen Ergebnisse auf der für die Maximalwerte erforderlichen Skala bis 1000 ng/ml beschrieben, rechts wird zugunsten der Übersicht der Ausschnitt Teil bis 300 ng/ml gewählt. Die gestrichelte, horizontal verlaufende Linie markiert dabei den für die PMN-Elastase angegebenen Normwert von 60,9 ng/ml [Milenia Biotec].

BW(+): Patienten mit Bienen-/ Wespengift-Hyposensibilisierung mit Reaktion

N(+): Patienten mit oraler Provokation durch Nahrungsmittel oder Nahrungsmittelzusätze mit Reaktion

M(+): Patienten mit Medikamentenprovokation mit Reaktion

A: Zeitpunkt vor Provokation

C: Zeitpunkt ca. 24 h nach Reaktion

D: Zeitpunkt bei Entlassung aus stationärem Aufenthalt

.....: PMN-Elastase Normwert [Milenia Biotec].

Betrachtet man Abb. 6 und Abb. 7, so stellt man fest, dass die Wertespektren und Mediane der unterschiedlichen Gruppen, mit Ausnahme der überhöhten Werte der Gruppen BW(+) zum Zeitpunkt A und der Gruppe M(+) zum Zeitpunkt C, zu allen Zeitpunkten sehr homogen waren.

Schlüsselt man die PMN-Elastasewerte der Patienten mit Bienen-oder Wespengifthyposensibilisierung zum Zeitpunkt A im Hinblick auf die maximal tolerierten Giftkonzentrationen auf (Abb. 8), so zeigt sich, dass der Patient mit der geringsten tolerierten Giftdosis von 40 µg auch den höchsten Ausgangswert aller reagierenden Personen zum Zeitpunkt A zeigte. Probanden mit Reaktionen bei 70 µg ließen geringere Werte erkennen. Der höchste Wert trat jedoch bei einem Patienten ohne Reaktion auf, der 100 µg Bienengift problemlos vertrug, wobei die übrigen mit erfolgreicher Hyposensibilisierung deutlich niedrigere Elastasekonzentrationen aufwiesen.

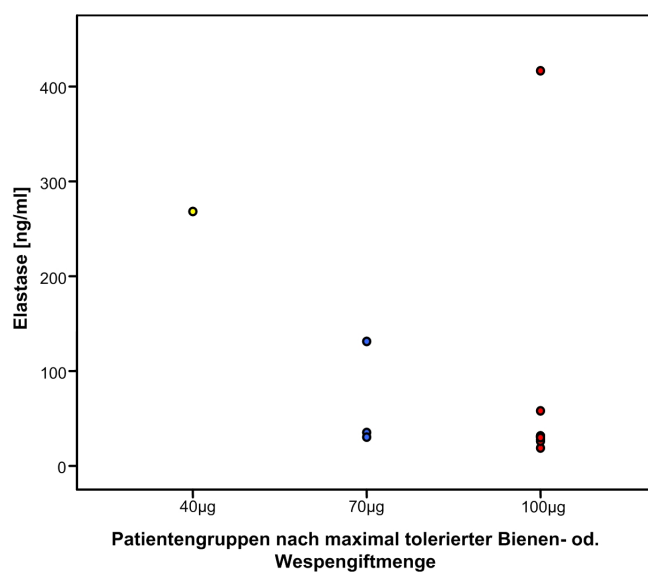


Abb. 8: Darstellung der Elastaseausgangswerte zum Zeitpunkt A der Patienten der Kategorie BW(+) und BW(-) geordnet nach maximal tolerierter Giftmenge

Patienten die der Gruppe 40 µg und 70 µg zugeordnet sind zeigten eine Reaktion bei der angegebenen Dosis, Probanden mit einer tolerierten Giftmenge von 100 µg reagierten nicht während der Hyposensibilisierung.

3.4.2.2 Patientengruppen ohne Reaktion

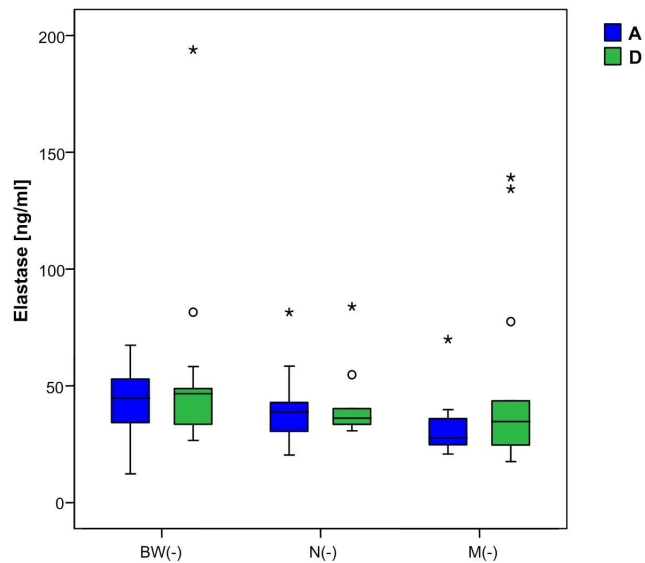


Abb. 9: Darstellung der absoluten PMN-Elastasewerte der Patientengruppen ohne Reaktion zu den Zeitpunkten A und D

Abgebildet sind die Ergebnisse der Patienten zu den Zeitpunkten A und D auf einer eingeschränkten Skala bis 200 ng/ml.

BW(-): Patienten mit Bienen-/Wespengifthyposensibilisierung ohne Reaktion

N(-): Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie ohne Reaktion

M(-): Patienten mit Medikamentenallergie ohne Reaktion

A: Zeitpunkt vor Provokation

D: Zeitpunkt bei Entlassung aus stationärem Aufenthalt

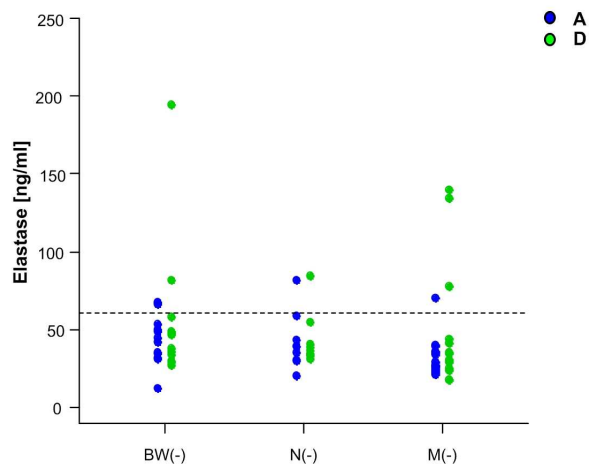


Abb. 10: Darstellung der PMN-Elastase-Einzelwerte der Patientengruppen ohne Reaktion zu den Zeitpunkten A und D

Abgebildet sind die Einzelergebnisse der jeweiligen Patienten zu den Zeitpunkten A und D auf einer eingeschränkten Skala bis 250 ng/ml. Die gestrichelte, horizontal verlaufende Linie markiert dabei den für die PMN-Elastase angegebenen Normwert von 60,9 ng/ml [Milenia Biotec].

- BW(-): Patienten mit Bienen-/Wespengift Hypo sensibilisierung ohne Reaktion
 N(-): Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie ohne Reaktion
 M(-): Patienten mit Medikamentenallergie ohne Reaktion
 A: Zeitpunkt vor Provokation
 D: Zeitpunkt bei Entlassung aus stationärem Aufenthalt
: PMN-Elastase Normwert [Milenia Biotec]

Die Abb. 9 und Abb. 10 zeigen ebenfalls eine sehr ähnliche Werteverteilung der einzelnen Gruppen zu den Zeitpunkten A und D.

Die Einzelwerte und Mediane sind, ähnlich der Patientengruppen mit Reaktion, etwas oberhalb des PMN-Elastasenormwertes angesiedelt. Die Ausreißerwerte stammen aus den Gruppen BW(-) und M(-), wobei ein Wert der Gruppe BW(-) über 400 ng/ml zum Zeitpunkt A lag und in dieser Darstellung nicht erfasst wird (siehe Abb. 8).

3.5 Relative Veränderung der PMN-Elastase

3.5.1 Patientengruppen mit Reaktion

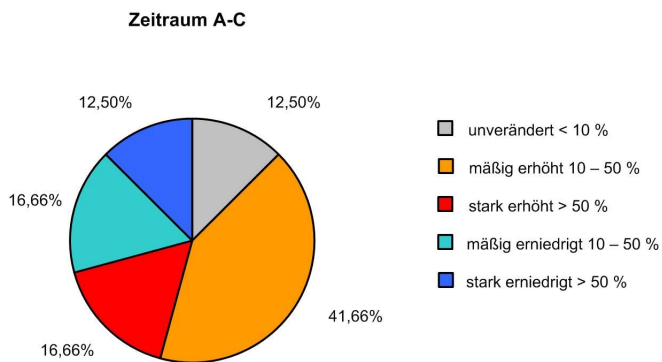


Abb. 11: Darstellung der Verteilung der relativen PMN-Elastaseveränderungen im Zeitraum A-C der Patientengruppen mit Reaktion (n=24)

A-C: Zeitraum vor Provokation bis ca. 24 h nach Reaktion

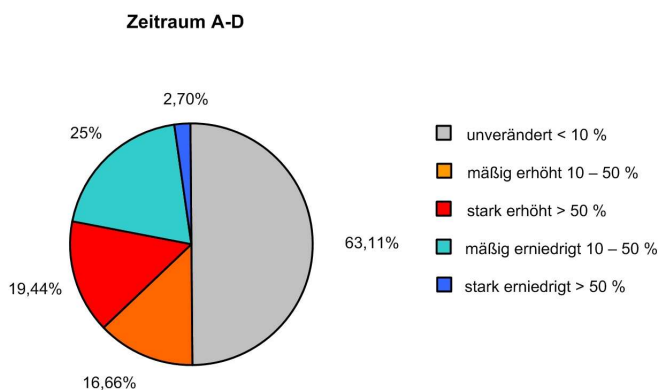


Abb. 12: Darstellung der Verteilung der relativen PMN-Elastaseveränderungen im Zeitraum A-D der Patientengruppen ohne Reaktion (n=36)

A-D: Zeitraum vor Provokation bis zur Entlassung aus stationärem Aufenthalt

Abb. 11 und Abb. 12 zeigen den Anteil an Elastaseerhöhungen und –erniedrigungen der Patienten mit Reaktion im Zeitraum A-C und der Patienten ohne Reaktion im Zeitraum A-D. Abb. 11 verdeutlicht, dass 58,32% in der Zeitspanne A-C eine Zunahme der PMN-Elastase aufwiesen. Dieser Anteil fällt bei den Personen ohne Reaktion im Zeitraum A-D mit 36,10% geringer aus (Abb. 12). Interessant ist auch die Beobachtung, dass der Anteil an unveränderten Elastasewerten im Zeitraum A-D

63,11% ausmacht, wohingegen es im Zeitraum A-C nur 12,50% sind. Die Verteilung der Verminderungen fällt in beiden Kategorien jedoch nahezu gleich aus.

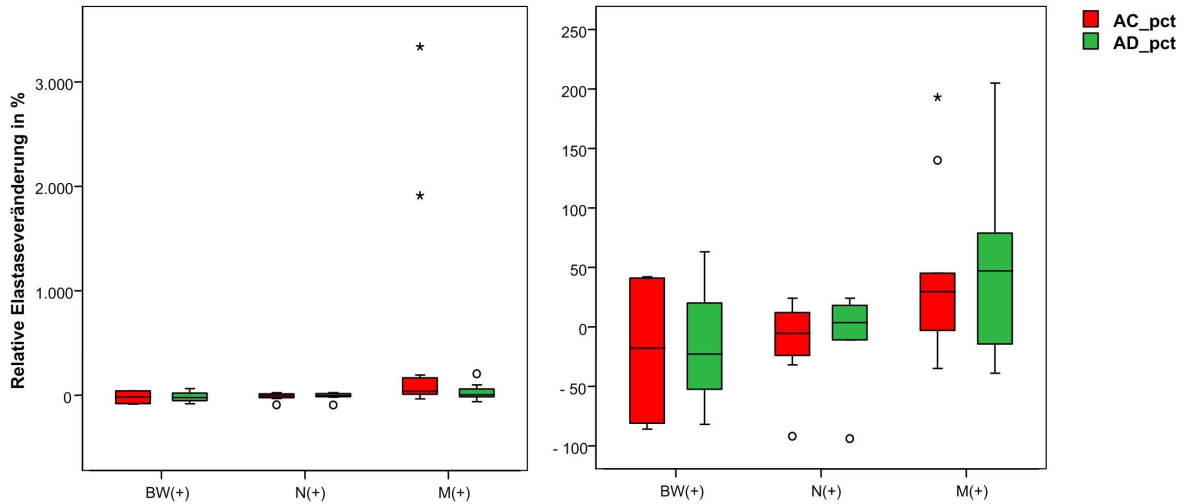


Abb. 13: Darstellung der relativen PMN-Elastaseveränderung der Patientengruppen mit Reaktion im Zeitraum A-D und A-C

Links werden die Verhältnisse auf der für die Maximalwerte erforderlichen Skala beschrieben, rechts wird zugunsten der Übersicht der Ausschnitt bis 250% Veränderung gewählt.

AC_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt C

AD_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt D

BW(+): Patienten mit Bienen-/ Wespengift-Hyposensibilisierung mit Reaktion

N(+): Patienten mit oraler Provokation durch Nahrungsmittel oder Nahrungsmittelzusätze mit Reaktion

M(+): Patienten mit Medikamentenprovokation mit Reaktion

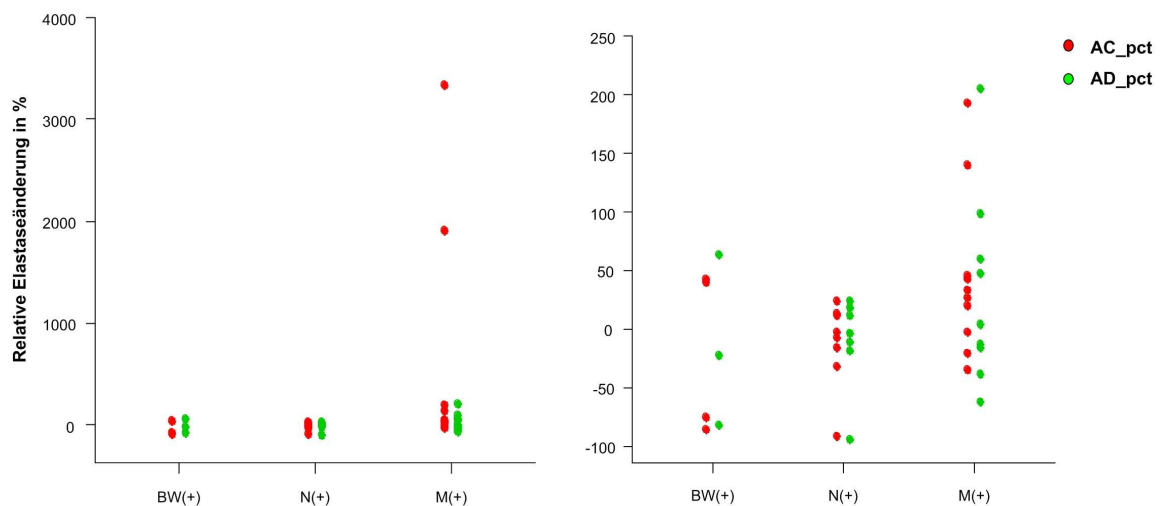


Abb. 14: Darstellung der einzelnen relativen PMN-Elastaseveränderungen der Patientengruppen mit Reaktion zu den Zeitpunkten A, C und D

Links werden die individuellen relative Veränderung auf der für die Maximalwerte erforderlichen Skala bis 4000 ng/ml beschrieben, rechts wird zugunsten der Übersicht der Ausschnitt Teil bis 250% gewählt.

AC_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt C

AD_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt D

BW(+): Patienten mit Bienen-/ Wespengift-Hyposensibilisierung mit Reaktion

N(+): Patienten mit oraler Provokation durch Nahrungsmittel oder Nahrungsmittelzusätze mit Reaktion

M(+): Patienten mit Medikamentenprovokation mit Reaktion

Aus den Abb. 13 und Abb. 14 geht hervor, dass es, abgesehen von den Ausreißerwerten, nur kleinere Schwankungen bezüglich der relativen Veränderungen der PMN-Elastasewerte innerhalb der Gruppen BW(+) und N(+) in den Zeiträumen A-C und A-D gibt. Die Personen der Kategorie M(+) zeigen allerdings ein größeres Wertespektrum mit mehreren PMN-Elastaseveränderungen. Eine genaue Auflistung der Statistiken für die prozentuale Elastaseveränderung in den jeweiligen Zeiträumen beschreiben Tab. 15ff.

3.5.2 Patientengruppen ohne Reaktion

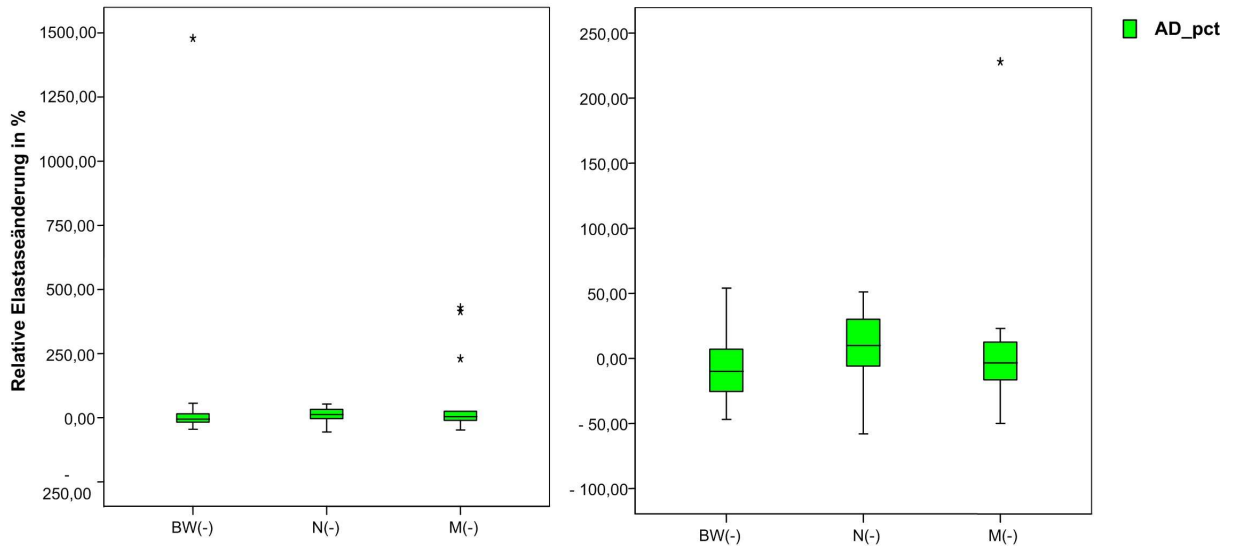


Abb. 15: Darstellung der relativen PMN-Elastasewerte der Patientengruppen ohne Reaktion zu den Zeitpunkten A und D

Links werden die individuellen relative Veränderung auf der für die Maximalwerte erforderlichen Skala bis 1500% beschrieben, rechts wird zugunsten der Übersicht der Ausschnitt Teil bis 250% gewählt.

AD_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt D

BW(-): Patienten mit Bienen-/Wespengiftallergie ohne Reaktion

N(-): Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie ohne Reaktion

M(-): Patienten mit Medikamentenallergie ohne Reaktion

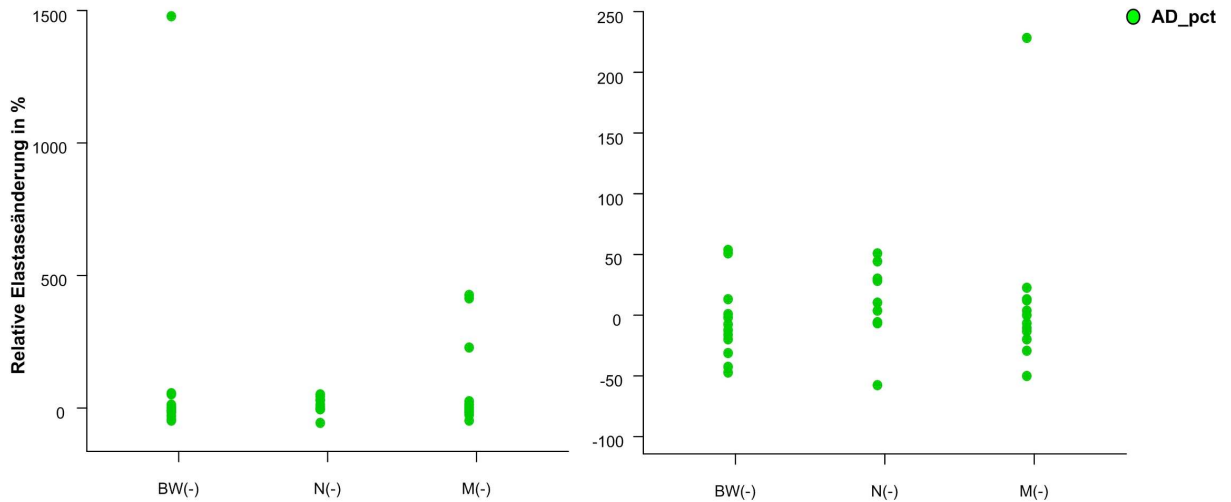


Abb. 16: Darstellung der einzelnen relativen PMN-Elastaseveränderungen der Patientengruppen ohne Reaktion im Zeitraum A-D

Links werden die individuellen relative Veränderung auf der für die Maximalwerte erforderlichen Skala bis 1500% beschrieben, rechts wird zugunsten der Übersicht der Ausschnitt Teil bis 250% gewählt.

AD_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt D

BW(-): Patienten mit Bienen-/Wespengiftthypensensibilisierung ohne Reaktion

N(-): Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie ohne Reaktion

M(-): Patienten mit Medikamentenallergie ohne Reaktion

Bei der Betrachtung der Abb. 15 und Abb. 16 zeigt sich ein homogenes Bild der prozentualen Veränderungen der PMN-Elastase im Zeitraum A-D bei allen Gruppen, sofern man auch hier die Ausreißerwerte außer Acht lässt.

Die Mediane der einzelnen Gruppen liegen im Vergleich zu den Patientengruppen mit Reaktion (Abb. 13 und Abb. 14) noch näher beisammen und sind im Bereich zwischen -8,00% und +10,00% angesiedelt (Tab. 15ff).

3.5.3 Statistik

Statistiken

Reaktion	Kategorie	N		Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Perzentile			
		Gültig	Fehlend					25	50	75	
ja	A	BW(+)	4	0	116,2	111,50	30,3	268,2	31,5	83,2	234,0
		N(+)	9	0	74,5	128,75	18,8	416,7	26,8	30,5	44,8
		M(+)	13	0	37,7	18,41	17,9	81,8	24,8	32,3	48,7
	C	BW(+)	4	0	43,8	19,05	18,6	64,4	24,7	46,1	60,6
		N(+)	8	1	28,2	6,66	17,3	35,5	21,5	29,8	34,0
		M(+)	12	1	147,6	244,69	19,6	802,9	33,1	51,4	74,3
	D	BW(+)	3	1	42,0	12,90	27,1	49,5	27,1	49,4	49,5
		N(+)	7	2	30,6	8,65	22,3	46,7	23,6	28,1	34,8
		M(+)	9	4	52,1	44,34	19,0	165,1	27,3	41,2	54,4
	AC_pct	BW(+)	4	0	-20,0	70,56	-86,0	42,0	-83,5	-18,0	41,5
		N(+)	8	1	-12,9	36,56	-92,0	24,0	-28,0	-5,5	12,5
		M(+)	12	1	473,9	1050,98	-35,0	3336,0	2,8	37,5	179,8
AD_pct	BW(+)	3	1	-14,0	72,92	-82,0	63,0	-82,0	-23,0	63,0	
	N(+)	7	2	-10,7	39,90	-94,0	24,0	-19,0	-4,0	18,0	
	M(+)	9	4	31,5	82,35	-62,0	205,0	-27,5	4,0	78,8	
nein	A	BW(-)	13	0	44,8	16,26	12,3	67,4	32,8	44,7	59,5
		N(-)	9	0	41,8	18,21	20,4	81,5	30,0	38,7	50,7
		M(-)	14	0	32,3	12,48	20,8	69,9	24,4	27,7	36,7
	C	BW(-)	0	13							
		N(-)	0	9							
		M(-)	0	14							
	D	BW(-)	13	0	55,1	44,23	26,6	193,9	31,5	46,6	53,5
		N(-)	9	0	42,8	16,96	30,7	83,9	33,2	36,1	47,5
		M(-)	14	0	49,1	39,97	17,6	139,2	24,3	34,7	52,1
	AC_pct	BW(-)	0	13							
		N(-)	0	9							
		M(-)	0	14							
AD_pct	BW(-)	13	0	109,0	412,17	-47,0	1477,0	-25,5	-8,0	32,0	
	N(-)	9	0	10,6	33,11	-58,0	51,0	-6,5	10,0	37,0	
	M(-)	14	0	70,7	161,48	-50,0	427,0	-14,8	2,0	74,3	

Tab. 15: Deskriptive Darstellung der Statistik nach Kategorien

AC_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt C

AD_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt D

BW(+): Patienten mit Bienen-/Wespenallergie mit Reaktion

BW(-): Patienten mit Bienen-/Wespenallergie ohne Reaktion

M(+): Patienten mit Medikamentenallergie mit Reaktion

M(-): Patienten mit Medikamentenallergie ohne Reaktion

N(+): Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie mit Reaktion

N(-): Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie ohne Reaktion

A: Zeitpunkt vor Provokation

C: Zeitpunkt ca. 24 h nach Reaktion

D: Zeitpunkt bei Entlassung aus stationärem Aufenthalt

Vergleich	Kategorie	A	C	D	AC_pct	AD_pct
BW(+)	BW(+), N(+)	0,199	0,154	0,183	0,808	0,833
	BW(+), M(+)	0,194	0,582	0,787	0,279	0,464
	BW(+), BW(-)	0,624		0,900		0,611
	BW(+), N(-)	0,414		1,000		0,630
	BW(+), M(-)	0,079		0,591		0,362
N(+)	N(+),M(+)	0,682	0,019	0,259	0,038	0,897
	N(+),BW(-)	0,110		0,019		1,000
	N(+),N(-)	0,340		0,071		0,232
	N(+),M(-)	0,688		0,400		0,636
M(+)	M(+),BW(-)	0,217		0,493		0,961
	M(+),N(-)	0,635		0,644		0,588
	M(+),M(-)	0,296		0,698		0,486
BW(-)	BW(-),N(-)	0,431		0,695		0,424
	BW(-),M(-)	0,022		0,220		0,480
N(-)	N(-),M(-)	0,141		0,643		0,628

Tab. 16: Darstellung der p-Werte nach Mann Whitney für den Vergleich der unterschiedlichen Kategorien

Ein p-Wert von < 0,05 wurde als signifikant gewertet.

AC_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt C

AD_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt D

BW(+): Patienten mit Bienen-/Wespenallergie mit Reaktion

BW(-): Patienten mit Bienen-/Wespenallergie ohne Reaktion

M(+): Patienten mit Medikamentenallergie mit Reaktion

M(-): Patienten mit Medikamentenallergie ohne Reaktion

N(+): Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie mit Reaktion

N(-): Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie ohne Reaktion

A: Zeitpunkt vor Provokation

C: Zeitpunkt ca. 24 h nach Reaktion

D: Zeitpunkt bei Entlassung aus stationärem Aufenthalt

Kategorie	A, C	A, D	D, C	AC_pct, AD_pct
BW (+)	0,625	0,750	0,500	0,750
N (+)	0,547	0,688	0,313	0,563
M (+)	0,061	0,750	0,887	0,813
BW (-)		0,585		
N (-)		0,359		
M (-)		0,542		

Tab. 17: Darstellung der p-Werte nach Wilcoxon für den Vergleich der unterschiedlichen Kategorien

Ein p-Wert von $< 0,05$ wurde als signifikant gewertet.

AC_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt C

AD_pct: Prozentuale Änderung von Zeitpunkt A zu Zeitpunkt D

BW(+): Patienten mit Bienen-/Wespenallergie mit Reaktion

BW(-): Patienten mit Bienen-/Wespenallergie ohne Reaktion

M(+): Patienten mit Medikamentenallergie mit Reaktion

M(-): Patienten mit Medikamentenallergie ohne Reaktion

N(+): Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie mit Reaktion

N(-): Patienten mit Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffallergie ohne Reaktion

A: Zeitpunkt vor Provokation

C: Zeitpunkt ca. 24 h nach Reaktion

D: Zeitpunkt bei Entlassung aus stationärem Aufenthalt

4 DISKUSSION

4.1 PMN-Elastase als Parameter verschiedener Erkrankungen

Die vorgelegte Arbeit untersuchte das Verhalten der PMN-Elastase bei anaphylaktischen Reaktionen von Patienten mit Allergien auf Bienen- und Wespengift, Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffe und Medikamente. Bisher war die Rolle der PMN-Elastase bereits bei der Regulation chronischer Entzündungen, als Parameter bei der Verlaufskontrolle septischer Erkrankungen oder bakterieller Infektionen, und zur Einschätzung postoperativer und posttraumatischer Komplikationen untersucht worden (Lang F., 1998). Zudem hat man ihre Relevanz beim Einsatz zur Differentialdiagnostik von tumorbedingten Erkrankungen wie z.B. Leukämie und Lungenkrebs diskutiert (Hastka, J. 1988; Zelvyte, I. et al., 2004). Ferner konnte gezeigt werden, dass der PMN-Elastaseplasmaspiegel oft bei posttraumatisch-entzündlichen Komplikationen direkt mit der Schwere des Krankheitszustandes korrelierte (Hocke-Kalbfleisch, U. 1996) und somit eine Funktion als Prognosefaktor einnehmen könnte. Da die neutrophilen Granulozyten bei allergischen Reaktionen durch verschiedene Mechanismen auf zellulärer und humoraler Ebene aktiviert werden, wurde die Frage interessant, inwieweit der PNM-Elastase auch bei allergisch bedingten Reaktionen Bedeutung zukommt, und ob sie ebenfalls als Prognose- und Verlaufparameter eingesetzt werden könnte. Zu diesem Themenbereich existieren derzeit nur wenige Arbeiten, so dass diese Studie eher die Funktion einer Vorläuferstudie übernimmt, deren Ergebnisse Ansatzpunkte für spätere spezifischere und größer angelegte Studien bieten.

4.2 PMN-Elastase bei anaphylaktischen Reaktionen

In unserer Studie konnten bei den anaphylaktoiden Reaktionen der einzelnen Gruppen mit Allergien auf Bienen- und Wespengift, Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffe und Medikamente zwar beobachtet werden, dass in allen drei Gruppen bei einigen Patienten die PMN-Elastase zu verschiedenen Zeitpunkten stark erhöht war, es ließ sich jedoch keine einheitlich positive Korrelation zwischen den Elastasewerten zu den jeweiligen Zeitpunkten der aufgetretenen anaphylaktischen Reaktionen mit einer Elastaseerhöhung im Blut feststellen.

Grundsätzlich kamen vereinzelt stark erhöhte Werte der PMN-Elastase zu allen in der Studie gemessenen Zeitpunkten vor. Diese verteilten sich jedoch sehr uneinheitlich, sowohl innerhalb der einzelnen Patientengruppen, als auch zu den unterschiedlichen Zeitpunkten.

Die stärksten absoluten Veränderungen der PMN-Elastase konnten bei den Patientengruppen mit Reaktion zu den Zeitpunkten A und C beobachtet werden, die größten relativen ebenfalls bei den Patienten mit Reaktion im Zeitraum A-C, sowie bei Patienten ohne Reaktion im Zeitraum A-D. Auf diesem Hintergrund wurden verschiedene Ansatzpunkte für Hypothesen untersucht, die das Verhalten der PMN-Elastase erklären könnten.

4.2.1 PMN-Elastase zum Zeitpunkt A

Insgesamt traten zum Zeitpunkt A bei vier Personen mit Reaktion deutlich erhöhte Elastasewerte auf. Zwei davon gehören der Kategorie BW(+) an und zeigten Werte von 286,21 ng/ml und 131,25 ng/ml. Beide wurden mit Bienengift hyposensibilisiert, reagierten aber bei unterschiedlichen Giftkonzentrationen (40 µg und 70 µg). Interessant hierbei ist die Beobachtung, dass der Patient, welcher bereits bei der geringeren Konzentration (40 µg) anaphylaktisch reagierte, auch den höheren Elastaseausgangswert zum Zeitpunkt A zeigte. An dieser Stelle wäre es spannend zu untersuchen, inwieweit ein erhöhter Ausgangselastasewert als ein Vorhersagekriterium für eine anaphylaktische Reaktion fungieren könnte. Dazu müsste man allerdings eine größere Anzahl von Patienten untersuchen. Zusätzlich zu den Beispielen der Gruppe BW(+) zeigte ein Proband mit bekannter Medikamentenunverträglichkeit einen erhöhten Ausgangswert von 81,81 ng/ml. Dessen Reaktionsbereitschaft war so stark ausgeprägt, dass sie sich während des stationären Aufenthalts bereits bei Placeboexposition wiederholt in Form von urticariellen Hauterscheinungen äußerte. Bei Entlassung war dessen PMN-Elastase um 61,85% im Vergleich zum Ausgangswert gesunken. Diese drei Beispiele bekräftigen die bereits oben aufgestellte Vermutung, dass eine erhöhte Reaktionsbereitschaft bei einigen Patienten mit einem erhöhten Elastaseausgangswert einhergehen könnte, und dass ferner die induzierten anaphylaktischen Reaktionen einen gewissen Elastaseverbrauch bewirken, da es bei allen drei oben genannten Personen nach einer anaphylaktoiden Reaktion im Laufe

der Testung bzw. der Hyposensibilisierung zudem zu einer deutlichen Abnahme der Elastasekonzentration 24 h nach Reaktion kam (Abb. 6 und Abb. 7).

Dennoch fand sich in unserem betrachteten Patientengut auch ein Proband aus der Gruppe N(+), der eine Ausgangskonzentration von 416,65 ng/ml aufwies ohne, dass bei ihm eine Reaktion folgte. Von den Patienten die bei 70 µg reagierten, zeigte auch nur einer von dreien mit 131,25 ng/ml einen über den Normwert von 60,9 ng/ml [Milenia Biotec] angesiedelten Wert. In der Gruppe N(-) kam zusätzlich noch eine Person mit einem A-Wert von 81,47 ng/ml vor, der ebenfalls nicht reagierte. Bei diesem Patienten wurde ein OPTI zur Bestätigung einer Nahrungsmittelunverträglichkeit durchgeführt. Allerdings bleibt bei dem Probanden die Frage offen, ob er tatsächlich mit der für ihn reaktionsauslösenden Substanz exponiert worden war. Diese Beobachtungen und die Tatsache, dass die anderen anaphylaktisch reagierenden Patienten (n=22) keine erhöhten PMN-Elastasewerte zum Zeitpunkt vor Provokation zeigten, passen wiederum weniger zu den oben aufgeführten Überlegungen, wodurch eine Abklärung des Sachverhaltes weiterhin spannend bleibt.

4.2.2 PMN-Elastase zum Zeitpunkt C

Die stärksten absoluten Elastaseerhöhungen konnten zum Zeitpunkt C, d.h. ca. 24 Stunden nach Reaktion, beobachtet werden. Zunächst fiel auf, dass zwei Werte im Bezug auf den Normwert extrem erhöht waren und beide in der Gruppe M(+) auftraten (Abb. 6 und Abb. 7). Bei der Darstellung der relativen Elastaseveränderungen zeigten diese beiden Patienten eine Zunahme der Elastasekonzentration um 3335,55% und 1910,60% (Abb. 13 und Abb. 14). Betrachtet man das Verhalten der Gruppen zum Zeitpunkt C unter Ausschluss der Ausreißerwerte der Gruppe M(+), so wurden stärkere Elastaseveränderungen nicht nur bei Patienten mit Medikamentenprovokation, sondern auch bei denen der anderen beiden Gruppen BW(+) und N(+) deutlich. Bei zwei Patienten mit Medikamentenprovokation konnte eine Elastasezunahme von 140,00% und 192,67% festgestellt werden, bei ebenfalls zwei Patienten mit Bienengiftallergie Elastaseabnahmen von 85,85% und 76,00% sowie bei einem Probanden mit Allergie auf Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffe eine Erniedrigung um 92,09%.

Anhand dieser Ergebnisse wäre es nun interessant zu untersuchen, warum es bei einigen Personen zu einer beachtlichen Enzymzunahme gekommen war, andere jedoch mit einer Abnahme reagierten. Da aber es sich hier aber auch nur um kleinere

Fallzahlen handelt, können Überlegungen diesbezüglich nur Anhaltspunkte für weitere Untersuchungen im Rahmen größerer Studien liefern.

Dennoch warfen diese Ergebnisse mehrere Fragen auf:

Könnte das unterschiedliche Elastaseverhalten zum Zeitpunkt C durch Differenzen in der Reaktionsstärke der einzelnen Patienten hervorgerufen werden?

Inwieweit hängen die Elastaseveränderungen von den verschiedenen Exponaten ab?

Besteht ein Zusammenhang zwischen Exponatkonzentration und Reaktionsstärke?

Auf diese Diskussionsansätze soll im Folgenden näher eingegangen werden.

4.2.2.1 Elastaseverhalten und Reaktionsstärke

Betrachtet man die Gruppe BW(+), d.h. die der Patienten mit Bienen-, oder Wespengiftallergie mit Reaktion, so ergibt sich ein Wertespektrum von +42,0% Elastaseerhöhung bis - 86,0% Elastaseerniedrigung obwohl alle Patienten mit Schweregrad II reagierten. Ebenso uneinheitlich erwies sich das Bild in der Gruppe M(+) und N(+) (Tab. 12), wodurch eine mit der Reaktionsstärke zunehmende Elastaseerhöhung oder -abnahme unwahrscheinlich wurde. Insgesamt reagierten alle Gruppen in etwa gleich stark. Es kamen nur Reaktionen mit Schweregrad I und II vor, wobei es keine bedeutenden Unterschiede in der Symptompräferenz einer Gruppe gab. In Gruppe BW(+) kamen Hautreaktionen, Herzkreislauf-, und Quinckesyndromatik als Reaktionen vor, in den Gruppen N(+) und M(+) wurden zudem noch asthmatische Reaktionen und Übelkeit verzeichnet. Vergleicht man die verschiedenen Symptome mit den Elastaseveränderungen der zugehörigen Patienten, so fallen auch hier keine einheitlichen Muster auf, die als Anhaltspunkte für einen Zusammenhang fungieren könnten.

Da die Untersuchung der Reaktionsstärke keine Erklärung für das Verhalten der PMN-Elastase ergab, wurde die Frage interessant, inwieweit die einzelnen Exponate dies beeinflussten.

4.2.2.2 Elastaseveränderung und Exponate bei Reaktion

Die Exponate der Gruppe M(+) waren keiner einheitlichen Wirkstoffkategorie zuzuordnen. Die stärkste Elastasezunahme wurde bei der anaphylaktischen Reaktion auf ein Antiarrhythmikum (Lidocain) und Lincosamid-Antibiotikum (Clindamycin) festgestellt, die beiden anderen jeweils auf ein Medikament aus der Klasse der NSAID

(Paracetamol und ASS). In der Literatur finden sich leider nur beschränkt präzise Angaben über arzneimittelspezifische Interaktionen von Medikamenten mit der PMN-Elastase. Erst kürzlich wurde ein PMN-Elastase inhibierender Effekt eines neuen Beta-Lactam-Antibiotikums bei inflammatorisch bedingter Pulmonalfibrose beschrieben (Dell'Aica, I. et al., 2006). Für die Gruppe der Lincosamide, speziell für Clindamycin, waren allerdings keine konkreten Angaben zu etwaigen Wechselwirkungen mit der PMN-Elastase vorhanden. Systemisch verabreichtem Lidocain wird allerdings eher ein Elastase inhibierender Effekt zugeschrieben (Wachtfogel, Y.T. et al., 1987), aber auch hierzu sind Literaturbeschreibungen nur in geringem Maße vorhanden. Für bestimmte Medikamente aus der Gruppe der NSAID, unter anderem für ASS und Ketoprofen, wurde in einer Studie ebenfalls ein leicht hemmender Einfluss beobachtet, dies jedoch nur bei Verwendung hoher Dosen zur Therapie der rheumatischen Arthritis (Steinmeyer, J. and Kalbhen, D.A. 1996). Beide Veröffentlichungen sprächen somit eher für einen durch diese Arzneimittel verursachten Rückgang der PMN-Elastase und erklären nicht den zum Zeitpunkt C verzeichneten Anstieg.

Die Reaktion auslösenden Exponate der beiden anderen Gruppen waren einerseits Bienengift, andererseits Kuhmilch bzw. Schimmelkäse bei Stufe 2 der Suchdiät. Sowohl speziell für diese Stoffe, als auch generell für anaphylaktische Reaktionen auf Bienen- und Wespengift oder Nahrungsmittel gibt es noch keine Anhaltspunkte bezüglich einer Beeinflussung der PMN-Elastase in der Fachliteratur. Die Auslösung des Elastaserückgangs allein durch diese Exponate erscheint ebenfalls unwahrscheinlich, wenn man zusätzlich die Liste der Exponate betrachtet, die eine Verminderung des Enzyms um weniger als 50% bewirkten (Tab. 12). Hier zeigt sich ein größeres Spektrum von verschiedenen Nahrungsmitteln, Nahrungsmittelzusatzstoffen und Medikamenten, welche auf Grund ihrer Inhomogenität die oben genannte Hypothese einer exponatbezogenen Elastaseveränderung nur schwerlich stützen können.

4.2.3 Elastaseverhalten und Exponatkonzentration

Da die Untersuchung der Reaktionsstärke sowie die der Reaktion auslösenden Stoffe keine Erklärung für das Verhalten der PMN-Elastase ergab, blieb noch die Frage offen, inwieweit sich eine eventuelle Elastaseerhöhung bzw. -erniedrigung proportional zur

Exponatkonzentration darstellte und inwieweit die Reaktionsstärke abhängig von der Exponatkonzentration war.

Hierzu eignet sich besonders die Analyse der Gruppe BW(+), da hier die Homogenität der Exponate (Bienen-/Wespengift) den direkten Vergleich der Patienten erleichtert und eventuelle unbekannte und präparatspezifische Einflussfaktoren mit der Exponatkonzentration korrelieren und die Interpretation nicht verfälschen würden. Tab. 12 zeigt, dass die Patienten in unserem Fall alle einheitlich Reaktionen des Schweregrads II gemäß der Skala von Ring und Meßmer (Ring, J. 2004) aufwiesen. Dieses Ergebnis besitzt jedoch nur eine eingeschränkte Aussagekraft, da auch hier die Fallzahl sehr klein war. Aus der Tabelle lassen sich aber dennoch einige Aussagen bezüglich des Elastaseverhaltens treffen. Es wurde deutlich, dass kein linearer Zusammenhang zwischen der Exponatkonzentration und der Höhe der PMN-Elastase besteht. Statistisch war jedoch keine sinnvolle Auswertung auf Grund der geringen Fallzahl möglich.

4.2.4 PMN-Elastase zum Zeitpunkt D

Zum Zeitpunkt D fielen insgesamt vier Patienten auf, die einen überdurchschnittlich hohen Elastasewert präsentierten. Einer stammte aus der Gruppe der Patienten mit Medikamentenprovokation M(+), die drei anderen aus den Gruppen ohne Reaktion BW(-) und M(-) (Abb. 6 und Abb. 7). Der Proband aus der Kategorie M(+) wurde mit dem Lokalanästhetikum Mepivacain (Scandicain) provoziert. In der Gruppe M(-) waren die Exponate bei einem Patienten Substanzen des OPTI (Tab. 5), bei dem anderen Mepivacain s.c. und ein Kortisonpräparat (Decortin H p.o.), welches erst einen Tag vor Abnahme des D-Wertes eingenommen wurde. Der Proband der Gruppe BW(-) wurde mit Bienengift bis zur Maximaldosis von 100 µg hyposensibilisiert. Auffallend ist hierbei, dass das Lokalanästhetikum Mepivacain bei insgesamt vier Patienten exponiert wurde (Tab. 6), aber nur bei zwei zu einem Anstieg des D-Wertes führte. Mepivacain ist ein Lokalanästhetikum vom Amid-Typ, das strukturell mit Bupivacain verwandt ist, aber pharmakologisch vielmehr dem Lidocain entspricht. In der Literatur ist der Einfluss von Lidocain auf die PMN-Elastase noch nicht ausführlich beschrieben worden, so dass es sich auch hier schwierig gestaltet den Enzymanstieg allein auf das verwendete Lokalanästhetikum zurückzuführen, zumal es für die Provokationstestung auch nur in geringen Mengen verabreicht wird. Es wird vielmehr eine Inhibition der PMN-

Elastasefreisetzung nach systemischer Applikation beobachtet (Wachtfogel, Y.T. et al., 1987). Der Anstieg des Patienten, der zusätzlich auch Kortison verabreicht bekam, ist wahrscheinlich eher als Reaktion darauf zurückzuführen.

4.2.5 Elastase im Zeitraum A-C und A-D

Interessant ist nun die Frage, ob das unterschiedliche Verhalten der PMN-Elastase bei einigen Patienten im Zeitraum A-C und A-D mit bestimmten, exponatunabhängigen Mechanismen erklärbar ist.

Im Zeitraum A-C zeigten insgesamt 58% aller Patienten mit Reaktion eine mäßig bis starke Elastasezunahme, 29% eine Abnahme. 12,5% der Patienten wiesen praktisch keine Veränderung der PMN-Elastase auf. In der Zeitspanne A-D wurde eine andere Tendenz sichtbar. Hier lag der prozentuale Anteil der Elastaseerhöhungen der Patienten ohne Reaktion bei 36%. Bei 28% kam es zu einer Erniedrigung >10% und 36% blieben nahezu gleich (Abb. 11 und Abb. 12).

Die genauen physiologischen Mechanismen, die diese deutliche Tendenz zu einer mehr oder minder verstärkten Elastasefreisetzung nach einer anaphylaktischen Reaktion erklären wurden bisher noch nicht beschrieben. Daher bleibt ein Erklärungsversuch weitgehend hypothetisch.

Dennoch haben in der Fachliteratur bereits mehrere Arbeiten die Rolle der PMN-Elastase bei allergisch bedingten Krankheiten untersucht. Im Jahr 1992 wurde tierexperimentell eine Degranulationszunahme der neutrophilen Granulozyten 8h nach Allergenexposition bei auf Weizen allergischen Hunden festgestellt und eine Bedeutung der PMN-Elastase vor allem in der allergischen Spätreaktion vermutet (Tabachnik, E. et al., 1992). Es gibt mittlerweile neuere Studien, die versuchen eine IgE-vermittelte Elastaseausschüttung bei allergischen Reaktionen mittels eines hoch spezifischen, auf den polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten befindlichen, IgE-Rezeptors zu erklären, bei dem es durch den Kontakt nur mit einem bestimmten potenten Allergen, gegen welches die betreffende Person bereits stark sensibilisiert ist, zur Freisetzung der PMN-Elastase kommen soll (Monteseirin, J. et al., 2003). Monteseirin, J., Bonilla, I. et al. (2003) konnten zeigen, dass neutrophile Granulozyten, die in vitro mit spezifischen Allergenen inkubiert wurden, welche bei an allergischem Asthma erkrankten Patienten klinische Symptome hervorriefen, nur dann zu einer Elastaseabgabe veranlasst werden, wenn sie von genau auf diese Allergene

allergischen Probanden stammten. Bei Gesunden oder bei Patienten die nicht auf diese Allergene sensibilisiert waren kam es zu keiner PMN-Elastaseausschüttung. Auf dem Hintergrund dieser Theorie könnte man die Elastasezunahme bei Hyposensibilisierten zum Ende der Provokationsreihe durchaus als durch eine allergisch bedingte Stimulierung verursacht sehen, da hier die bereits als anaphylaktoid erkannte Substanz in einer ständig wachsenden Dosis verabreicht wird. Interessant wäre weiterhin, ob diese starken Endwerte auch durch einen einmaligen Anstoß mit dem bekannten Anaphylaxieauslöser hervorgerufen werden könnte, was dann das Elastaseverhalten der Patienten der Gruppe M(+) zum Zeitpunkt C erklären würde. Ebenso müssten Patienten mit unklaren Nahrungsmittel- oder Medikamentenallergien, die nicht mit dem tatsächlichen, für die Anaphylaxie verantwortlichen, Antigen provoziert worden sind, eine nur geringe Schwankung der Elastase zeigen. Trotzdem bleibt, wenn man von der Hypothese eines auf den polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten befindlichen IgE-Rezeptors ausgeht, der von uns beobachtete Sachverhalt einer nur bei wenigen Patienten mit Reaktion aufgetretenen verstärkten PMN-Elastase Freisetzung unklar.

4.3 PMN-Elastase bei Patienten mit atopischer Disposition

Eine weitere interessante Frage war in diesem Zusammenhang, in welchem Ausmaß Patienten mit atopischer Disposition ein unterschiedliches Elastaseverhalten zeigen. Die Relevanz der PMN-Elastase beim atopischen Ekzem wurde mehrfach von verschiedenen Seiten beleuchtet und diskutiert. Sie konnte zum einen lokal vermehrt in betroffenen Epidermisschichten gefunden werden (Wiedow, O. et al., 1992), zum andern wird ihre Rolle innerhalb einer systemischen Freisetzung bei an Neurodermitis erkrankten Patienten erforscht (Ott, N.L. et al., 1994). Im Zusammenhang mit einer Aktivierung des Kallikrein-Kinin-Systems, welches bereits als bedeutsam für die Pathogenese des atopischen Ekzems erkannt worden ist, und als Stimulator für die Freisetzung einer Reihe anderer Arginin-Esterasen in menschlichem Plasma vermutet wird, wurde ebenfalls die Aktivierung der PMN-Elastase untersucht. Eine Beeinflussung der Neutrophilen und deren Elastase durch das Kallikrein-Kinin-System ist in verschiedenen Arbeiten belegt worden (Hoffmeister, H.M. et al., 1994; Shcherbakova, I. et al., 1999; Yarovaya, G. et al., 1996). Es konnte gezeigt werden, dass deren Aktivität sowohl in Plasmen von Patienten mit atopischem Ekzem,

atopischem Asthma bronchiale und allergischer Rhinitis zum Teil doppelt so groß war, als in der gesunden Normalbevölkerung (Neshkova, E. et al., 1996). Unsere Studie schloss insgesamt 16 Patienten mit mit Atopie ein, darunter zwei mit atopischer Disposition, zwölf mit allergischer Rhinitis und zwei mit allergischem Asthma bronchiale ein (Tab. 10). Ein Vergleich der Atopiker mit den Nicht-Atopikern bezüglich der Reaktionsstärke und der prozentualen PMN-Elastaseveränderung zu den unterschiedlichen Zeitpunkten ergab keine Unterschiede (Tab. 11). Unter den Patienten mit Atopie befanden sich zwei Patienten mit auffälligem Elastaseverhalten. Es handelt sich dabei um bereits diskutierte Patienten, einmal um einen Patienten der Gruppe BW(-) mit allergischem Asthma bronchiale, der bei geringerem Ausgangselastasewert mit einer relativen Erhöhung am Ende der Hyposensibilisierung von 1477,30% hervorstach, und einmal um einen Patienten mit Nahrungsmittelprovokation und Reaktion mit allergischer Rhinitis, welcher eine starke absolute PMN-Elastase zum Zeitpunkt A aufwies und sowohl 24h postreaktiv als auch bei Entlassung eine Verringerung um mehr als 90% zeigte. Diese beiden Beispiele würden die Ergebnisse der oben erwähnten Studie (Neshkova, E. et al., 1996) insofern stützen, als dass diese Atopiker eine verstärkte Reaktivität der PMN-Elastase zum Vorschein brachten. Es erscheint allerdings unwahrscheinlich, dass dies allein auf die atopische Disposition zurückzuführen ist, da die übrigen an allergischem Asthma bronchiale und allergischer Rhinitis erkrankten Patienten ein unauffälliges Elastaseverhalten an den Tag legten.

4.4 Einfluss von Glukokortikoiden und Antihistaminika

Die Suche nach weiteren Faktoren, die sich auf die Freisetzung von Elastase aus den polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten oder deren Inhibition auswirken, ist somit weiterhin von Bedeutung. Ein wichtiger Punkt, der an dieser Stelle diskutiert werden muss, ist ein möglicher Einfluss von Glukokortikoiden oder Antihistaminika wie z.B. Solu-Decortin H und Fenistil, die bestimmten Patienten mit Reaktion notfallmäßig verabreicht wurden. In unserer Studie war das bei fünf Patienten der Fall. Alle fünf bekamen mindestens 250 mg SDH i.v., drei Patienten wurde zudem mind. 1 Ampulle Fenistil verabreicht. Vier reagierten mit einer deutlichen Elastasezunahme von bis zu 1910,60% bereits nach 24 h, einer zeigte eine starke Abnahme von 76,00%. Die antiinflammatorischen und immunsuppressiven Wirkungen von Glukokortikoiden in Form einer Reduktion der Lymphozytenzahl und -funktion sind bereits bekannt (Karow,

T. 2005). Dennoch ist die Forschung bezüglich der Kortikoidwirkung auf die polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten und deren Enzyme noch nicht abgeschlossen. Es gibt eine ganze Reihe von Veröffentlichungen, die den Effekt unterschiedlicher Glukokorticoide auf die Anzahl und Aktivität der Neutrophilen sowie der von ihnen freigesetzten PMN-Elastase untersuchten, wobei u.a. eine signifikante Hemmung der PMN-Elastase und der Neutrophilenaktivität durch Kortikosteroide erkannt wurde (Keatings, V.M. et al., 1997; Stockley, R.A. et al., 1986). Konkret stellte sich heraus, dass z.B. Prednisolon zur Therapie einer Kolitis tierexperimentell eine Verminderung der PMN-Elastaseaktivität bewirken konnte (Hirota, Y. et al., 2005), dass aber eine zweiwöchige Therapie mit 20 mg p.o. bei Patienten mit chronischem Lungenemphysem täglich keine diminuierenden Effekt auf die Anzahl der Neutrophilen Granulozyten im Sputum oder die Elastaseausschüttung hatte (Fujimoto, K. et al., 1999). Über zwei Wochen inhaliertes Fluticason bei Nichtraucherern mit gesunder Lungenfunktion (Kamal, A.M. et al., 2002), oder nach achtwöchiger Inhalation bei Patienten mit chronischer Bronchitis oder Lungenemphysem (Llewellyn-Jones, C.G. et al., 1996) resultierte ebenfalls nicht in einer Inhibition der PMN-Elastase oder der Neutrophilenfunktion. Andererseits konnte bei Patienten mit Myelodysplasie und deutlich vermindertem Elastaseplasmaspiegel auch ein Wiederansteigen des Elastase-alpha 1-Proteinase Inhibitors (E-alpha 1PI) durch Decortingabe beobachtet werden (Hastka, J. 1988). Auf Grund des pathophysiologischen Hintergrunds, dass die neutrophilen Granulozyten zur Elastaseabgabe stimulierende IL-8 durch Glukokortikoide inhibiert wird (Kwon, O.J. et al., 1994), lässt sich aber auch eine verminderte Freisetzung der PMN-Elastase unter deren Einfluss vermuten. Allerdings wurde dieser meist unter einer langfristigen Kortikoidexposition beobachtet. In Anbetracht der in unserer Studie vorliegenden Bedingungen wären jedoch vielmehr die kurzfristig eintretenden Auswirkungen einer Glukokortikoidstoßtherapie interessant. Zu diesem Thema existiert eine Arbeit, in der die Wirkung von 1.5 mg kg⁻¹ Dexamethason auf den Elastaseausstoß nach 4 h in Mäusen analysiert wurde. Hier konnte nur ein nicht nennenswert geringer Effekt auf die Elastaseaktivität (Klemm, P. et al., 1995) erkannt werden.

Bei den Patienten, die zusätzlich Fenistil bekamen, ergaben sich in unsere Studie ebenfalls uneinheitliche Ergebnisse bezüglich des Elastaseverhaltens nach Applikation des Antihistaminikums. Allerdings reagierten diese Patienten mit stärkeren Enzymentgleisungen als die, denen nur 250 mg SDH i.v. verabreicht wurde. Auf Grund der geringen Fallzahl der mit Notfallmedikation therapierten Personen, lässt sich aber

auch hier nur schwer ein kausaler Zusammenhang der antihistaminiergen Medikation mit einer Veränderung der Elastasefreisetzung postulieren. In der Literatur gibt es wenig Anhaltspunkte für einen direkten Effekt von H1-Rezeptorblockern auf das PMN-Elastaseverhalten. Für das Pharmakon Azelastine konnte zum Beispiel tierexperimentell eine Hemmung der PAF (Platelet-activating-factor) induzierten Elastasefreisetzung in bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit bei Ratten mit entzündlich veränderter Bronchialmucosa festgestellt werden (Tamaoki, J. et al., 1999). Dieses Ergebnis beruhte aber wohl vielmehr auf der durch dieses Medikament verursachten, direkten Inhibition des PAF, als auf der gezielten Hemmung der PMN-Elastaseausschüttung.

Somit bleibt weiterhin offen, inwieweit eine Antihistaminika bzw. eine Kortisonstoßtherapie eine Ausschüttung oder Hemmung der PMN-Elastase beeinflusst und gezielte Untersuchungen innerhalb größer angelegter Studien müssen abgewartet werden, um diese Sachverhalte fundiert diskutieren zu können.

4.5 Ausblick

Da die bisher diskutierten Anhaltspunkte für eine veränderte PMN-Elastasekonzentration während einer Allergenexposition bei Patienten mit Bienen- oder Wespengiftallergie, Nahrungsmittel- oder Medikamentenunverträglichkeit das breite Spektrum der Elastase beeinflussenden Faktoren noch lange nicht komplett erfassen können, sind gezielte Untersuchungen weiterer möglicher Einflussfaktoren nötig. Zum Beispiel wäre es interessant, bestimmte Begleiterkrankungen auf erhöhte PMN-Elastasewerte hin zu untersuchen. Insbesondere bei Patienten mit Mastozytose könnten sich Veränderungen nicht nur bei der Tryptase-Plasmakonzentration ergeben, sondern es könnte vielleicht, wenn auch in geringerem Maße, eine Stimulierung der Elastasefreisetzung stattfinden. In dieser Arbeit war das bei einer einzigen Patientin der Fall. Sie zeigte zum Zeitpunkt C, d.h. ca. 24 h nach Reaktion einen PMN-Elastaseausgangswert von 802,89 ng/ml, was einer Zunahme des Enzyms um 3335,55% im Vergleich zum ursprünglichen Wert vor Testung entspricht. Weiterhin spannend wäre die Erforschung des PMN-Elastaseverhaltens bei an Tumoren erkrankten Personen. Auf Grund des dabei stattfindenden erhöhten Gewebeumsatzes könnte es vermutlich ebenfalls zu einer verstärkten Elastaseaktivität im Plasma kommen. Auch hierfür gab es einen Fall in unserer Arbeit. Eine Patientin, die bereits

vor Testung einen PMN-Elastaseausgangswert von 416,65 ng/ml aufwies, war gleichzeitig an einem superfiziell spreitenden malignen Melanom sowie an einem Leberadenom erkrankt.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die pathophysilologischen und pharmakologisch bedingten Ursachen einer verstärkten oder verminderten Elastasefreisetzung aus den neutrophilen Granulozyten sehr komplex ist und die bisherigen Ergebnisse noch viel Raum für Spekulationen und eine gezielte Forschung auf diesem Gebiet lassen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die PMN-Elastase stellt bereits in verschiedensten Bereichen der Medizin einen Bedeutenden Parameter zur Diagnostik und Differenzierung sowohl chronisch entzündlicher und bakterieller, als auch tumorbedingter Erkrankungen dar (Duswald, K.H. et al., 1985; Hastka, J. 1988; Zelvyte, I. et al., 2004).

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob auf Grund der Ähnlichkeit der pathophysiologischen Prozesse bei Entzündungen und allergischen Reaktionen und der bereits festgestellten Korrelation der Höhe des Elastasespiegels mit der Intensität des entzündlichen Stimulus (Hocke-Kalbfleisch, U. 1996) ein Anstieg der PMN-Elastase bei anaphylaktischen Reaktionen zu verzeichnen ist und ob dieser mit dem Schweregrad der Allergie des einzelnen Patienten korreliert.

Insgesamt wurden 62 Patienten mit Allergien auf Bienen- und Wespengift, Nahrungsmittel-, und Nahrungsmittelzusatzstoffe oder Medikamente während ihres stationären Aufenthalts in der Klinik untersucht und entsprechend ihrer Diagnose in drei unterschiedliche Gruppen eingeteilt (BW, N, M). In der Gruppe „BW“ wurden alle Patienten zusammengefasst, bei denen bei bekannter Bienen-/Wespengiftallergie eine stationäre Rush-Hyposensibilisierung durchgeführt wurde. Gruppe „N“ bezeichnet alle Patienten mit oraler Provokation durch Nahrungsmittel oder Nahrungsmittelzusätze, und Gruppe „M“ die Patienten mit Medikamentenprovokation.

Im Nachhinein wurden alle Gruppen nach negativer (-) und positiver (+) Reaktion unterteilt (Tab. 3). Das Patientengut setzte sich aus 42 Frauen und 20 Männern zusammen, wobei das Durchschnittsalter bei $46,1 \pm 15,7$ Jahren lag. Bei 26 Patienten trat eine anaphylaktische Reaktion vom Schweregrad I oder II nach Ring und Meßmer (Ring, J. 2004) auf.

Für jeden Patienten waren mindestens zwei Blutabnahmen vorgesehen: Am Aufnahmetag vor Beginn der Provokationen, bzw. Hyposensibilisierung (Zeitpunkt A), und nach Beendigung der Testreihe (Zeitpunkt D). Patienten, die anaphylaktisch reagierten, wurde zusätzlich ca. 1 Stunde (Zeitpunkt B) und ca. 24 Stunden (Zeitpunkt C) nach Reaktion Blut abgenommen. Zur Ermittlung der Elastasekonzentrationen in den jeweiligen Patientenseren wurde ein ELISA-Kit der Firma Milenia Biotec verwendet.

Bei der Auswertung der Daten konnte weder eine generelle Tendenz zu einem erhöhten PMN-Elastasewert zu den unterschiedlichen Zeitpunkten A, B, C oder D festgestellt werden, noch zeigte sich eine Korrelation bestimmter, vereinzelt aufgetretener, erhöhter Elastasewerte mit Kriterien wie Reaktionsstärke, Exponatkonzentration, Atopie, Geschlecht oder Medikation bei anaphylaktischer Reaktion.

6 LITERATURVERZEICHNIS

Alessandrini, F., Schulz, H., Takenaka, S., Lentner, B., Karg, E., Behrendt, H., and Jakob, T. (2006). Effects of ultrafine carbon particle inhalation on allergic inflammation of the lung. *J Allergy Clin Immunol* 117, 824-830.

Burks, W., Bannon, G.A., Sicherer, S., Sampson, H.A. (1999). Peanut-induced anaphylactic reactions. *Int Arch Allergy Immunol* 119, 165–172.

Dell'Aica, I., Sartor, L., Galletti, P., Giacomini, D., Quintavalla, A., Calabrese, F., Giacometti, C., Brunetta, E., Piazza, F., Agostini, C., and Garbisa, S. (2006). Inhibition of leukocyte elastase, polymorphonuclear chemoinvasion, and inflammation-triggered pulmonary fibrosis by a 4-alkyliden-beta-lactam with a galloyl moiety. *J Pharmacol Exp Ther* 316, 539-546.

Duswald, K.H., Jochum, M., Schramm, W., and Fritz, H. (1985). Released granulocytic elastase: an indicator of pathobiochemical alterations in septicemia after abdominal surgery. *Surgery* 98, 892-899.

Feng, D., Nagy, J.A., Pyne, K., Dvorak, H.F., and Dvorak, A.M. (1998). Neutrophils emigrate from venules by a transendothelial cell pathway in response to FMLP. *J Exp Med* 187, 903-915.

Fujimoto, K., Kubo, K., Yamamoto, H., Yamaguchi, S., and Matsuzawa, Y. (1999). Eosinophilic inflammation in the airway is related to glucocorticoid reversibility in patients with pulmonary emphysema. *Chest* 115, 697-702.

Hastka, J. (1988). The importance of granulocyte elastase in haematological diagnosis. *Blut* 57, 69-75.

Hertenberger, B. (1994). Methylhistaminausscheidung im Urin von oral provozierten Patienten bei Nahrungsmittel-, Nahrungsmittelzusatzstoff- und

Medikamentenunverträglichkeit. Dissertation (München, Ludwig-Maximilians-Universität), p. 103.

Hirota, Y., Suzuki, M., Yamaguchi, K., Fujita, T., and Katsube, N. (2005). Pathophysiological studies of trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Comp Med* 55, 45-54.

Hocke-Kalbfleisch, U. (1996). Stellenwert der PMN-Elastase bei entzündlich-rheumatischen Erkrankungen im Kindesalter. Dissertation (München), p. 22.

Hoffmeister, H.M., Beyer, M.E., Engel, Z., and Heller, W. (1994). Activation of leukocytes and of the kallikrein-kinin system in patients with unstable angina pectoris. *Clin Cardiol* 17, 27-30.

Holgate, S.T., Church, M.K., and Kapp, A. ed. (1996). *Allergologie*, 1. edn (Berlin/Wiesbaden: Ullstein Mosby).

Jochum, M., White, J., Duswald, K.H., Inthorn, D., Welter, H., and Fritz, H. (1986). Pathobiochemistry of sepsis: role of proteinases, proteinase inhibitors and oxidizing agents. *Behring Inst Mitt*, 121-130.

Johnston, B., Butcher, E.C. (2002). Chemokines in rapid leukocyte adhesion triggering and migration. *Semin Immunol* 14, 83-92.

Kamal, A.M., Corrigan, C.J., Tetley, T.D., Alagband-Zadeh, J., and Smith, S.F. (2002). Effect of fluticasone on the elastase:antielastase profile of the normal lung. *Eur J Clin Invest* 32, 713-719.

Karow, T., Lang, R., ed. (2005), *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 13. edn (Pulheim : Selbstverl. des Verf.).

Keatings, V.M., Jatakanon, A., Worsdell, Y.M., and Barnes, P.J. (1997). Effects of inhaled and oral glucocorticoids on inflammatory indices in asthma and COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 155, 542-548.

Kessenbrock, K., Fröhlich, L., Sixt, M., Lämmermann, T., Pfister, H., Bateman, A., Belaouaj, A., Ring, J., Ollert, M., Fässler, R., Jenne, D.E. (2008). Proteinase 3 and neutrophil elastase enhance inflammation in mice by inactivating antiinflammatory progranulin. *J Clin Invest* 118(7), 2438-47.

Klemm, P., Harris, H.J., and Perretti, M. (1995). Effect of rolipram in a murine model of acute inflammation: comparison with the corticoid dexamethasone. *Eur J Pharmacol* 281, 69-74.

Knol, E.F., Mul, F.P., Jansen, H., Calafat, J., and Roos, D. (1991). Monitoring human basophil activation via CD63 monoclonal antibody 435. *J Clin Immunol* 88, 328-338.

Kwon, O.J., Au, B.T., Collins, P.D., Adcock, I.M., Mak, J.C., Robbins, R.R., Chung, K.F., and Barnes, P.J. (1994). Tumor necrosis factor-induced interleukin-8 expression in cultured human airway epithelial cells. *Am J Physiol* 267, L398-405.

Lang F., Dreher, M., Heuber A. (1998). Diagnostische Validität der Plasma-Elastase als prädiktiver, biochemischer Marker für infektiöse bzw. entzündliche Komplikationen. In *Dt. Ges. f. klin. Chemie e.V, Mitteilungen* 1, 10-16.

Llewellyn-Jones, C.G., Harris, T.A., and Stockley, R.A. (1996). Effect of fluticasone propionate on sputum of patients with chronic bronchitis and emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 153, 616-621.

Lommatzsch, M., Julius, P., Kuepper, M., Garn, H., Bratke, K., Irmischer, S., Luttmann, W., Renz, H., Braun, A., and Virchow, J.C. (2006). The course of allergen-induced leukocyte infiltration in human and experimental asthma. *J Allergy Clin Immunol* 118, 91-97.

Ludolph-Hauser, D., Rueff, F., Fries, C., Schopf, P., and Przybilla, B. (2001). Constitutively raised serum concentrations of mast-cell tryptase and severe anaphylactic reactions to Hymenoptera stings. *Lancet* 357, 361-362.

Malmheden-Yman, I. (1999). Hidden allergens in food detected and quantitated by specific antibodies. In *The 5th International Conference Agri-Food Antibodies* (Norwich, UK).

Monteseirin, J., Bonilla, I., Camacho, M.J., Chacon, P., Vega, A., Chaparro, A., Conde, J., and Sobrino, F. (2003). Specific allergens enhance elastase release in stimulated neutrophils from asthmatic patients. *Int Arch Allergy Immunol* 131, 174-181.

Müller, U., Mosbech, H. (1993). Position paper: Immunotherapy with hymenoptera venoms. (EAACI) *The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. Allergy* 48, 36-46.

Neshkova, E., Puzhko, S., Dotsenko, V., Nenasheva, N., Yarovaya, G., and Gorjachkina, L. (1996). Activity of leukocyte elastase in patients' plasma is a significant indicator of atopic diseases. *Immunopharmacology* 33, 383-386.

Ocmant, A., Peignois, Y., Mulier, S., Hanssens, L., Michils, A., and Schandene, L. (2007). Flow cytometry for basophil activation markers: the measurement of CD203c up-regulation is as reliable as CD63 expression in the diagnosis of cat allergy. *J Immunol Methods* 320, 40-48.

Ohlemüller, H. (1986). PMN-Elastase in Diagnostik und Verlaufskontrolle chronisch entzündlicher Darmkrankheiten. Dissertation (Würzburg, Universität Würzburg), p. 1.

Ono, S.J., Nakamura, T., Miyazaki, D., Ohbayashi, M., Dawson, M., and Toda, M. (2003). Chemokines: roles in leukocyte development, trafficking, and effector function. *J Allergy Clin Immunol* 111, 1185-1199; quiz 1200.

Ott, N.L., Gleich, G.J., Peterson, E.A., Fujisawa, T., Sur, S., and Leiferman, K.M. (1994). Assessment of eosinophil and neutrophil participation in atopic dermatitis: comparison with the IgE-mediated late-phase reaction. *J Allergy Clin Immunol* 94, 120-128.

Pirker, C., Koller, D., Rosenkranz, A.R., Jarisch, R., and Götz, M. (1992). Mückenstichallergie. *Hautarzt* 43, 1-3.

Pouyanne, P., Haramburu, F., Imbs, J.L., and Begaud, B. (2000). Admissions to hospital caused by adverse drug reactions: cross sectional incidence study. French Pharmacovigilance Centres. *BMJ Clinical research* ed 320, 1036.

Pumphrey, R.S.H., and Stanworth, S.J. (1996). The clinical spectrum of anaphylaxis in north-west England. *Clin Exp Allergy* 26, 1364–1370.

Reunala, H., Brummer-Korvenkontio, H., Lappalainen, P., Rasanen, L., and Palosuo, T. (1990). Immunology and treatment of mosquito bites. *Clin Exp Allergy* 20, 19–24.

Ring, J., ed. (2004). *Angewandte Allergologie*, 3 edn (München: Urban & Vogel).

Rohrer, A.L., Pichler, W., and Helbling, A. (1998). Anaphylaxie: Klinik, Ätiologie und Verlauf bei 118 Patienten. *Schweiz Med Wochenschr* 128, 53-63.

Romero, D.G., Vergara, G.R., Zhu, Z., Covington, G.S., Plonczynski, M.W., Yanes, L.L., Gomez-Sanchez, E.P., and Gomez-Sanchez, C.E. (2006). Interleukin-8 synthesis, regulation, and steroidogenic role in H295R human adrenocortical cells. *Endocrinology* 147, 891-898.

Rueff, F., Placzek, M., and Przybilla, B. (2006). Mastocytosis and Hymenoptera venom allergy. *Current opinion in allergy and clinical immunology* 6, 284-288.

Sampson, H.A. (1996). Managing peanut allergy. *Brit. Med. J.* 312, 1050-1051.

Sanz, M.L., Maselli, J.P., Gamboa, P.M., Oehling, A., Dieguez, I., and de Weck, A.L. (2002). Flow cytometric basophil activation test: a review. *J Investig Allergol Clin Immunol* 12, 143-154.

Schuster, A., Haarmann, A., and Wahn, V. (1995). Cytokines in neutrophil-dominated airway inflammation in patients with cystic fibrosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 252 *Suppl* 1, S59-60.

Schwartz, H.J., Sutheimer, C., Gauerke, M.B., and Yunginger, J.W. (1988). Hymenoptera venom-specific IgE antibodies in post-mortem sera from victims of sudden, unexpected death. *Clin Allergy* 18, 461-468.

Shcherbakova, I., Neshkova, E., Dotsenko, V., Platonova, T., Shcherbakova, E., and Yarovaya, G. (1999). The possible role of plasma kallikrein-kinin system and leukocyte elastase in pathogenesis of schizophrenia. *Immunopharmacology* 43, 273-279.

Shotton, D.M., and Hartley, B.S. (1973). Evidence for the amino acid sequence of porcine pancreatic elastase. *Biochem J* 131, 643-675.

Steinmeyer, J., and Kalbhen, D.A. (1996). The inhibitory effects of antirheumatic drugs on the activity of human leukocyte elastase and cathepsin G. *Inflamm Res* 45, 324-329.

Stockley, R.A., Morrison, H.M., Kramps, J.A., Dijkman, J.H., and Burnett, D. (1986). Elastase inhibitors of sputum sol phase: variability, relationship to neutrophil elastase inhibition, and effect of corticosteroid treatment. *Thorax* 41, 442-447.

Tabachnik, E., Schuster, A., Gold, W.M., and Nadel, J.A. (1992). Role of neutrophil elastase in allergen-induced lysozyme secretion in the dog trachea. *J Appl Physiol* 73, 695-700.

Tamaoki, J., Yamawaki, I., Tagaya, E., Kondo, M., Aoshiba, K., Nakata, J., and Nagai, A. (1999). Effect of azelastine on platelet-activating factor-induced microvascular leakage in rat airways. *Am J Physiol* 276, L351-357.

Tanaka, H., Sugimoto, H., Yoshioka, T., and Sugimoto, T. (1989). Polymorphonuclear leukocyte elastase (PMNE) levels in sepsis; the effect of PMNE on multiple organ failure (MOF). *Nippon Geka Gakkai Zasshi* 90, 334-342.

Wachtfogel, Y.T., Kucich, U., Greenplate, J., Gluszko, P., Abrams, W., Weinbaum, G., Wenger, R.K., Rucinski, B., Niewiarowski, S., Edmunds, L.H. Jr. (1987). Human neutrophil degranulation during extracorporeal circulation. *Blood* 69, 324-330.

Weber-Mani, U., Pichler, W.J. (2003). Le test de transformation lymphocytaire (LTT) dans le diagnostic des allergies médicamenteuses. *Forum Med Suisse* 15.

Wiedow, O., Wiese, F., Streit, V., Kalm, C., and Christophers, E. (1992). Lesional elastase activity in psoriasis, contact dermatitis, and atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 99, 306-309.

Yarovaya, G., Shutov, E., Jebelenko, G., Dotsenko, V., and Neshkova, E. (1996). Molecular and functional aspects of alterations in the kallikrein-kinin system activity in human blood plasma at different stages of peritonitis and chronic renal failure. *Immunopharmacology* 32, 135-140.

Zelvyte, I., Wallmark, A., Piitulainen, E., Westin, U., and Janciauskiene, S. (2004). Increased plasma levels of serine proteinase inhibitors in lung cancer patients. *Anticancer Res* 24, 241-247.

7 ABILDUNGSVERZEICHNIS

7.1 Abbildungen

Abb. 1: Darstellung der zeitlichen Verhältnisse der Abnahmezeitpunkte	23
Abb. 2: Darstellung der Verteilung der Patienten mit Reaktion innerhalb der einzelnen Kategorien BW, N und M	28
Abb. 3: Darstellung der arithmetischen Elastasemittelwerte bei Frauen und Männern zu den Zeitpunkten A, C und D	31
Abb. 4: Darstellung der PMN-Elastasewerte für Männer und Frauen zum Zeitpunkt D32	
Abb. 5: Arithmetische Elastasemittelwerte der einzelnen Kategorien zu den Zeitpunkten A, C und D	34
Abb. 6: Darstellung der absoluten PMN-Elastasewerte der Patientengruppen mit Reaktion zu den Zeitpunkten A, C und D	35
Abb. 7: Darstellung der PMN-Elastase-Einzelwerte der Patientengruppen mit Reaktion zu den Zeitpunkten A, C und D	36
Abb. 8: Darstellung der Elastaseausgangswerte zum Zeitpunkt A der Patienten der Kategorie BW(+) und BW(-) geordnet nach maximal tolerierter Giftmenge	37
Abb. 9: Darstellung der absoluten PMN-Elastasewerte der Patientengruppen ohne Reaktion zu den Zeitpunkten A und D	38
Abb. 10: Darstellung der PMN-Elastase-Einzelwerte der Patientengruppen ohne Reaktion zu den Zeitpunkten A und D	39
Abb. 11: Darstellung der Verteilung der relativen PMN-Elastaseveränderungen im Zeitraum A-C der Patientengruppen mit Reaktion (n=24)	40
Abb. 12: Darstellung der Verteilung der relativen PMN-Elastaseveränderungen im Zeitraum A-D der Patientengruppen ohne Reaktion (n=36)	40
Abb. 13: Darstellung der relativen PMN-Elastaseveränderung der Patientengruppen mit Reaktion im Zeitraum A-D und A-C	41
Abb. 14: Darstellung der einzelnen relativen PMN-Elastaseveränderungen der Patientengruppen mit Reaktion zu den Zeitpunkten A, C und D	42
Abb. 15: Darstellung der relativen PMN-Elastasewerte der Patientengruppen ohne Reaktion zu den Zeitpunkten A und D	43
Abb. 16: Darstellung der einzelnen relativen PMN-Elastaseveränderungen der Patientengruppen ohne Reaktion im Zeitraum A-D	44

7.2 Tabellen

Tab. 1: Granulainhalt polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten	11
Tab. 2: Auswahl biologischer Substrate der PMN-Elastase	12
Tab. 3: Übersicht über die Patientengruppen	15
Tab. 4: Suchdiät für Erwachsene (J. Ring, 2004)	17
Tab. 5: Substanzen des OPTI; Schema nach Ring und Przybilla (J. Ring, 2004)	17
Tab. 6: Übersicht über die verwendeten Exponate	18
Tab. 7: Deskriptive Darstellung der Statistik bzgl. des B-Werts	23
Tab. 8: Darstellung der p-Werte nach Wilcoxon für den Vergleich unterschiedlichen Zeiträume bzgl. des B-Werts	24
Tab. 9: Darstellung der Anzahl der gewonnenen Messwerte pro Patient	24
Tab. 10: Charakterisierung der Patienten mit Atopie	26
Tab. 11: Darstellung der p-Werte nach Mann Whitney für den Vergleich der unterschiedlichen Zeitpunkte und Zeiträume bzgl. der Atopie	27
Tab. 12: Übersicht der Symptome, Schweregrade und Exponate aller Patienten mit Reaktion	29
Tab. 13: Darstellung der p-Werte nach Mann Whitney für den Vergleich der unterschiedlichen Zeitpunkte und Zeiträume bzgl. des Geschlechts	33
Tab. 14: Deskriptive Darstellung der Statistik nach Geschlecht	33
Tab. 15: Deskriptive Darstellung der Statistik nach Kategorien	45
Tab. 16: Darstellung der p-Werte nach Mann Whitney für den Vergleich der unterschiedlichen Kategorien	46
Tab. 17: Darstellung der p-Werte nach Wilcoxon für den Vergleich der unterschiedlichen Kategorien	47

8 DANKSAGUNG

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Dr. phil. Johannes Ring, Direktor der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein, Technische Universität München, danke ich sehr für die gewährte Unterstützung in seiner Klinik.

Herrn Prof. Dr. med. Markus Ollert, Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein, Technische Universität München, danke ich für die Überlassung des Themas und die wissenschaftliche Unterstützung sowie für seine Hilfestellung und Beratung.

Ebenso danke ich Herrn PD Dr. med. Martin Mempel, Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein, Technische Universität München, der mich mit fachlichem Rat unterstützt und in fruchtbaren Diskussionen gefördert hat.

Mein Dank gilt auch Frau Beate Heuser, Frau Johanna Grosch und Frau Christa Trautmann die vielfältige Unterstützung bei den Labortätigkeiten.

Mein besonderer Dank gilt meinem Freund, Daniel Franz, für die jederzeit geduldige Hilfestellung bei allen Problemen und den moralischen Rückhalt sowie meinen Eltern für ihre allseitige Unterstützung.

9 LEBENS LAUF

Name: Kerzl
Vorname: Regina Corona
Eltern: Corona Kerzl, Dipl. Sozialpädagogin
Martin Victor Kerzl, Dipl. Ing. Maschinenbau

Schul Ausbildung

09/1986 – 07/1990: Grundschule Hepberg
09/1990 – 06/1999: Christoph-Scheiner-Gymnasium, Ingolstadt
06/1999: Abitur

Hochschulausbildung

10/1999 – 09/2001: Medizinstudium an der Universität Regensburg
09/2001: Physikum
seit 10/2001: Medizinstudium an der Technischen Universität München
08/2002: Erstes Staatsexamen
03/2005: Zweites Staatsexamen
10/2006: Drittes Staatsexamen
seit 01/2007: Assistenzärztin an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein, Technische Universität München