

Klinik und Poliklinik für Dermatologie
und Allergologie am Biederstein
des Klinikums rechts der Isar
der Technischen Universität München
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. J.Ring)

**Die Bedeutung des Renin-Angiotensin-Systems
und der Mediatoren Histamin und Tryptase
bei Bienen- und Wespengift-Allergie
vor und nach Stichprovokation**

Annette Liebetrau

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. Priv.-Doz. Dr. B. Eberlein-König
2. Univ.-Prof. Dr. H. Behrendt

Die Dissertation wurde am 29.08.2005 bei der
Technischen Universität München eingereicht und durch
die Fakultät für Medizin am 19.10.2005 angenommen.

1. EINLEITUNG	4
1.1 Anaphylaxie	4
1.2 Hymenopteregift-Anaphylaxie.....	11
1.3 Das Renin-Angiotensin-System.....	18
1.4 Fragestellung	20
2. MATERIAL UND METHODEN:	23
2.1 Kontrollpersonen und Patienten.....	23
2.2 Hyposensibilisierung und Stichprovokation	24
2.3 Gewinnung von Leukozyten und Plasma	25
2.4 Plasmatisches Renin-Angiotensin-System.....	27
2.5 Lokales Renin-Angiotensin-System	29
2.6 Mediatoren der Anaphylaxie im Plasma.....	31
2.7. Statistik	33
2.8. Materialien.....	34
3. ERGEBNISSE	36
3.1. Geschlechts- und Altersverteilung der Patienten	36
3.2 Histamin im Plasma als Mediatoren der Anaphylaxie.....	37
3.3 Tryptase im Plasma als Mediatoren der Anaphylaxie	43
3.4 Histamin in den Leukozyten.....	45
3.5 Angiotensin II im Plasma bei Probanden und Patienten vor und nach Stichprovokation	50
3.6 Angiotensin II in den Leukozyten bei Patienten vor und nach Stichprovokation ..	59

4. DISKUSSION.....	61
4.1 Tryptase und Histamin im Plasma als Mediatoren der Anaphylaxie.....	63
4.2 Histamin in den Leukozyten.....	69
4.3 Plasmatisches Renin-Angiotensin-System bei Probanden und Patienten vor und nach Stichprovokation	71
4.4 Lokales RAS bei Patienten vor und nach Stichprovokation	75
4.5 Immunologische Funktion des lokalen RAS	77
4.5 Diagnostik des Schweregrades der Insektengift-Allergie	78
4.6. Medikamentöse Begleittherapie.....	79
4.7. Schlussfolgerung.....	81
5. ZUSAMMENFASSUNG.....	83
6. LITERATUR.....	86
7. DANKSAGUNG.....	102
8 LEBENS LAUF.....	104
9. ERKLÄRUNG.....	105

1. Einleitung

1.1 *Anaphylaxie*

Anaphylaxie ist eine meist unerwartete, plötzlich auftretende und für den Betroffenen oft lebensbedrohliche Reaktion. Die erste Beschreibung einer anaphylaktischen Reaktion mit Todesfolge lässt sich in das Altertum in das Jahre 2640 v. Chr. zurückverfolgen, als der damalige ägyptische Pharao Menes von einer Wespe gestochen wurde und kurz darauf verstarb [56]. Erste fundierte Untersuchungen zur Pathogenese der Anaphylaxie findet man seit Anfang dieses Jahrhunderts. Der Begriff Anaphylaxie wurde im Jahre 1902 von Richet und Portier etabliert [55]. In der Absicht Hunde gegen Seeanemonengift zu immunisieren, hatten sie diese subletalen Dosen injiziert. Als sie jedoch den Hunden wenige Tage nach der ersten Injektion erneut subletale Dosen des Giftes appliziert hatten, kam es zu schnell verlaufenden, nicht vorhersehbaren, tödlichen Reaktionen. Im Gegensatz zu der von ihnen beabsichtigten Schutzwirkung (Prophylaxe) gegen das Gift, nannten sie diese Reaktion Anaphylaxie.

Die Voraussetzung für das Auftreten einer anaphylaktischen Reaktion ist die Bildung spezifischer Antikörper gegen ein Antigen,

aufgrund Sensibilisierung gegen dieses Antigen. Beispiele für immunologisch vermittelte, anaphylaktische Reaktionen sind die durch Lebensmittel und Insektengift induzierten Reaktionen. Neben der immunologisch vermittelten Anaphylaxie gibt es die pseudoallergischen, anaphylaktoiden Reaktionen (PAR). Diese Reaktionen unterscheiden sich hinsichtlich der klinischen Symptomatik von einer echten immunologisch vermittelten, anaphylaktischen Reaktion nicht, jedoch sind die PAR nicht immunologisch vermittelt und bedürfen keiner initialen Sensibilisierung. Der genaue Reaktionsmechanismus der PAR ist nicht bekannt, jedoch scheinen dieselben Mediatoren, die auch bei anaphylaktischen Reaktionen von Bedeutung sind, beteiligt zu sein. So können die anaphylaktoiden Reaktionen beispielsweise durch Arzneistoffe, Lebensmittelzusatzstoffe, Berufsallergene und andere Chemikalien hervorgerufen werden.

Die Häufigkeit lebensbedrohlicher anaphylaktischer Reaktionen wird mit einer Inzidenz von etwa 10 auf 100000 Personen pro Jahr angegeben. In einer groß angelegten epidemiologischen Studie aus der Schweiz, in der 960000 Einwohner untersucht wurden, fand sich eine Inzidenz von 7,9-9,6 Fälle auf 100000 Einwohner pro Jahr [22]. Hierbei nahmen die Reaktionen auf Insektengiftallergien mit mehr als der Hälfte der Fälle den größten Stellenwert ein mit einer Inzidenz

von 5,5 auf 100000 Personen pro Jahr. Bienen- und Wespengiftallergien lagen in etwa zu gleichen Anteilen vor.

1.1.1 Pathomechanismus und Mediatoren anaphylaktischer Reaktionen

Der Begriff Anaphylaxie beschreibt klinisch einen akuten generalisierten Komplex von Symptomen, die sich an der Haut, dem Herz-Kreislauf-System, den Atemwegen oder dem Gastrointestinaltrakt manifestieren können. IgE-Antikörper spielen bei den immunologisch vermittelten Reaktionen als auslösende Faktoren eine entscheidende Rolle, wobei die Reaktion in drei Hauptschritte eingeteilt werden kann. Der erste Schritt ist die Immunantwort, d.h. die Bildung spezifischer IgE-Antikörper, die sich an basophile Leukozyten und Mastzellen anlagern. Nach einem erneuten Kontakt mit dem Antigen folgt im zweiten Schritt die Freisetzung vasoaktiver, chemotaktischer oder inflammatorischer Mediatoren wie Histamin oder Leukotriene aus diesen sensibilisierten Zellen. Der dritte Schritt umfasst die biologischen Effekte der freigesetzten Mediatoren auf verschiedene Zielorgane, beispielsweise auf das Herz-Kreislauf-System, mit Vasodilatation und Blutdruckabfall.

Die beim Menschen unterschiedlich ausgeprägten Schweregrade der anaphylaktischen Reaktionen sind u.a. durch die Anzahl zellgebundener IgE-Antikörper, die Allergenmenge, mit der das Individuum konfrontiert wurde, die Anwesenheit blockierender Antikörper, die Menge und das Verhältnis der freigesetzten Mediatoren, dem physiologischen Zustand der Zielorgane oder durch mögliche gegenregulatorische Mechanismen, erklärbar.

Die bisher identifizierten und charakterisierten Mediatoren der Anaphylaxie sind vielfältig und gehören chemisch unterschiedlichsten Stoffklassen an. Wichtige Mediatoren sind u.a. das Histamin, der neutrophil-chemotaktischer Faktor, der eosinophil-chemotaktischer Faktor und der plättchenaktivierender Faktor (PAF). Andere Mediatoren, die dem Arachidonsäure-Stoffwechsel entstammen, sind die Prostaglandine und die Leukotriene. Bradykinin und Serotonin sind ebenfalls als Mediatoren der Anaphylaxie identifiziert worden.

Eine der bekanntesten und am besten untersuchten Mediatorsubstanzen ist das biogene Amin Histamin. Durch mindestens zwei pharmakologisch und biologisch differenzierbare Rezeptoren werden die Histamin-Effekte vermittelt. Erregung der H₁-Rezeptoren führt zu Vasokonstriktion der Pulmonalgefäße, Kontraktion der Bronchial-, Darm- und Uterusmuskulatur,

Vasodilatation der Arteriolen sowie Erhöhung der Kapillarpermeabilität. Erregung der H₂-Rezeptoren führt zu einer Dilatation der Pulmonalgefäße, Tachykardie und Steigerung der Drüsensekretion in den Bronchien und im Magen.

Die Tryptase ist ein weiterer Mediator, der in letzter Zeit zunehmendes Interesse gefunden hat. Dieses Enzym ist eine Serin-Endoproteinase mit Trypsin-ähnlicher Aktivität, die in sekretorischen Granula menschlicher Mastzellen gefunden wurde [61]. Erhöhte Serumwerte sind sowohl bei Patienten mit Anaphylaxie als auch PAR gefunden worden [29]. Die Kinetik der Tryptase-Freisetzung unterscheidet sich deutlich von der des Histamins. Während Histamin 5-10 min nach dem Auftreten anaphylaktischer Symptome seinen höchsten Wert im Blut erreicht, ist das Maximum der Tryptase erst nach 1-2 Stunden erreicht [63].

1.1.2 Klassifikation der Schweregrade anaphylaktischer Reaktionen

Unabhängig vom auslösenden Agens und den zugrunde liegenden Mechanismen ist die Symptomatik der Anaphylaxie gekennzeichnet durch plötzlich auftretende Veränderungen der Funktion verschiedener, lebenswichtiger Organe. Die klinischen Zeichen einer Anaphylaxie können sehr schnell beginnen und breiten

sich dann rasch auf den gesamten Organismus aus. In der Beurteilung des Schweregrades der klinischen Symptomatik hat sich eine stufenweise Einteilung nach Ring und Messmer bewährt [57]. Beim ersten Schweregrad ist nur die Haut betroffen. Hier kommt es zu Juckreiz, Urtikaria und Flush. Beim zweiten Schweregrad kann es neben den Hautveränderungen zu Übelkeit, abdominellen Beschwerden, Tachykardie, Hypotonie, sowie zu einer Beteiligung des respiratorischen Apparates kommen, wie Rhinorrhoe, Heiserkeit und Dyspnoe. Im dritten Grad finden sich Zeichen des Schocks mit Erbrechen, sowie einem Larynxödems oder einem Bronchospasmus. Die schwerwiegendsten Reaktionen mit Atemstillstand und Herz-Kreislauf-Versagen werden als Schweregrad IV klassifiziert.

1.1.3 Diagnose und Therapie anaphylaktischer Reaktionen

In der akuten Phase ist die Diagnose einer anaphylaktischen bzw. anaphylaktoiden Reaktion aufgrund der klinischen Symptome meist einfach zu stellen. Dennoch sind andere Erkrankungen mit ähnlicher Symptomatik wie Synkopen, Lungenembolien, Bolusaspiration, Hypoglykämien, Hyperventilationen und vasovagale Reaktionen von echten anaphylaktischen Reaktionen abzugrenzen.

In der allergologischen Diagnostik einer anaphylaktischen

Reaktion kommen der Anamnese, der Haut-Testung, der In-vitro-Diagnostik und der Provokations-Testung eine große Bedeutung zu. Bei der In-vitro-Diagnostik steht die Messung antigenspezifischer IgE-Antikörper und die Bestimmung der Freisetzung von Histamin nach In-vitro-Inkubation von peripheren Leukozyten mit dem vermutlichen Allergen im Vordergrund. Ergeben die Anamnese, die Haut-Teste oder die In-vitro-Diagnostik keine eindeutige Aussage, so sollte ein Provokationstest durchgeführt werden. Dieser ist aber nur unter größten Vorsichtsmaßnahmen und unter notfallmedizinischen Bedingungen durchführbar, da immer mit dem Auftreten anaphylaktischer Reaktionen gerechnet werden muss.

Bei der anaphylaktischen Reaktion muss immer damit gerechnet werden, dass auch ein leichtes Erscheinungsbild sich zu einem schweren, lebensbedrohlichen Krankheitsbild entwickeln kann. Die Notfalltherapie stützt sich auf die rasche intravenöse Zufuhr von Volumen in Form von isotoner Salz- oder Elektrolyt-Lösungen, Antihistaminika und Glukokortikoiden. Ist die Situation damit nicht zu beherrschen, muss Adrenalin in einer Dosierung von 0,05 bis 0,1 mg intravenös appliziert werden [57]. Notfalls muss eine Reanimation und künstliche Beatmung eingeleitet werden. Entscheidend in der Notfalltherapie des anaphylaktischen Schocks ist das frühzeitige und

gezielte Handeln, um schwere Schäden zu vermeiden [32].

1.2 Hymenopteregift-Anaphylaxie

Die Insektengift-Allergien sind klinisch wichtig, da sie häufig in Form von anaphylaktischen Reaktionen in Erscheinung treten. Die wichtigsten Vertreter der Hymenopteregift-Allergien sind die Bienen- und Wespengift-Allergien. Auslöser dieser allergischen Reaktionen sind die Biene (*Apis mellifera*) und die verschiedenen Wespenarten (z.B. *Vespula germanica*).

Das Gift der Bienen und Wespen ist ein komplexes Gemisch zahlreicher Substanzen, die unterschiedlichen Stoffklassen angehören. Bienengift setzt sich zusammen aus niedermolekularen Substanzen wie Aminosäuren, Pheromonen, Phospholipiden und aus biologisch hochpotenten Substanzen wie Histamin, Noradrenalin und Dopamin. Des Weiteren sind Peptide mit einem Molekulargewicht von 1000 bis 5000 Bestandteil des Bienengiftes. Der mit ca. 50% mengenmäßig wichtigste Vertreter ist das basische Peptid Melittin. Außerdem sind im Bienengift Proteine mit meist enzymatischer Aktivität zu finden [52]. Als Hauptallergene konnten die Phospholipase A₂, Hyaluronidase und eine saure Phosphatase identifiziert werden. Wespengift ist in seiner Zusammensetzung dem

Bienengift sehr ähnlich. Anstelle des Peptids Melittin finden sich Kinine und das sogenannte Mastorpan, ein Mastzellen degranulierendes Peptid. Auch hier konnten als Hauptallergene die Phospholipase A + B, Hyaluronidase und ein bisher noch wenig charakterisiertes Protein mit einem MG von 25000, das Antigen 5, nachgewiesen werden.

1.2.1 Epidemiologie, Klinische Symptomatik, Diagnostik und Therapie

Die Insektengift-Allergien stellen einen hohen Prozentsatz der anaphylaktischen Reaktionen dar. So kam Klauw et al. in einer Fall-Kohorten-Studie zu dem Ergebnis, dass bei fast 50% der Patienten die zur Einweisung führende Anaphylaxie durch Insektengifte verursacht worden waren [80]. Es wird geschätzt, dass in Deutschland jährlich ca. 10 Menschen an den Folgen eines Insektenstiches sterben. Epidemiologische Untersuchungen zeigen, dass die Insektengift-Allergie mit systemischen Allgemeinreaktionen in den vergangenen Jahrzehnten zugenommen hat. In Untersuchungen im Jahre 1970 wurde die Häufigkeit von Allgemeinreaktionen mit 0,4% angegeben, während aber 1982 bereits eine Häufigkeit von 4% gefunden wurde [20;65].

Bei den Wirkungen der Insektengifte ist zwischen einer direkt toxischen und einer allergischen Reaktion zu unterscheiden, wobei es meist zu einer gemischten Reaktion kommt. Die systemischen Reaktionen auf Bienen- und Wespenstiche sind jedoch meist durch allergische Reaktionen charakterisiert. Bereits 1914 haben Waterhouse und Oxon die systemischen Reaktionen bei Bienen- und Wespenstichen auf eine allergische Überreaktion zurückgeführt [81].

Die toxischen Effekte jedoch sind streng dosisabhängig. Die toxische Wirkung der Hymenoptereingifte tritt meist in Form einer juckenden und geröteten Papel in Erscheinung, die charakteristischer Weise innerhalb von Stunden verschwindet. Mit systemischen Auswirkungen ist bei mehr als 50 Stichen zu rechnen, die tödliche Dosis beim Erwachsenen dürfte bei mehreren 100 bis 1000 Stichen liegen [56]. Die toxikologischen Effekte können sich am ZNS mit Grand-Mal Anfällen, dem Herz-Kreislauf-System mit Arrhythmien, Hypotonie und Schock, am Magen-Darm-Trakt mit Krämpfen und Diarrhö und infolge von Hämolyse durch Nierenversagen manifestieren. Ausgelöst werden diese Reaktionen durch die zytotoxische Wirkung des Melittin, Apamin und der Kinine.

Die allergische Wirkung nach Bienen- und Wespenstichen sind nicht dosisabhängig und sind typische Beispiele für eine IgE-vermittelte Reaktion. Sie werden durch gift-spezifische Antigene wie Phospholipase, Hyaluronidase, Antigen 5 und saure Phosphatase ausgelöst. Die klinische Symptomatik einer Anaphylaxie durch Bienen- und Wespenstiche ist ebenso vielfältig und umfasst die charakteristischen Symptome einer Anaphylaxie. Die Schwere der Symptomatik ist abhängig von der Lokalisation des Stiches, Anzahl der vorausgegangen Stiche, dem Zeitintervall zu einem vorherigen Stich, sowie dem Alter und der Konstitution des Patienten.

Die Diagnostik der Bienen- und Wespengift-Allergie stützt sich, wie die Allergiediagnostik im Allgemeinen, im Wesentlichen auf die Anamnese, Hautteste und In-vitro-Teste. Ziel ist es, den Schweregrad der klinischen Symptomatik, die Zeitdauer der Reaktion und das verantwortliche Insekt zu identifizieren [29].

Die Anamnese konzentriert sich auf Symptomatik, zeitlichem Ablauf und Lokalisation von Stich und Reaktion. Durch Abgrenzung der lokal-toxischen Reaktion des Stiches, erfolgt eine Einteilung in die anamnestischen Schweregrade I-IV der anaphylaktischen Reaktion nach Ring und Messmer [57]. Wenn möglich sollte durch die Anamnese die Art des Insektes geklärt werden. Zudem sollte erfragt werden, ob und welche therapeutischen Maßnahmen eingeleitet

wurden. Wichtig ist besonders die Frage, ob eine besondere Gefährdung des Patienten durch weitere Stiche besteht. In der Eigenanamnese sind ferner Vorerkrankungen, sowie eventuelle Medikamenteneinnahmen wichtig. Insbesondere sollte nach der Einnahme von Beta-Blockern und ACE-Hemmern gefragt werden.

Hautteste in Form von Prick- oder Intrakutantestung mit Insektengift sind anzuschließen, da Hautteste die diagnostischen Hilfsmittel der ersten Wahl, bei der Frage nach allergischen Reaktionen vom Soforttyp auf Bienen- oder Wespengift, sind. Man unterscheidet zwei Verfahren. Im Prick-Test werden durch Anritzen der Haut Bienen- oder Wespengift in ansteigender Konzentration verabreicht und bei der intrakutanen Injektion wird das Gift streng intrakutan gespritzt. Nach 15 min wird die Größe der Quaddel mit umgebendem Erythem gegen eine Histamin- und Kochsalz-Kontrolle bestimmt. Größte Vorsicht ist bei schweren Reaktionen in der Anamnese geboten, da schon ein Haut-Test unter Umständen systemische, anaphylaktische Reaktionen auslösen kann [56].

In den meisten Fällen wird zusätzlich ein Prick-Test mit Allergenen von Milben, Katzenepithelien und Gräserpollen als Atopiescreening angeschlossen. Durch diese Zusatzuntersuchungen können die übrigen Testergebnisse besser beurteilt werden, da bei positivem

Prick-Test gegen Umweltallergene mit einer höheren Reagibilität in Haut- und Radioallergosorbentest (RAST) zu rechnen ist.

Die In-vitro-Diagnostik besteht routinemäßig aus der Bestimmung der spezifischen IgE-Antikörper gegen Hymenopterengifte. Bei Unsicherheiten bezüglich Diagnose und Therapieindikation werden zusätzlich das spezifische IgG, sowie das Gesamt IgE bestimmt. Zusätzlich kann die Freisetzung von Histamin aus basophilen Leukozyten nach In-vitro-Inkubation mit Bienen- oder Wespengift als diagnostisches Kriterium herangezogen werden. Ebenfalls werden zur Diagnose der Insektengiftallergie, insbesondere in unklaren Fällen, so genannte Basophilen-Aktivierungstests eingesetzt [13]. Die Anzahl der zur Verfügung stehenden Teste, sowie die Anamnese lassen jedoch auch derzeit nicht zu, den Schweregrad der klinischen Symptomatik bei einem erneuten Insektenstich vorherzusagen. Zudem konnte bislang keine überzeugende Korrelation zwischen dem Schweregrad der Symptomatik und dem Ausmaß der immunologischen Sensibilisierung, gemessen im Hauttest, Antikörpernachweis im Serum oder der In-vitro-Freisetzbarkeit von Histamin gefunden werden [29].

Bei der Insektengift-Allergie kann leider keine konsequente Allergenkenz, wie dies z.T. bei anderen Allergien der Fall ist,

durchgeführt werden. Daher werden die gefährdeten Patienten mit einem Notfallset versorgt, in dem ein Antihistaminikum, eine Steroidlösung, sowie ein Adrenalin-Dosieraerosol enthalten sind. Patienten mit Hymenopteren-Allergie, die mit Beta-Blockern behandelt sind, müssen auf ein anderes Medikament umgestellt werden, da sich gezeigt hat, dass diese häufiger schwere systemische Allgemeinreaktionen zeigten und gegen Katecholamine therapierefraktär waren.

Die spezifische Hyposensibilisierung ist bei der Hymenopteren-Allergie mit nachgewiesenem IgE-vermitteltem Reaktionsmechanismus als kausale Therapie der Wahl anzusehen. Hunt und Mitarbeiter konnten 1978 die überlegene Wirkung bei Hyposensibilisierung mit Insektengiftextrakten in einer doppelblinden Studie aufzeigen [30]. Die Immuntherapie soll nach dem derzeitigen Stand durch die „American Academy of Allergy, Asthma and Immunology“ für eine Dauer von drei bis fünf Jahren durchgeführt werden [41]. Die Dauer der Immuntherapie sollte jedoch für jeden Patienten individuell entschieden werden [17].

Die spezifische Hyposensibilisierung sollte nicht bei chronischen Infekten, Autoimmunerkrankungen, sekundären Schäden des Reaktionsorgans (z.B. Lungenemphysem), sowie der Therapie mit Beta-Blockern erfolgen. Nebenwirkungen sind bei der spezifischen

Hyposensibilisierung selten und werden durch Fokalinfekte, einer Mastozytose oder Funktionsstörungen der Schilddrüse begünstigt [42;59]. Es bleibt in diesem Zusammenhang noch anzumerken, dass neben der Hyposensibilisierung, therapeutisch eine verminderte Freisetzung der Tryptase, einem wichtigen Mediator der Anaphylaxie, auch durch eine UV-A Bestrahlung erreicht werden könnte [33;34].

1.3 Das Renin-Angiotensin-System

Die Regulation der Herz-Kreislauf-Funktion ist ein komplexes Netzwerk aus humoralen, metabolischen, neuronalen und myogenen Faktoren. Dieses Zusammenspiel ist für eine Aufrechterhaltung und konstante Einstellung der Herz-Kreislauf-Funktion unabdingbar. Hierbei kommt dem Renin-Angiotensin-System (RAS) eine wichtige Aufgabe zu.

Die Bedeutung des Renins als Blutdruck regulierende Größe wurde erstmals von Tigerstedt und Bergman beschrieben, die das Renin aus der Niere isolierten und Auswirkungen auf den Blutdruck darstellen konnten [73]. Im nachfolgenden gelang es Skeggs und Mitarbeitern im Jahre 1954 und 1956 die Angiotensinpeptide und das

Angiotensin konvertierende Enzym (ACE) zu beschreiben [67;68].

Das Enzym Renin wird im juxtaglomerulären Apparat der Niere gebildet. Renin spaltet von dem in der Leber gebildeten Glykoprotein Angiotensinogen das Dekapeptid Angiotensin I (ANG I) ab. ANG I ist selbst nicht biologisch aktiv und bedarf zu seiner Aktivierung des Angiotensin-Converting-Enzyms (ACE). Dies spaltet am C-terminalen Ende des ANG I das Dipeptid His-Leu ab und es entsteht das wirksame Peptid Angiotensin II (ANG II). ANG II ist die aktive Komponente des RAS. Es stimuliert die Synthese und Freisetzung von Aldosteron aus der Nebenniere und wirkt zudem stark vasokonstriktorisch [45].

Ein Zusammenhang zwischen dem RAS und der Bienen- und Wespengift-Allergie konnte von Hermann et al. gezeigt werden [27;28]. Patienten mit Hymenoptereingift-Anaphylaxie zeigten signifikant niedrigere Werte im RAS als nichtallergische Kontrollpersonen. So konnte ein erniedrigter Spiegel für ANG-I, ANG-II, Angiotensinogen und Renin bei den Patienten mit Hymenopteren-Anaphylaxie gezeigt werden. Es bestand eine signifikant inverse Korrelation zwischen dem Schweregrad der klinischen Symptomatik und den Plasma-Werten des ANG I und ANG II, d.h. je schwerwiegender die Symptome, desto niedriger die

Werte des ANG I und ANG II. Dieselbe Korrelation fand sich ebenfalls für die Plasma-Renin-Aktivität und die Plasma-Angiotensinogen-Konzentration. Somit scheint erstmals ein Laborparameter gefunden worden zu sein, der mit dem Schweregrad der klinischen Symptomatik korrelierte.

1.4 Fragestellung

Die Untersuchungsergebnisse von Hauttesten, In-vitro- Testen und Anamnese korrelieren bei den Insektengiftallergikern manchmal nicht miteinander [7;49;51;64]. Aus diesem Grunde ist die Frage der Indikation zur Hyposensibilisierung bei der Insektengift-Allergie in manchen Fällen nur unzureichend zu beantworten.

Hymenoptereingift-Allergiker haben bei einem erneuten Stich ein Wiederholungsrisiko einer anaphylaktischen Reaktion von 56% [54]. Aus diesem Grund sollte nach Przybilla et al. jeder Patient mit einer IgE-vermittelten Anaphylaxie gegen Insektengifte nach Ausschluss von Kontraindikationen hyposensibilisiert werden [50].

Der Wirkmechanismus der Immuntherapie und die Auswirkungen auf den Patienten sind nicht vollständig geklärt und werden unterschiedlich diskutiert [4;19;39;58;75]. Möglicherweise spielen bei der Hymenopteren-Anaphylaxie weitere, nichtimmunologische Faktoren eine wichtige Rolle. Da eine Vielzahl der Patienten mit Herz-Kreislauf-Symptomen reagieren, könnte eine Störung in den

gegenregulierenden Faktoren der Herz-Kreislauf-Funktion vorliegen. Ein biologisch aktives System, das für eine normale und geregelte Funktion des Herz-Kreislauf-Systems, insbesondere des Blutdruckes verantwortlich ist, ist das RAS.

Hermann und Ring fanden bei nicht hyposensibilisierten Hymenoptereingift-Allergikern pathologische Veränderungen in diesem System, die sich in einer signifikanten Erniedrigung der Plasmaspiegel für ANG I und ANG II äußerten [26].

Die Auswirkungen und Veränderungen auf das RAS durch die Hyposensibilisierung sind bisher nicht untersucht worden. Dies könnte jedoch von wichtiger klinischer Relevanz sein, da möglicherweise die Parameter des RAS zur Erfolgskontrolle einer Hyposensibilisierung herangezogen werden können.

Mit dieser Arbeit sollten nun die Auswirkungen auf das RAS nach Hyposensibilisierung bei Bienen- und Wespengift-Allergikern eingehend untersucht werden. Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag deshalb bei folgenden Fragen:

Inwieweit ist das RAS bei Patienten nach abgeschlossener Hyposensibilisierung gegenüber Normalpersonen verändert? Wie verhält sich das RAS unter Stichprovokation? Korreliert das RAS unter Stichprovokation mit der klinischen Reaktion und den Mediatoren der Anaphylaxie im Serum und den Leukozyten

(Histamin und Tryptase)?

2. Material und Methoden:

2.1 Kontrollpersonen und Patienten

Die Gruppe der Kontrollpersonen bestand aus 20 freiwilligen und gesunden Probanden, 13 Frauen und 7 Männer. Das Durchschnittsalter betrug 36,1 +/- 9,4 Jahre. Der jüngste Proband war 23, der älteste 53 Jahre alt. Die Probanden hatten weder kardiovaskuläre Erkrankungen, noch standen sie unter einer kardiovaskulären, medikamentösen Therapie.

Die Patientengruppe bestand aus 36 Personen. Die 14 Frauen und 22 Männer hatten ein Durchschnittsalter von 47,9 +/- 13,1 Jahren. Der jüngste Patient war 22, der älteste 72 Jahre alt. Bei allen Patienten lag anamnestisch eine Insektengift-Allergie vor, die nach Ring und Meßmer [57] den entsprechenden anamnestischen Schweregraden zugeteilt wurden. Nach dieser Einteilung hatten 2 Patienten eine Reaktion des Schweregrad I, 27 Patienten eine Reaktion des Grad II und 7 Patienten eine Reaktion Grad III. Nach Anamnese, Durchführung einer Hauttestung in Form eines Pricktests oder Intrakutantestes mit Reless Bienen- oder Wespengift (Scherax, Hamburg), sowie Bestimmung des spezifischen Serum-IgE gegen Bienen- und Wespengift mit dem RAST (Pharmacia, Freiburg),

wurden bei 10 Patienten eine Bienengift-Allergie, bei 15 Patienten eine Wespengift-Allergie und bei 11 Patienten eine Allergie sowohl gegen Bienen- als auch Wespengift diagnostiziert.

2.2 Hyposensibilisierung und Stichprovokation

Eine Schnellhyposensibilisierung innerhalb von fünf Tagen wurde unter stationären Bedingungen durchgeführt. Zur Immuntherapie wurde Reless Bienen- oder Wespengift (Scherax, Hamburg) verwendet. Den Patienten wurde das Bienen- oder Wespengift subkutan abwechselnd in den rechten oder linken Oberarm injiziert. Beginnend mit 0,001 µg / Tag Insektengift wurde die Dosis in den folgenden Tagen bis auf 100 µg / Tag gesteigert. Mit einer Erhaltungsdosis von 100 µg wurde die Immuntherapie zunächst zweimal im Abstand von einer Woche, dann zweimal nach jeweils zwei Wochen, zweimal nach je drei Wochen und dann im Abstand von jeweils vier Wochen durchgeführt. Bei den Patienten, die unter 100 µg Insektengift noch deutliche lokale Reaktionen zeigten, wurde die Dosis auf 200, bzw. 300 µg Insektengift erhöht.

Bei der Stichprovokation wurden 17 Patienten einem Bienenstich und 19 Patienten einem Wespenstich unter Anästhesiebereitschaft ausgesetzt. Die durchschnittliche Zeit zwischen Beginn der

Hyposensibilisierung und der Stichprovokation betrug $2,3 \pm 2,1$ Jahre. Anamnestisch lag der letzte Bienen- oder Wespenstich im Durchschnitt $2,9 \pm 2,5$ Jahre zurück.

2.3 Gewinnung von Leukozyten und Plasma

Allen Patienten wurde vor der Stichprovokation Blut abgenommen. Die weiteren Blutabnahmen erfolgten jeweils 15 min, 1 h, 3 h und 18 h nach erfolgtem Bienen- oder Wespenstich. Die Blutabnahme erfolgte nach einer standardisierten Prozedur in ruhiger und entspannter Umgebung, soweit dies unter der Stichprovokation möglich war, wie von Hermann et al. beschrieben [24].

Zur Bestimmung des ANG II, des Histamins und der Tryptase wurden 20 ml Blut in Gegenwart von 1 ml einer Peptidaseinhibitorlösung (125 mMol EDTA, 25 mMol o-Phenanthrolin in 0,9% NaCl) entnommen. Weitere 20 ml Blut wurden in mit Heparin versehenen Röhrchen zur Bestimmung des ANG II und des Histamins in den Leukozyten abgenommen. Das erste Röhrchen, das zur Gewinnung von Plasma diente, wurde direkt nach Abnahme für 10 Minuten bei 6000 g und 4°C zentrifugiert. Aus dem Überstand wurde 4 ml Plasma für die Bestimmung des ANG II und 0,5 ml Plasma für die Bestimmung des Histamins, sowie 0,5 ml Plasma zur

Tryptasebestimmung in neue Röhrchen überführt und bis zur Weiterverarbeitung bei -20°C gelagert.

Das verbliebene Röhrchen mit 20 ml Heparinblut wurde einem Separationsvorgang unterzogen, um die Leukozyten von den übrigen Blutbestandteilen zu trennen. Das in der Spritze belassene Blut wurde mit 5-10 ml 6%-iger Dextranlösung aufgeschwemmt und senkrecht in der Spritze für 90 Minuten stehen gelassen. Nach dem Sedimentieren der Erythrozyten wurde der Überstand in neue Röhrchen überführt und bei Raumtemperatur für 10 min bei $185 \times g$ zentrifugiert. Nach Verwerfung des Überstandes wurde dem Pellet 5 ml Aqua dest. für 10 sek. hinzugegeben, um die Zellen in einen „hypotonen Schock“ zu versetzen. Durch diesen Schritt sollen die verbliebenen Erythrozyten lysiert werden. Anschließend wurde durch Zugabe der gleichen Menge 1,8%-iger NaCl-Lösung die Zellen in ein isotones Medium überführt. Die Probe wurde durch dreimaliges aufnehmen in sterilem NaCl, zentrifugieren und Verwerfung des Überstandes weiter gewaschen. Nach der letzten Zentrifugation wurde das Zellpellet bis zur Extraktion bei -20°C aufrecht eingefroren.

2.4 Plasmatisches Renin-Angiotensin-System

Angiotensin II

Für die Extraktion des ANG II wurden 4 ml Plasma mit 4 ml einer Lösung aus Azeton, Wasser und 1 N Salzsäure (40:10:1) zugesetzt. Die Proben wurden nach Durchmischung für 10 min bei 6000 x g und 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde in neue Röhrchen überführt, deren Deckel durchlöchert waren. Mittels einer Vakuumzentrifuge wurde der Extrakt getrocknet und bis zur Bestimmung des ANG II bei -20°C gelagert. Die radioimmunologische Messung von ANG II im Plasma wurde nach der Methode von Hermann et al. [25] durchgeführt. Der Radioimmunoassay (RIA) wurde auf der Grundlage einer kompetitiven Antikörperbindung und Trennung durch Kohle durchgeführt (Abb.1).

Zur Durchführung des RIAs wurde radioaktiv markiertes ¹²⁵I-ANG II mit einer spezifischen Aktivität von 2200 µmol/ml eingesetzt, das in Aliquots von 50 µl bei -20°C aufbewahrt wurde. Standardlösungen mit einer Konzentration von 0,956 mmol Ile⁵-ANG II/ml wurden zur Bestimmung einer Standardkurve mitgeführt. Durch eine Serienverdünnung umfasste die Standardkurve einen Bereich von 0,9 – 5000 fmol. Das aus Kaninchen stammende Antiserum gegen Ile⁵-ANG II hatte eine Endverdünnung von 1:200 000 mit einer 50%-

igen Antikörperbindung von 10 fmol ANG II. Zur Verdünnung der Antiseren, der radioaktiv markierten Peptide und der Standards, sowie für den Volumenausgleich im Testansatz wurde ein RIA-Puffer verwendet. Dieser bestand aus 0,05 M TRIZMA-Puffer (pH 7,2) mit einem Anteil von 0,01% NaN_3 und von 0,1% Rinderalbumin.

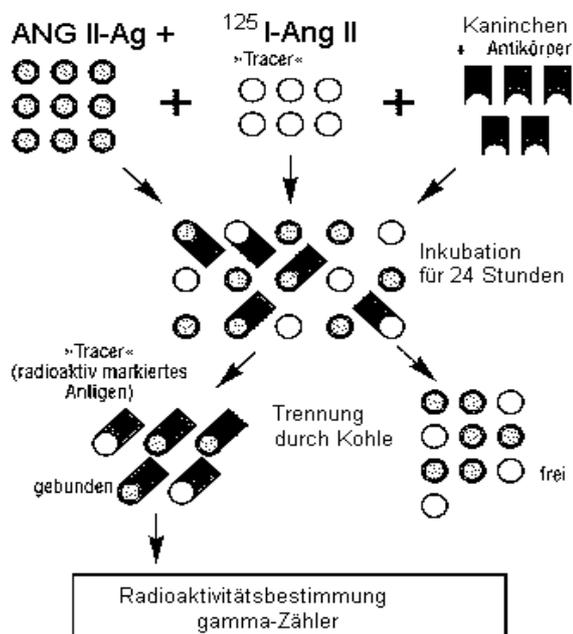


Abb.1: Schema des ANG-II Radioimmunoassay auf Grundlage einer kompetitiven Antikörperbindung und Trennung durch Kohle.

Die getrockneten Proben wurden in jeweils 1 ml 0,05 M TRIZMA-Puffer (pH 7,2) aufgenommen und für 30-60 Minuten gelöst. Nach Überführung in Eppendorf-Röhrchen wurden die Plasma-Extrakte für 2 min bei 15000 x g zentrifugiert. Aus dem Überstand wurden 200 μl

entnommen und mit 200 µl RIA-Puffer vermischt. Nun wurden je 50 µl ¹²⁵I-ANG II und Anti-ANG-II-Serum hinzugegeben. Die Proben wurden auf dem Schüttler gemischt und bei 4°C 24 Stunden abgedeckt inkubiert. Anschließend wurde den Ansätzen 200 µl Trennpuffer (100 ml TRIZMA-Puffer pH 7,2 mit 0,25 g Dextran T 70 und 1 g Norit A Kohle) zugesetzt. Nach Durchmischung wurden die Röhrchen bei 6000 x g für 15 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Im klaren Überstand wurde die Radioaktivität im Gammazähler bestimmt. Die Nachweisgrenze des RIAs lag bei 1,0 fmol pro Probe. Die Ergebnisse wurden in fmol ANG II / ml Plasma ausgedrückt.

2.5 Lokales Renin-Angiotensin-System

ANG II in den Leukozyten

Die ANG II wurde aus den separierten und gewaschenen Leukozyten extrahiert, indem 5 ml einer Mischung aus Aceton, Wasser und 1 N Salzsäure (Verhältnis 40:10:1) hinzugegeben wurde und der Inhalt der Röhrchen 10 Sekunden lang Ultraschall ausgesetzt wurde. Die Proben wurden anschließend 10 Minuten lang bei 3000 x g und 4°C zentrifugiert, der Überstand in neue Röhrchen überführt und der Extrakt wurde mittels Vakuumzentrifuge getrocknet. Die Proben wurden bis zur radioaktiven Bestimmung des ANG II bei -20°C

eingefroren. Die Röhrchen mit dem Zellrückstand wurden solange stehen gelassen, bis sich das Azeton verflüchtigt hatte und wurden anschließend bis zur Proteinbestimmung bei -20°C eingefroren.

Die Messung des Proteingehaltes der extrahierten Leukozyten erfolgte wie folgt: Die Zellreste wurden in 1 ml 0,1 N Natronlauge gelöst. Die Proben wurden in neue Eppendorf-Röhrchen überführt und 3 Minuten bei 6000 x g zentrifugiert. Eine Standardreihe mit Rinderserumalbumin (BSA) in einem Konzentrationsbereich zwischen 0 und 100 μg wurde mitgeführt. Für die Testreihe wurde 50 μl der Proben mit 50 μl Wasser und 50 μl der Standards mit 50 μl 0,1 N NaOH zur Volumen und pH-Anpassung versehen. Nach Zugabe des Coomassie Reagenz wurden die Proben in Küvetten überführt und die Extinktion im Photometer bei 570 nm bestimmt.

Die Ergebnisse aus dieser Messreihe wurden in mg Protein angegeben. Nach Hermann et al. entsprechen bei dieser Methode 0,033 mg Protein 1.000.000 Leukozyten [23]. Die Leukozytenextrakte wurden für die radioimmunologische Bestimmung des ANG II ebenfalls in 1 ml 0,05 M TRIZMA-Puffer (pH 7,2) für etwa 60 Minuten gelöst und in Eppendorfcups bei 10.000 x g für 2 Minuten zentrifugiert. Aus dieser Probe wurden 400 μl in die bei 2.5.1 beschriebene Versuchsanordnung des RIAs für ANG II eingesetzt. Die Ergebnisse sind in fmol ANG II / mg Protein angegeben.

2.6 Mediatoren der Anaphylaxie im Plasma

2.6.1 Tryptase

Die Tryptase im Plasma wurde radioimmunologisch unter Verwendung des Tryptase RIA-Testkits (Pharmacia, Freiburg) bestimmt. In die mit Tryptaseantikörpern beschichteten Testgefäße wurden die Standardreihe mit Konzentrationen zwischen 50 und 2 U/l, sowie die Plasmaproben pipettiert. Hierzu wurden 50 µl der Proben mit 50 µl Puffer und radioaktiv markiertem ¹²⁵J-Tryptase-Antikörper versehen. Der Ansatz wurde abgedeckt bei Raumtemperatur für 16-18 Stunden inkubiert. Im Anschluss wurden die Proben dreimal mit je 2 ml NaCl gewaschen, wobei die wässrige Phase jeweils abgesaugt und verworfen wurde. Die Radioaktivität der gebundenen Phase wurde anschließend im Gammazähler gemessen.

Die Ergebnisse wurden in U Tryptase / l ausgedrückt, wobei 1 U als 1 µg Tryptase zu verstehen sind. Die Nachweisgrenze der Tryptase lag bei 0,5 U/l.

2.6.2 Histamin

Die Messung des Histamins im Plasma wurde radioimmunologisch unter Verwendung eines kommerziellen Kits der Firma Immuno Biological Laboratories, Hamburg, durchgeführt. In diesem Ansatz wurden 100 µl Proben, bzw. Standards mit Konzentrationen von 100 bis 0,3 ng / ml in die mit einem Acylierungsreagenz beschichteten Teströhrchen gegeben. Nach Zugabe von 50 µl Puffer wurde der Ansatz 30 Minuten stehen gelassen. Histamin wird durch diesen Schritt in N-Acylhistamin umgewandelt. Im Anschluss wurden 50 µl ¹²⁵I-Histamin und 50 µl Kaninchenantikörper gegen N-Acylhistamin den Proben zugefügt, gemischt und über Nacht bei 6°C inkubiert. Dann wurde 1 ml eines zweiten Antikörpers hinzugegeben und für 15 Minuten inkubiert. Das Präzipitat wurde für 15 Minuten bei 2000 x g zentrifugiert. Die Radioaktivität der festen gebundenen Phase wurde im Gammazähler bestimmt.

Die Resultate wurden in ng Histamin / ml angegeben, die Nachweisgrenze lag bei 0,05 ng / ml.

2.7. Statistik

Alle Ergebnisse sind als arithmetische Mittelwerte +/- SEM angegeben. Unterschiede zwischen Gruppen wurden zur Auswertung dem Mann-Whitney-Test unterzogen. Zusätzlich wurden für die Werte der Verlaufsbeobachtung die univariante ANOVA-Analyse durchgeführt.

2.8. Materialien

2.8.1 Laborgeräte

Gerät	Bezeichnung	Hersteller	Ort
Gammazähler	Berthold LB 2103	Berthold	Pforzheim, D
Pipetten	Pasteur	Greiner	Frickenhausen, D
	Eppendorf Multipipette	Eppendorf	Hamburg, D
Photometer	Dynatech RR 5000	Biermann	Bad Nauheim, D
Vakuumzentrifuge	Univapo 150 H	Uniequip	Martinsried, D
Vortexer	Vortex Genie 2	Bender&Hob	Zürich, CH
Zentrifuge	Hettich Rotixa	Hettich	Tuttlingen, D
	Hermle Z-230 M	Hermle AG	Gosheim
	Heraeus Biofuge	Kendro Prod.	Langenselbold

2.8.2 Laborzubehör

Artikel	Bezeichnung	Hersteller	Ort
Nadeln	Perfusionsbesteck	Labomed	Ripalta, Cremasca,
Pipettenspitzen	Eppendorf	Eppendorf	Hamburg, D
Röhrchen	1,5 ml	Eppendorf	Hamburg, D
	15 ml	Beckton-Dickinson	Heidelberg, D
	50 ml	Beckton-Dickinson	Heidelberg, D
Spritze	20 ml	Braun	Melsungen, D
Nadelbesteck	Butterfly 21 G	Kabe Labortechnik	Nümbrecht, D

2.8.3 Reagenzien

Reagenz	Hersteller	Ort
Wasser für HPLC	Zinsser	Frankfurt, D
Azeton	Merck	Darmstadt
Coomassie Plus Protein Assay	Pierce	Rockford, IL, USA
Isotone Kochsalzlösung	Pharmacia GmbH	Erlangen, D
Macrodex 6%	Pharma Reusch GmbH	Bonn, D
Natriumazid	Merck	Darmstadt, D
Natriumchloridlösung 1,8 %	Hausapotheke	München, D
Natriumhydroxid (1 N NaOH)	Merck	Darmstadt, D
Norit A Kohle	Serva	Heidelberg, D
o-Phenanthrolin Monohydrat	Merck	Darmstadt, D
Reless-Bienengift	Scherax	Hamburg, D
Reless-Wespengift	Scherax	Hamburg, D
Rinderserumalbumin (BSA)	Sigma	Deisenhofen, D
Salzsäure (1 N HCl)	Merck	Darmstadt
TRIZMA pH 7,2	Sigma	Deisenhofen, D

2.8.4 RIAs

Antiserum gegen ANG II	Dr. Phillips, University of Florida	Gainesville USA
Ile5-ANG-II	Sigma	Deisenhofen, D
¹²⁵ I-ANG II	Amersham Buchler	Heidelberg, D
Histamin RIA Amicyl-Test	IBL	Hamburg, D
Tryptase CAP	Pharmacia	Erlangen, D

3. Ergebnisse

3.1. Geschlechts- und Altersverteilung der Patienten

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 36 Patienten mit nachgewiesener Hymenoptereingift-Allergie untersucht. Davon waren 14 (39%) Frauen und 22 (61%) Männer. Das Durchschnittsalter des

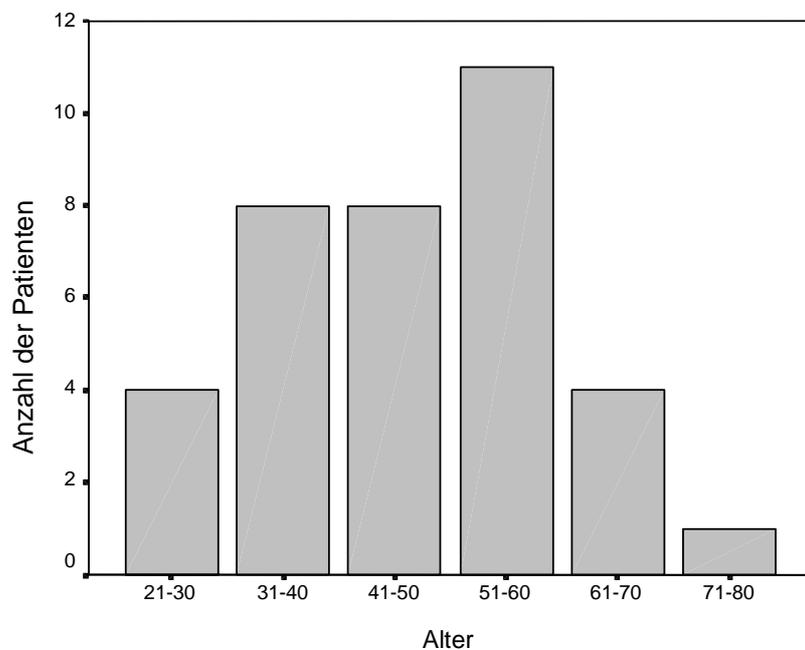


Abb. 3.1: Altersverteilung der Patienten, eingeteilt in Gruppen zu jeweils 10 Jahren

Patientenkollektivs betrug 47,9 +/- 2,2 Jahre. Dabei stellten die Patienten im Alter zwischen 50 und 60 Jahren zahlenmäßig den höchsten Anteil dar (n=11), gefolgt von den Patienten mit 30-40 (n=8), bzw. 40-50 Jahren (n=8). Einen deutlich geringeren Anteil

stellten junge Patienten zwischen 20 und 30 Jahren (n=4), bzw. ältere Patienten zwischen 60 und 70 Jahren (n=4). Nur ein Patient fiel in die Altersgruppe zwischen 70 und 80 Jahren (Abb.3.1).

Bei allen Patienten wurde eine Hyposensibilisierung entweder mit Bienengift (n=10), mit Wespengift (n=15) oder beiden Giften (n=11) durchgeführt. Die durchschnittliche Hyposensibilisierungsdauer betrug 2,3 +/- 0,4 Jahre.

Die Stichprovokation wurde bei 17 Patienten (47%) mit einer Biene und bei den anderen 19 (53%) mit einer Wespe durchgeführt. Von den 36 Patienten zeigten lediglich 2 Patienten eine systemische Reaktion auf die Stichprovokation (5,6 %). Bei beiden Patienten wurde die Reaktion durch einen Wespenstich verursacht. Ein Patient zeigte eine Reaktion Grad I, der andere eine Reaktion Grad II.

Als Vertreter der Mediatoren der Anaphylaxie wurden bei Kontrollpersonen und Patienten die Konzentrationen von Histamin und Tryptase im Plasma bestimmt.

3.2 Histamin im Plasma als Mediatoren der Anaphylaxie

Histamin im Plasma wurde bei den Patienten vor Stichprovokation, sowie 15 Minuten, 1, 3 und 18 Stunden nach erfolgtem Stich bestimmt. Fünfzehn Minuten nach dem Stich zeigte sich bei den

Patienten ein leicht erhöhter Spiegel für Histamin im Plasma ($1,21 \pm 0,52$ im Vergleich zu $0,69 \pm 0,09$ ng/ml als Wert vor Stich). Nach einer Stunde näherten sich die Histaminkonzentrationen im Plasma den Werten vor der Stichprovokation ($0,87 \pm 0,18$ ng/ml) und zeigten im weiteren Verlauf keine wesentlichen Änderungen (Abb.3.2).

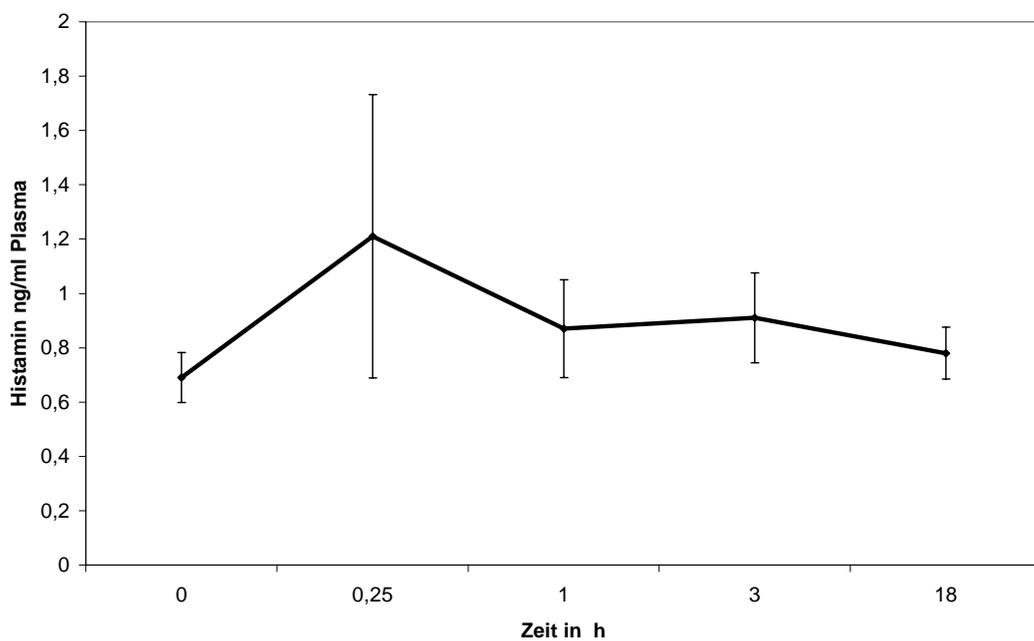


Abb. 3.2: Histamin im Plasma vor und nach Stichprovokation bei 36 Patienten.

Der Histaminanstieg nach 15 Minuten war durch einen Patienten bedingt, dessen Histaminspiegel auf das 20-zig fache ($18,9$ ng/ml) 15 Minuten nach Stichprovokation anstieg. Klinisch zeigte dieser Patient jedoch keine systemische Reaktionen auf den Stich.

Histamin im Plasma wurde im Hinblick auf die anamnestisch eruierten Schweregrade der anaphylaktischen Reaktion getrennt untersucht.

Bei den 2 Patienten mit anamnestischen Schweregrad I Reaktionen fanden sich doppelt so hohe Histaminwerte im Plasma, als bei den Patienten mit anamnestisch eruibaren, schwerwiegenderen

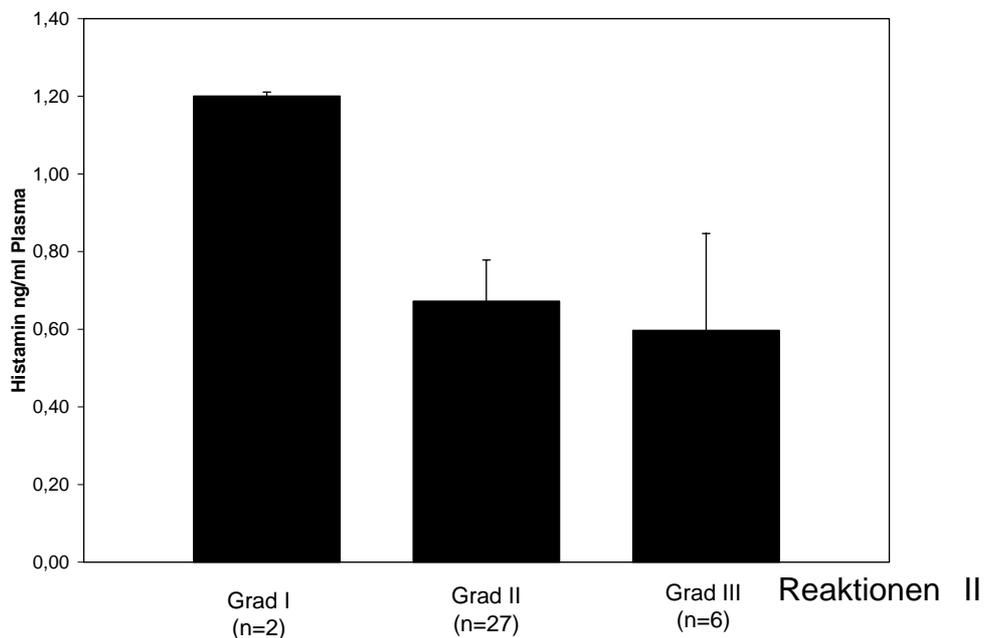


Abb. 3.3: Histamin im Plasma vor Stichprovokation aufgeteilt in die anamnestisch erhobenen Schweregrade der Stichreaktion.

bzw. III (Grad I: $1,2 \pm 0,01$ ng/ml, $n=2$; Grad II: $0,67 \pm 0,11$ ng/ml, $n= 27$; Grad III: $0,60 \pm 0,25$ ng/ml, $n=6$). Aufgrund der geringen Fallzahl in der ersten Gruppe ($n=2$), sowie der individuellen Schwankungen war dieser Unterschied nicht signifikant (Abb.3.3).

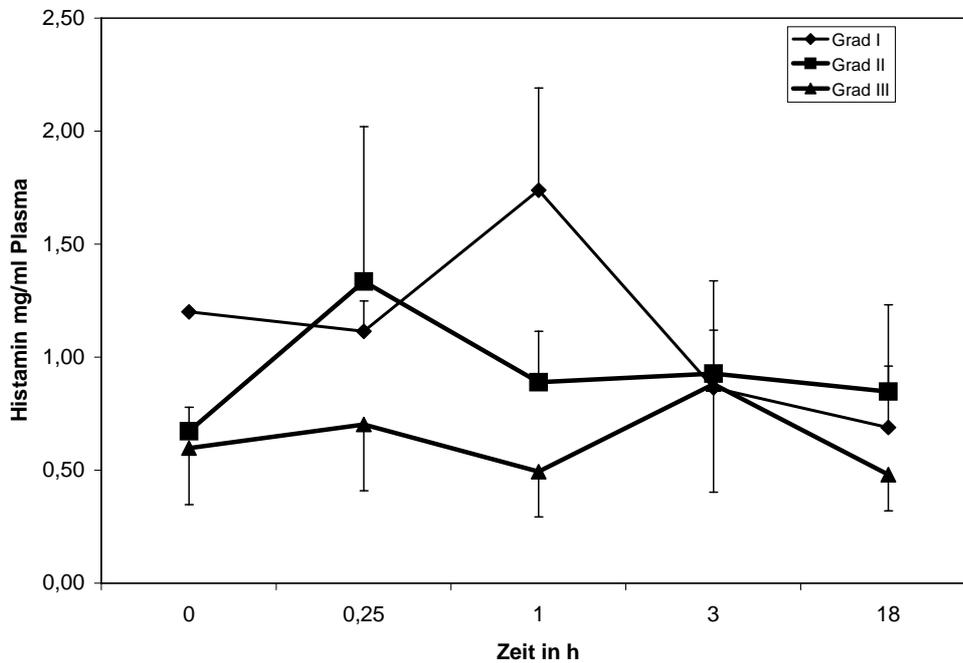


Abb. 3.4: Histamin im Plasma von den Patienten nach den anamnestisch eruierten Schweregraden der anaphylaktischen Reaktion vor und nach verschiedenen Zeitpunkten nach Stichprovokation.

Im Verlauf der Stichprovokation zeigte sich insgesamt ein inhomogenes Verteilungsmuster der Histaminwerte. Patienten mit anamnestischen Grad I-, Grad II- oder Grad III-Reaktionen zeigten weder vor, 15 min, 1 h, 3 h oder 18 h nach Stichprovokation signifikant unterschiedliche Plasma-Histamin-Werte (Abb.3.4).

Bei den beiden Patienten, die unter Stichprovokation systemische

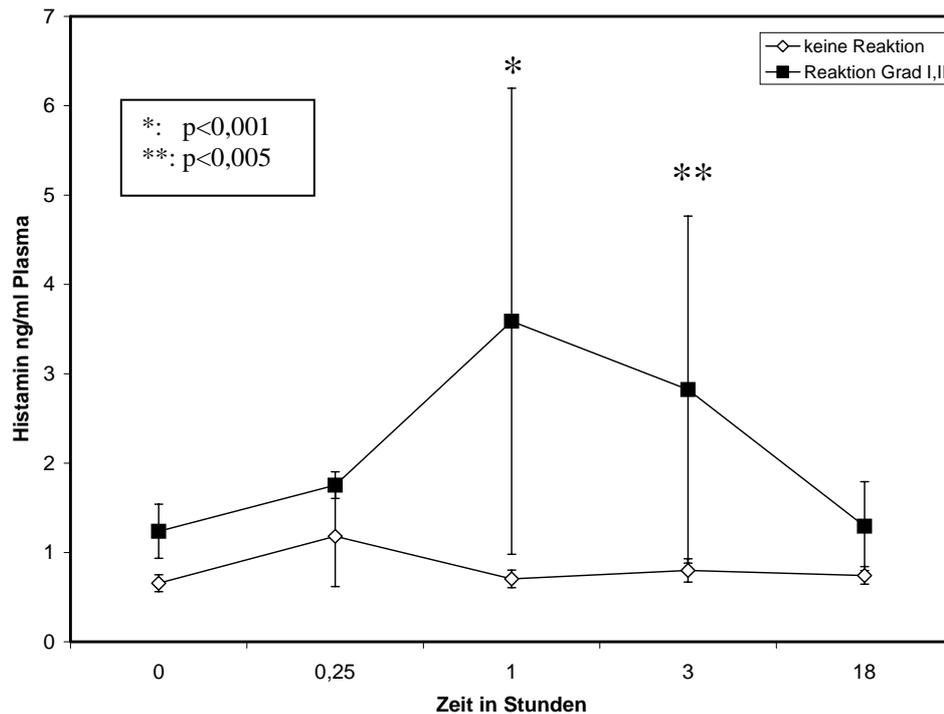


Abb. 3.5: Histamin im Plasma von Patienten mit klinischer Reaktion (n=2), sowie Patienten ohne Reaktion (n=33) vor und nach Stichprovokation. Deutlich stärkerer Anstieg des Histamin-Spiegels im Plasma bei Patienten mit systemischer Reaktion. Unterschiede sind nach einer Stunde ($p < 0,001$) und nach drei Stunden ($p = 0,003$) statistisch signifikant.

Reaktionen hatten, zeigten sich 1 h nach Provokation ein signifikanter Plasma-Histamin Anstieg (Abb.3.5).

Die Plasma-Histamin-Werte bei den beiden Patienten mit systemischen Reaktionen lagen zu jedem Zeitpunkt über denen, der Patienten, die keine Reaktionen zeigten. Vor Stichprovokation war

die Histaminkonzentration mit $1,24 \pm 0,3$ ng/ml (n=2) verglichen mit $0,66 \pm 0,1$ ng/ml (n=34) Plasma doppelt so hoch. Im weiteren Verlauf, eine Stunde nach Stichprovokation, war bei den 2 Patienten mit systemischen Reaktionen der Histaminspiegel mit $3,59 \pm 2,61$ ng/ml fast dreimal so hoch als bei Patienten ohne Reaktion mit Werten von $0,70 \pm 0,10$ ng/ml ($p < 0,001$). Nach drei Stunden war der Histaminwert bei diesen 2 Patienten noch deutlich erhöht ($2,82 \pm 1,94$ ng/ml vs. $0,80 \pm 0,13$ ng/ml, $p = 0,003$). Nach 18 Stunden waren keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Patientenkollektiven mehr nachweisbar (Werte 2 Patienten mit Reaktion $1,29 \pm 0,5$ ng/ml, vs. alle übrigen Patienten $0,74 \pm 0,1$ ng/ml).

3.3 Tryptase im Plasma als Mediatoren der Anaphylaxie

Die Tryptase zeigte beim gesamten Patientenkollektiv im Verlauf des Beobachtungszeitraumes keine nennenswerten Veränderungen. Der mittlere Tryptasespiegel betrug zwischen 5 und 6 $\mu\text{g/l}$ (Abb.3.6).

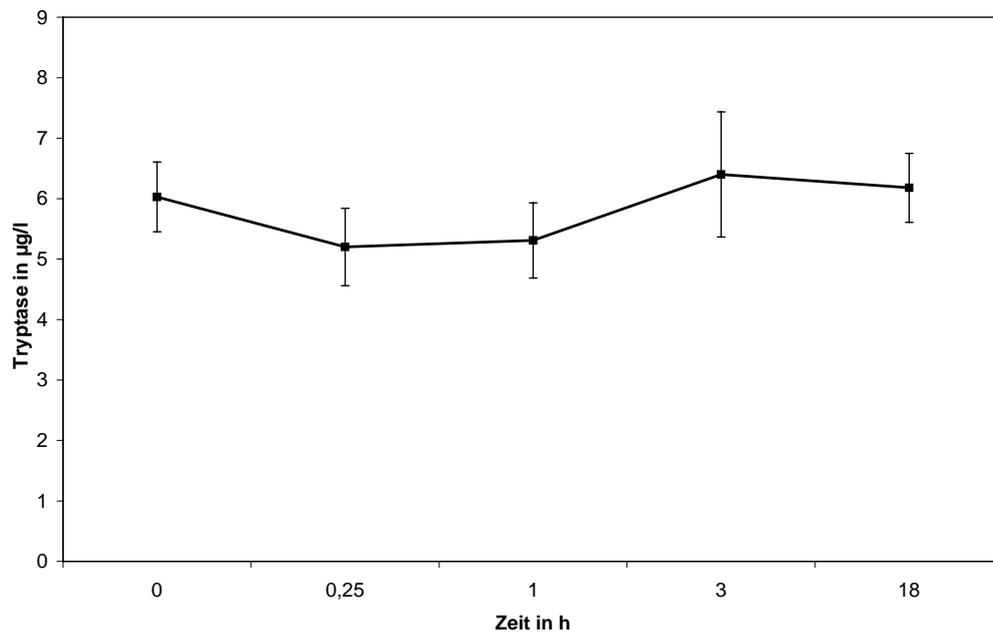


Abb. 3.6: Tryptase im Plasma vor und nach Stichprovokation.

Während Patienten ohne systemische Reaktionen eine leichte Trendabnahme der Tryptase im Plasma 15 Minuten, bzw. einer Stunde nach Provokation zeigten, konnte bei den Patienten mit systemischen Reaktionen ein deutlicher Tryptaseanstieg im Plasma gemessen werden. Bei den Patienten ohne systemische Reaktion fiel die Tryptase von $5,92 \pm 0,60 \mu\text{g/l}$ auf $4,72 \pm 0,57 \mu\text{g/l}$ nach 15 min und $4,87 \pm 0,57 \mu\text{g/l}$ nach 1 h. Bei den Patienten mit systemischer

Reaktion nach Provokation wurde ein Anstieg der Tryptase von 7,96 +/- 1,55 µg/l vor Provokation auf 12,9 +/- 2,3 µg/l nach 15 min und 12,45 +/- 1,65 µg/l beobachtet. Nach 15 min und 1 war bei den Patienten mit systemischer Grad I-, bzw. Grad II-

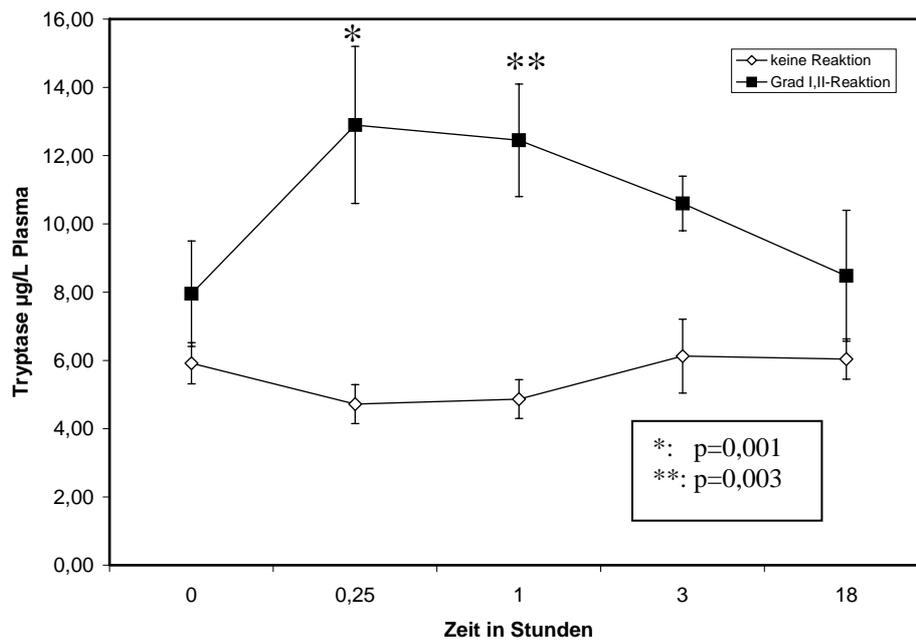


Abb. 3.7: Tryptase im Plasma vor und nach Stichprovokation. Einteilung der Patienten nach der Reaktion auf die Stichprovokation. Statistisch signifikanter Unterschied 15min (p=0,001) und eine Stunde (p=0,003) nach Stich.

Reaktion mit p=0,001 und p=0,003 ein signifikant erhöhter Tryptasespiegel nachweisbar. Der Anstieg des Tryptasespiegels verlief schneller als der Histaminanstieg bei den Patienten mit systemischen Reaktionen. Nach einem Plateau von einer Stunde erreichte der Spiegel bei den Patienten mit Grad I- und Grad II-

Reaktionen nach 18 Stunden mit $8,48 \pm 1,92 \mu\text{g/l}$ nahezu den Ausgangswert.

3.4 Histamin in den Leukozyten

Sowohl bei Kontrollpersonen ($n=20$), als auch bei Patienten ($n=36$) zeigte sich kein signifikanter Unterschied für das Histamin in den Leukozyten. Die Konzentrationen betragen bei den Kontrollpersonen $915 \pm 195 \text{ ng/mg}$ im Vergleich zu $527 \pm 78 \text{ ng/mg}$ Protein bei den Patienten (Abb. 3.8).

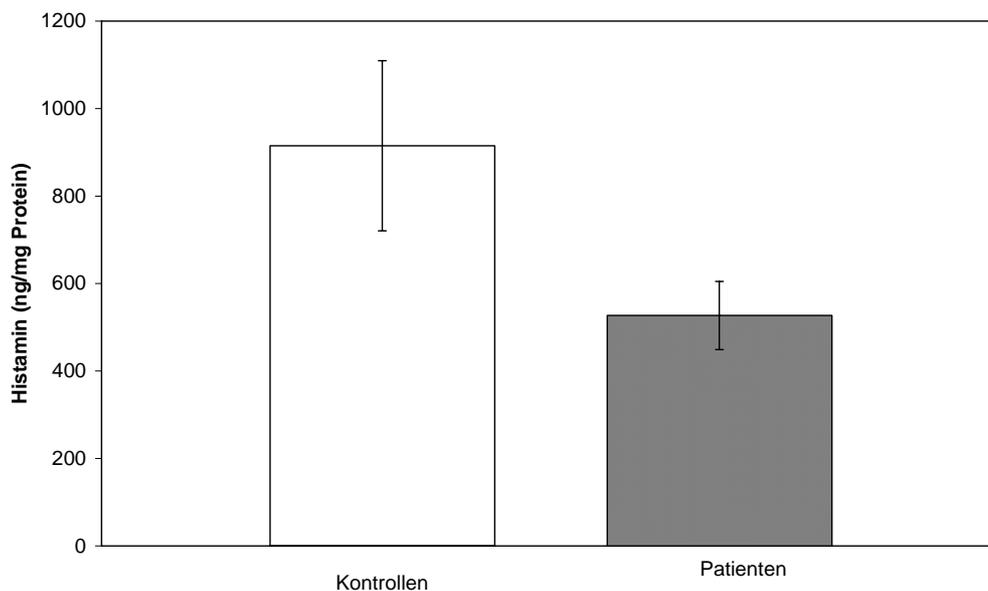


Abb. 3.8: Histaminwerte in den Leukozyten bei Kontrollen ($n=20$), sowie bei Patienten ($n=36$) vor Stichprovokation. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen.

Bei Patienten zeigten sich weder vor noch nach Stichprovokation signifikant unterschiedliche Histaminspiegel in den Leukozyten. Die

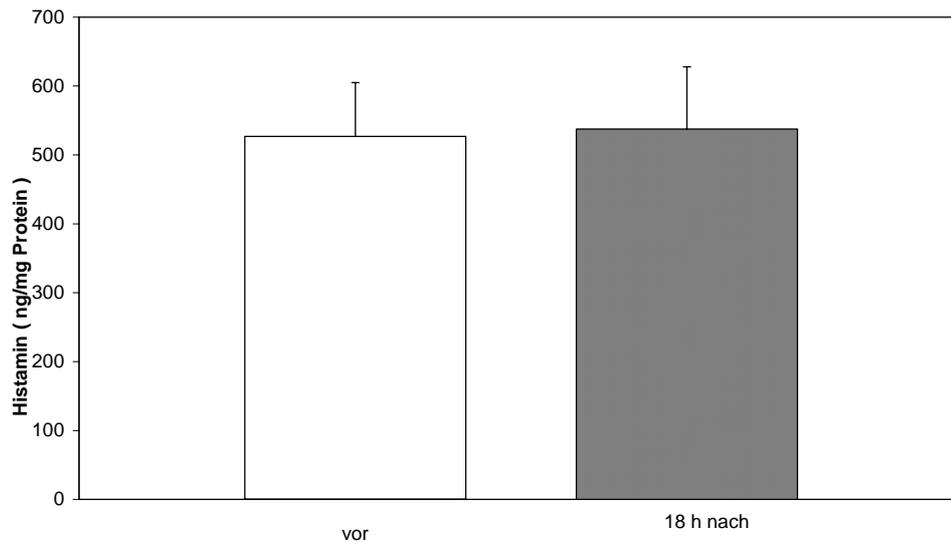


Abb. 3.9: Die Histaminwerte in den Leukozyten bei Patienten vor und 18 Stunden nach Stichprovokation zeigten keine signifikanten Veränderungen 18 Stunden nach Stich im Vergleich zu den Ausgangswerten.

Histamin-Konzentration betrug vor Stichprovokation 527 +/-78 ng/mg Protein und 18 h danach 537 +/- 90 ng/mg Protein (Abb. 3.9).

Patienten ohne systemische Reaktion auf die Stichprovokation (n=33) zeigten vor oder 18 h nach Provokation keine signifikant unterschiedlichen Histamin-Werte in den Leukozyten (533,42 +/- 91,48 ng/mg Protein vs. 558,90 +/- 97,28 ng/mg Protein).

Patienten mit systemischer Reaktion (n=2) verzeichneten 18 h nach Provokation einen deutlichen Abfall des Histamins in den Leukozyten

von 415,56 +/- 293,80 ng/mg Protein auf 184,60 +/- 130,60 ng/mg Protein. Diese Unterschiede waren aufgrund der geringen Fallzahl sowie der großen individuellen Unterschiede jedoch nicht signifikant (Abb.3.10).

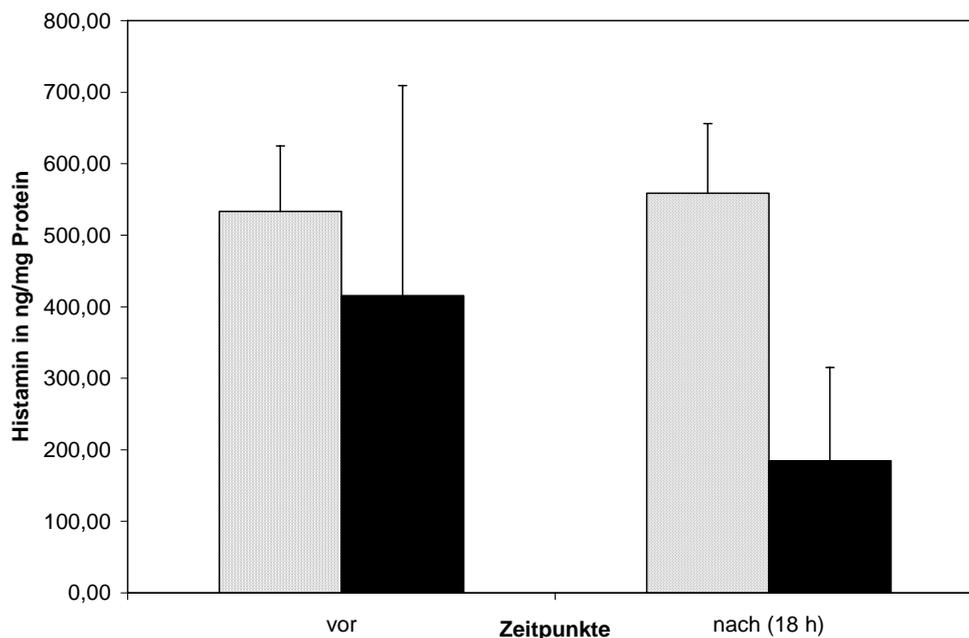


Abb. 3.10: Histamin in den Leukozyten bei Patienten vor und 18h nach Stichprovokation zeigte einen nicht signifikanten Abfall bei den Patienten mit systemischer Reaktion nach 18h (schwarze Balken, n=2), im Gegensatz zu dem Kollektiv ohne systemische Reaktion (schraffierte Balken, n=33).

Durch eine Korrelation sollte geklärt werden, ob ein Zusammenhang zwischen der Plasma-Histaminkonzentration und der Histamin-Konzentration in den Leukozyten besteht, da bei den Patienten mit systemischer Reaktion ein Anstieg der Plasmakonzentration mit einem Abfall der Histaminkonzentration in den Leukozyten

einherging (Abb.3.2 und 3.10).

Abbildung 3.11 zeigt den Vergleich zwischen den Histaminwerten im Plasma und den Leukozyten bei allen Patienten 18 h nach Provokation. Es zeigte sich ein inverser, nicht signifikanter tendenzieller Zusammenhang, dass bei zunehmendem Histamin im Plasma, die Konzentration an Histamin in den Leukozyten abnahm.

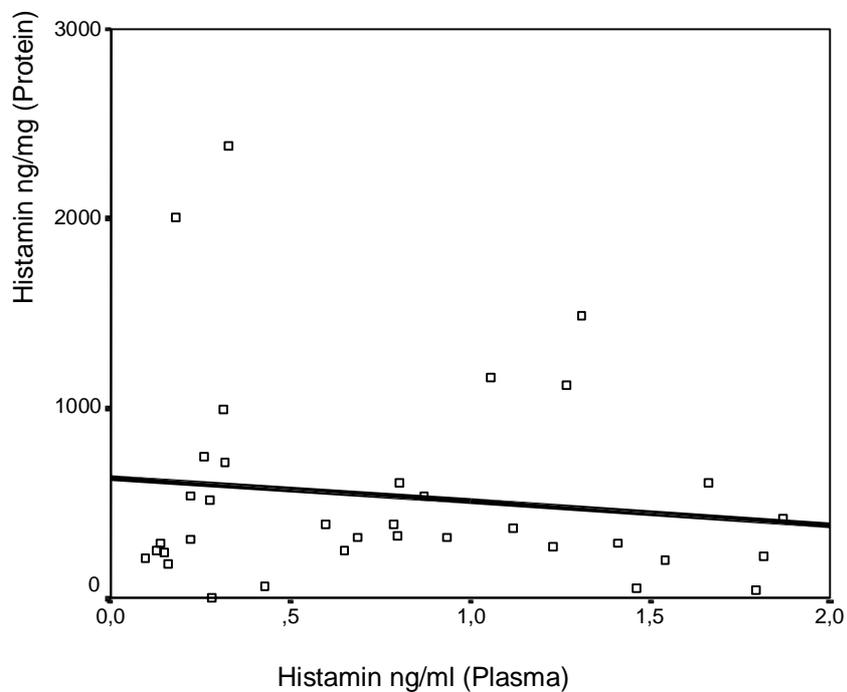


Abb. 3.11: Vergleich der Histaminwerte im Plasma und in den Leukozyten bei Patienten 18 Stunden nach Stichprovokation.

Ebenso wurde die Tryptase im Plasma mit den Histaminspiegeln in den Leukozyten 18 Stunden nach Stichprovokation verglichen. Es zeigte sich im Vergleich zu der Korrelation Histamin im Plasma und in den Leukozyten ebenfalls eine inverse Korrelation (Abb.3.12, nicht signifikant).

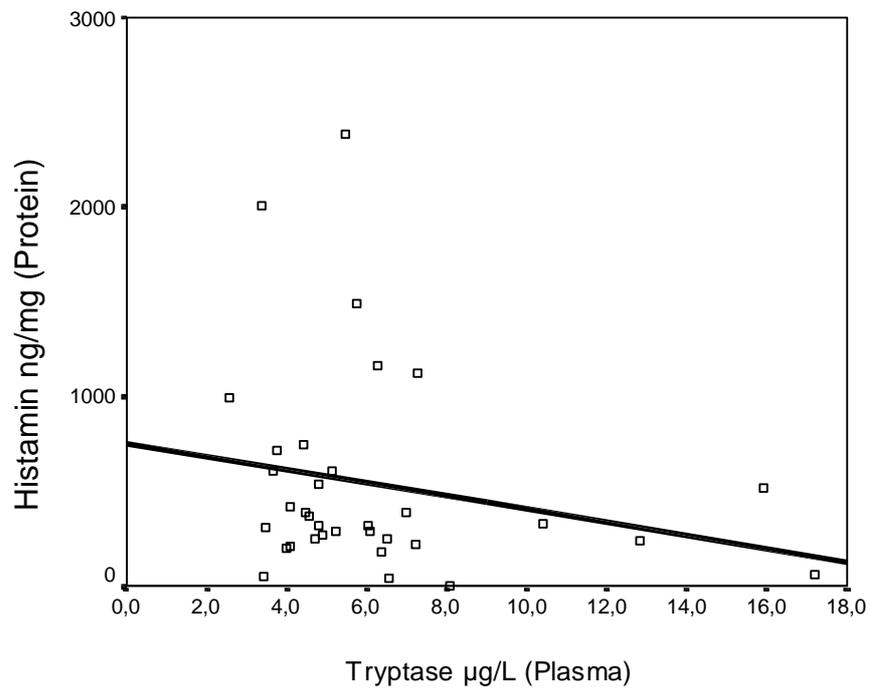


Abb. 3.12: Korrelation zwischen den Tryptasewerten im Plasma und dem Histaminspiegel in den Leukozyten 18 Stunden nach Stichprovokation.

3.5 Angiotensin II im Plasma bei Probanden und Patienten vor und nach Stichprovokation

Bei 20 gesunden und freiwilligen Kontrollpersonen wurde der Plasmaspiegel von ANG II bestimmt. Der Spiegel lag im Durchschnitt bei 5,38 +/- 1,25 fmol/ml. Obwohl zwischen den einzelnen Kontrollpersonen große individuelle Unterschiede im ANG-II Spiegel zu messen waren, zeigten sich bei den Patienten (n=36) vor Stichprovokation mit 4,04 +/- 0,60 fmol/ml ANG II zwar niedrigere Werte, die Unterschiede waren aber statistisch nicht signifikant (Abb. 3.13).

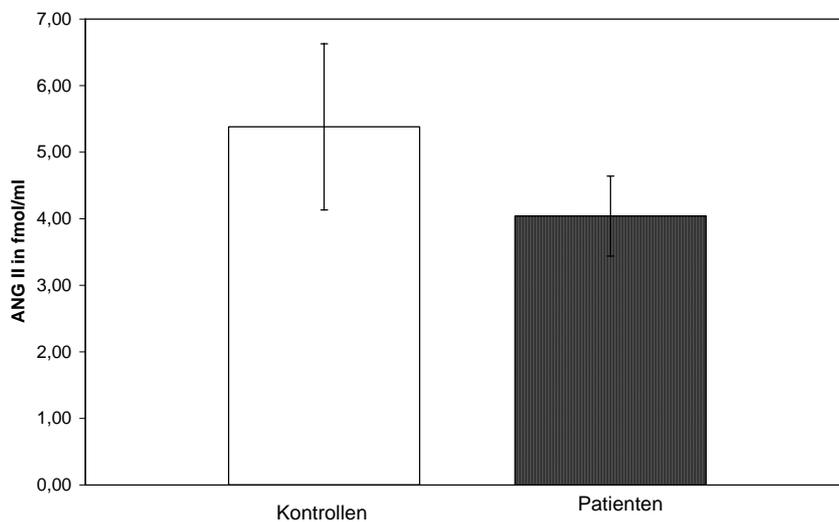


Abb. 3.13: Angiotensin II im Plasma bei Kontrollen (n=20) und Patienten (n=36) vor Stichprovokation.

Fünfzehn Minuten nach der Stichprovokation kam es bei allen Patienten zu einer Abnahme des ANG II von $4,04 \pm 0,60$ fmol/ml auf $3,08 \pm 0,38$ fmol/ml (n.s.). Nach einer Stunde sank der Wert weiter auf $2,21 \pm 0,24$ fmol/ml ab ($p < 0,01$). Drei, bzw. 18 Stunden nach Provokation stiegen die ANG II-Werte wieder auf $3,81 \pm 0,71$ bzw. $3,56 \pm 0,57$ fmol/ml an (n.s., Abb.3.14).

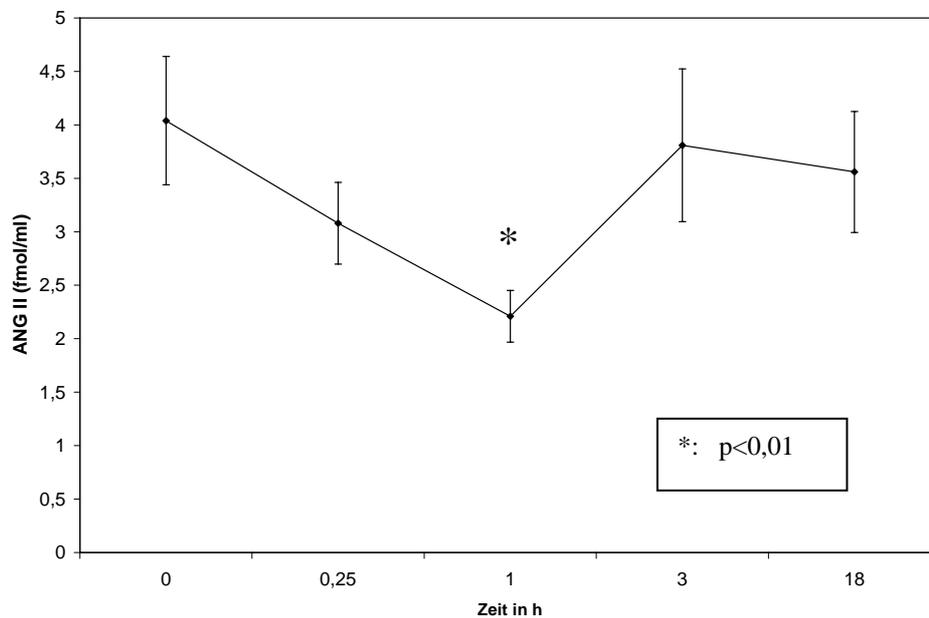


Abb. 3.14: ANG II im Plasma bei Patienten im Verlauf der Stichprovokation. Nach Stichprovokation nahm der ANG II-Spiegel im Plasma um knapp 50% nach 1h ab, gefolgt von einem Anstieg nach 3, bzw. 18h.

Die ANG-II Konzentration im Plasma vor Stichprovokation wurde mit den anamnestisch erhobenen Schweregraden bei der

anaphylaktischen Reaktion nach Insektenstich betrachtet. Hierbei zeigte sich, dass die Patienten mit Schweregrad I in der Anamnese, einen deutlich höheren und statistisch signifikanten ($p < 0,001$) Ausgangswert des ANG II hatten, als die Patienten mit Schweregrad-Reaktion II oder III (siehe Abb. 3.15).

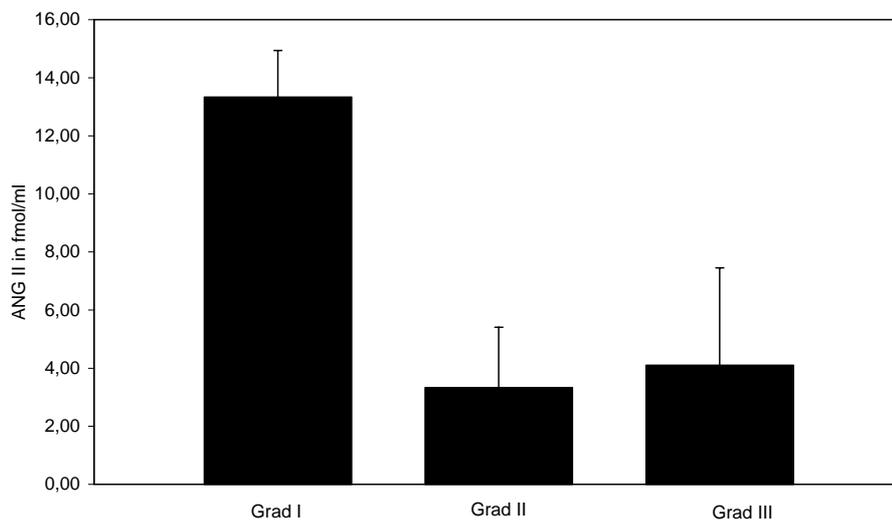


Abb. 3.15: Angiotensin II im Plasma bei Patienten vor Stichprovokation aufgliedert nach dem Schweregrad der klinischen Reaktion vor Hyposensibilisierung. Patienten mit einer Reaktion Grad I (n=2) zeigten statistisch signifikant erhöhte Ausgangswerte, als Patienten mit anamnestisch eruierbarer Reaktion Grad II (n=27) und Grad III (n=6, $p < 0,001$).

Im Verlauf nach Stichprovokation war dieser Unterschied nicht mehr signifikant. Die ANG II Werte bei Patienten mit Grad I-Reaktionen

lagen zu jedem Zeitpunkt über den Werten der Gruppen der Schweregrade II und III (Abb. 3.16).

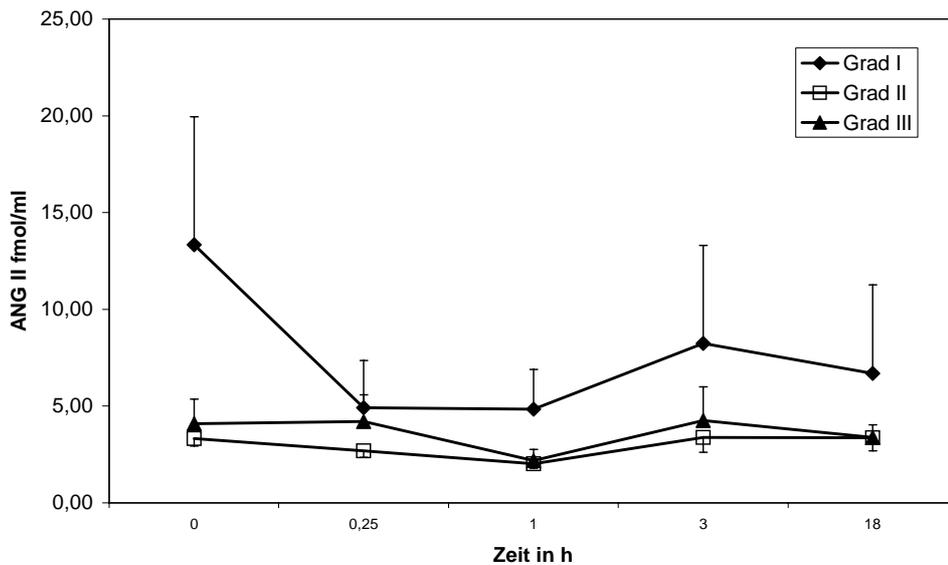


Abb. 3.16: ANG II im Plasma im Verlauf der Stichprovokation aufgliedert nach den anamnestischen Schweregraden der klinischen Reaktion. Patienten mit Schweregrad I (n=2) zeigten durchgehend höhere Angiotensin-II Spiegel, als die Patienten mit Schweregrad II (n=28) und III (n=6). Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

Bei der Gruppe I zeigte sich ein deutlicher Abfall in der ANG-II-Konzentration im Plasma um mehr als die Hälfte des Ausgangswertes nach 15 Minuten. Bei den Gruppen mit schwereren systemischen Reaktionen in der Anamnese zeigte sich nur ein geringer Abfall in der ANG-II-Konzentration. Unterschiede zwischen den Gruppen der Schweregrade II und III waren nicht zu erkennen.

Nach drei Stunden kam es zu einer Normalisierung der ANG II-Werte im Plasma bei den Gruppen II und III, wohingegen bei den Patienten der Gruppe I die Ausgangswerte auch nach 18 Stunden nicht erreicht wurden (Abb. 3.16).

Zusätzlich erfolgte eine Auswertung unter dem Gesichtspunkt der klinischen Reaktion auf die Stichprovokation. Von den 36 Patienten, die einer Stichprovokation ausgesetzt wurden, reagierten zwei Patienten, der eine mit Reaktionsgrad I, der andere mit Reaktionsgrad II.

Vergleicht man die Plasma-ANG II-Werte dieser Patienten mit denen, die keine Reaktion auf die Stichprovokation zeigten, so fand sich ein erniedrigter Ausgangswert mit $1,7 \pm 0,5$ fmol/ml vs. $4,2 \pm 0,6$

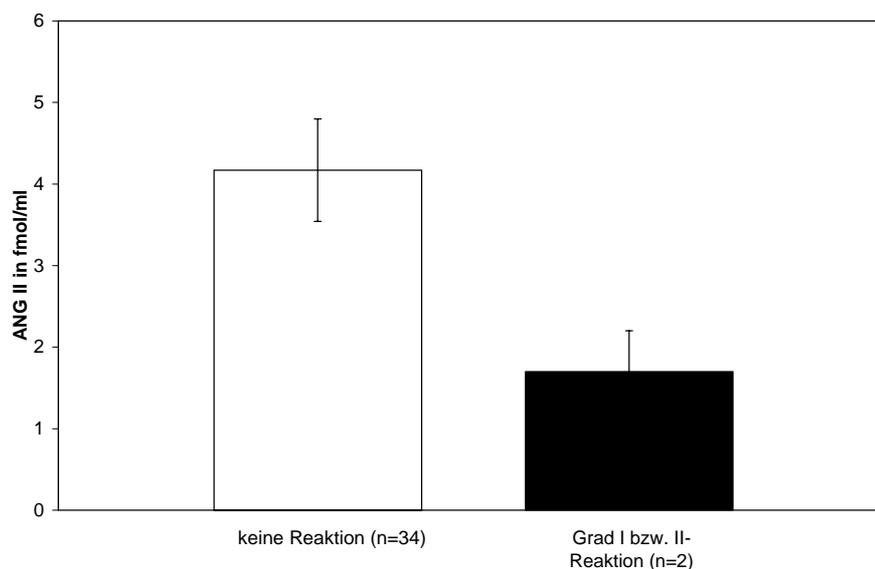


Abb. 3.17: ANG II im Plasma vor Stichprovokation aufgliedert nach der klinischen Reaktion auf den Stich.

fmol/ml. Dieser Unterschied war jedoch aufgrund der geringen Fallzahl nicht signifikant (Abb. 3.17).

Die Patienten mit systemischer Reaktion zeigten im Verlauf nach dem Stich durchgehend niedrigere ANG-II Werte als die Patienten ohne systemische Reaktion. Es zeigte sich kein nennenswerter Abfall der ANG-II Konzentration, im Gegensatz zu den Patienten ohne systemische Reaktion. Nach der Stichprovokation kam es bei den Patienten ohne systemische Reaktion zu einer Reduktion der ANG-II-Spiegel auf $3,2 \pm 0,5$ fmol/ml nach 15 Minuten und $2,3 \pm$

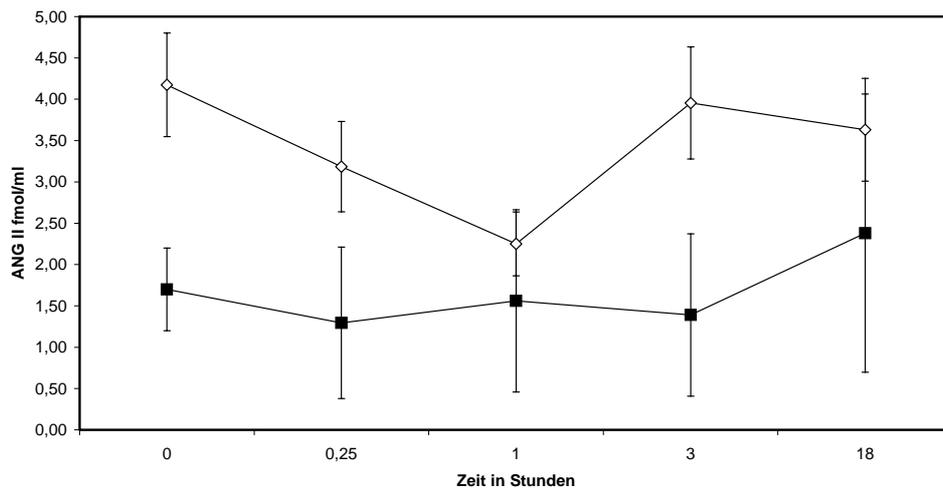


Abb. 3.18: ANG II im Plasma vor und nach Provokation aufgliedert nach Patienten, die systemische Reaktionen (gefüllte Kästchen) und solche die keine zeigten (offene Kästchen).

$0,4$ fmol/ml Plasma nach einer Stunde. Nach drei, bzw. 18 Stunden erreichten die durchschnittlichen Werte mit $4,0 \pm 0,7$ fmol/ml bzw. $3,6 \pm 0,6$ fmol/ml nahezu den Wert vor Stichprovokation. Im

Gegensatz hierzu fanden sich annähernd konstante ANG-II-Spiegel bei den Patienten, die eine systemische Reaktion auf die Stichprovokation zeigten. Nach 15 Minuten und einer Stunde waren keine signifikanten Veränderungen im Plasmaspiegel zu beobachten. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren jedoch zu keinem Zeitpunkt signifikant (Abb. 3.18).

Die Daten der Plasma-ANG-II-Werte wurden im Folgenden untersucht, ob es signifikante Korrelationen abhängig vom Alter, dem Geschlecht der Patienten oder vom Insekt der Stichprovokation gab. Bezüglich der Altersgruppen konnten keine signifikanten Unterschiede des ANG-II Spiegels gefunden werden (Abb.3.19).

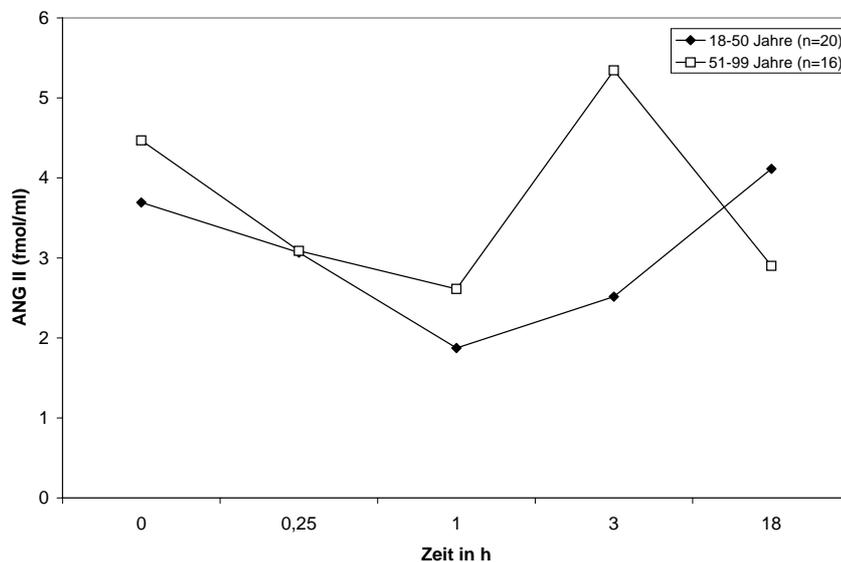


Abb. 3.19: ANG-II im Plasma im Verlauf der Stichprovokation aufgliedert in zwei Altersgruppen. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

Die ANG II-Werte zeigten keine geschlechtsspezifischen Unterschiede nach Provokation. Bei den Männern fielen die ANG II-Werte von 3,4 fmol/ml vor Stich auf 3,1 fmol/ml nach 15 min und 1,9 fmol/ml nach 1 h und stiegen dann auf 2,8 fmol/ml nach 3 h und auf 4,1 fmol/ml nach 18 h an. Bei den Frauen fielen die ANG II-Werte von 4,5 fmol/ml vor Provokation auf 3,0 fmol/ml nach 15 min und 2,4 fmol/ml nach 1 h und stiegen dann nach 3 h auf 4,5 fmol/ml an. Nach 18 h betragen die ANG II-Werte 3,2 fmol/ml (Abb.3.20)

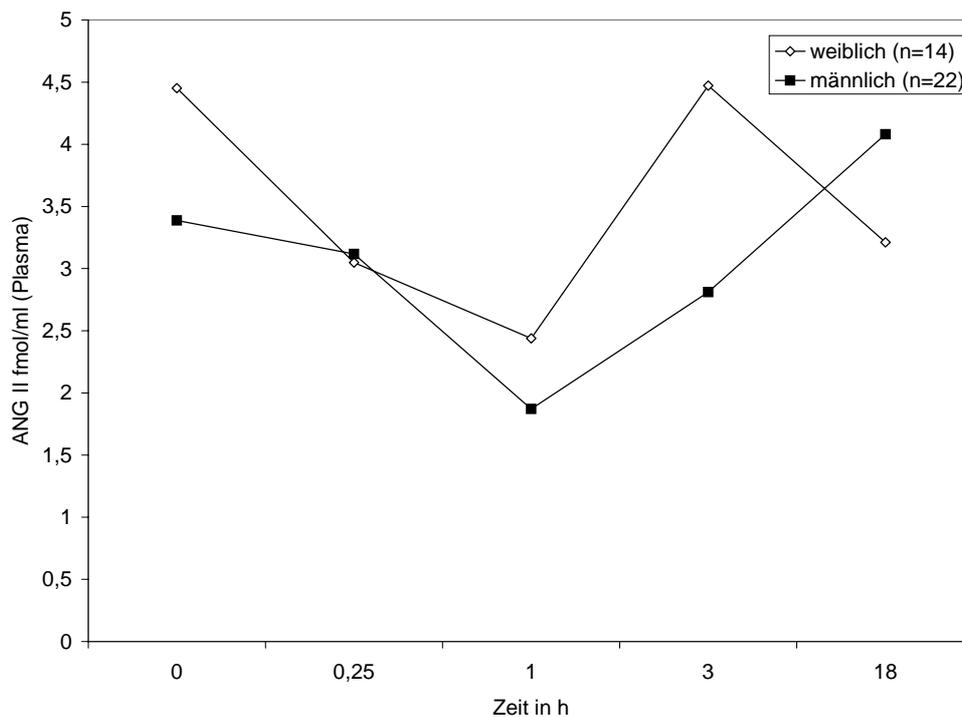


Abb. 3.20: ANG-II im Plasma im Verlauf der Stichprovokation aufgliedert nach Frauen vs. Männer. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Geschlossene Kästchen stellen die männlichen, die offenen Kästchen die weiblichen Patienten dar.

Bei der Betrachtung der ANG-II Spiegel abhängig von dem Insekt der Stichprovokation fanden sich bei Patienten keine signifikanten Unterschiede (Abb. 3.21).

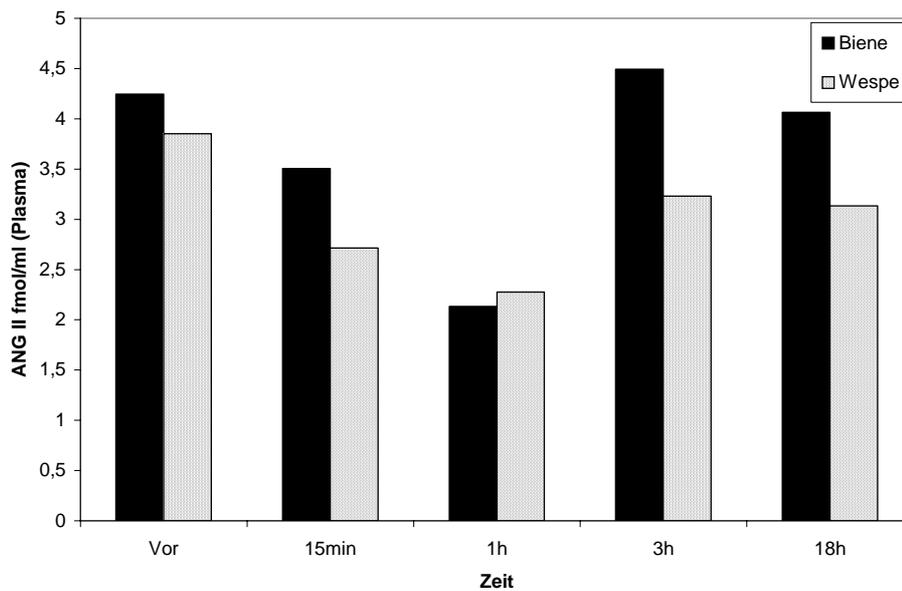


Abb. 3.21: ANG-II im Plasma im Verlauf der Stichprovokation aufgliedert nach Insekt der Stichprovokation. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Geschlossene Balken stellen die Patienten mit Bienenstich, die schraffierte Balken

3.6 Angiotensin II in den Leukozyten bei Patienten vor und nach Stichprovokation

Die Werte des ANG II in den Leukozyten bei Patienten (n=36) vor der Stichprovokation lagen bei 6,6 +/- 2,0 fmol / mg Protein. 18 Stunden nach Stichprovokation lagen die Werte bei 16,9 +/- 7,5 fmol/mg Protein. Aufgrund der sehr hohen Abweichungen der

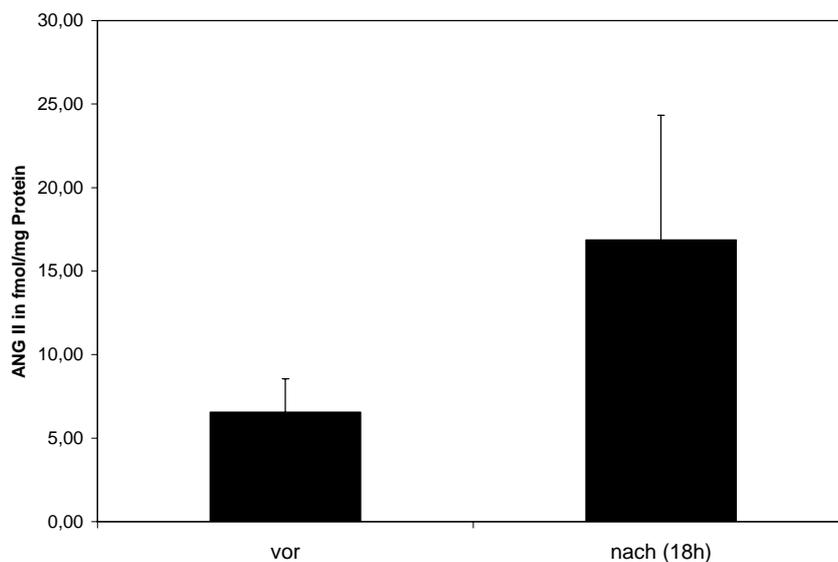


Abb. 3.22: ANG II in den Leukozyten bei den Patienten vor und 18 Stunden nach Stichprovokation. Es zeigt sich ein Anstieg des ANG II in den Leukozyten (n=34, nicht signifikant)

einzelnen Patienten sind diese Ergebnisse nicht signifikant

unterschiedlich (Abb.3.22).

Patienten, die nach Stichprovokation keine systemischen Reaktionen hatten, zeigten einen Anstieg des ANG II in den Leukozyten auf etwas mehr als das Doppelte von $6,73 \pm 2,12$ fmol/mg auf $17,79 \pm 8,02$ fmol/mg Protein 18 h nach Provokation. Im Gegensatz hierzu wurde bei den 2 Patienten mit systemischen Reaktionen ein Abfall des ANG II in den Leukozyten von $3,9 \pm 0,5$ fmol/mg auf $1,68 \pm 0,58$ fmol/mg Protein nach 18 h gemessen.

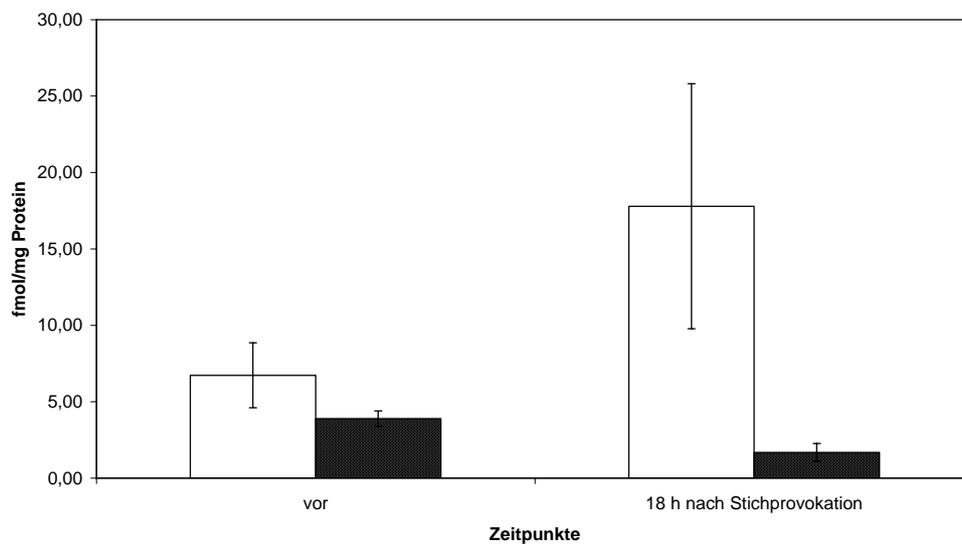


Abb. 3.23: ANG II in den Leukozyten bei den Patienten vor und 18 Stunden nach Stichprovokation getrennt nach den Patienten ohne (offene) und mit (schwarze Balken) systemischer Reaktion auf den Stich.

4. Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Patienten mit nachgewiesener Hymenopterengift-Allergie, die sich einer Hyposensibilisierung unterzogen hatten und bei denen eine Stichprovokation durchgeführt wurde, untersucht. Die Stichprovokation mit einem Lebedinsekt ist derzeit die Methode der Wahl, um den Erfolg, oder Misserfolg einer Hyposensibilisierung zu testen, da es bislang keinen sicheren Parameter gibt, der diese Aussage treffen könnte. Hermann et al. zeigten, dass das Renin-Angiotensin-System ein prognostischer Parameter darstellen könnte. Ziel dieser Arbeit war es, weitere Aufschlüsse über das RAS sowie über Mediatoren zu erhalten und deren eventuelle prognostische Bedeutung während einer Stichprovokation mit einem Lebedinsekt einzuordnen.

Die Mediatoren Histamin und Tryptase, sowie ANG II als Vertreter des RAS wurden vor und nach Stichprovokation mit einem Lebedinsekt bestimmt. Bei den Patienten wurde eine Hyposensibilisierung entweder mit Bienengift, mit Wespengift oder mit beiden Giften durchgeführt. Die Stichprovokation wurde bei 47% mit Bienen und bei den anderen mit Wespen durchgeführt. Die Anwendung der Stichprovokation ist als sicher anzusehen. Obgleich schwere systemische Nebenwirkungen nicht auszuschließen sind, haben wir diese in keinem Fall beobachtet. Leichte systemische

Reaktionen auf die Stichprovokation traten bei lediglich 5,6% der Patienten auf, die allesamt durch Wespenstiche verursacht wurden. Somit liegen diese Zahlen einer systemischen Reaktion bei der Stichprovokation deutlich unter denen von anderen Autoren angegebenen Daten von ca. 15% [48]. Die Gründe der von uns sehr niedrigen beobachteten Komplikationsrate bleiben letztendlich spekulativ. Eine Erklärung wäre, dass Patienten, die unter Medikation mit ACE-Hemmern standen, von der Studie ausgeschlossen wurden. ACE-Hemmer können durch ihre Wirkungen auf das RAS zu einer Verschlimmerung oder gar erst zum Auftreten anaphylaktischer Reaktionen führen. Zusätzlich ist zu berücksichtigen, dass bei unserer Untersuchung aufgrund der niedrigen systemischen Reaktionsrate von einer insgesamt hohen Erfolgsquote bei der Hyposensibilisierung bei der Hymenoptereingift-Allergie ausgegangen werden kann. Ein Grund für die hohe Erfolgsrate könnte in der relativ langen Hyposensibilisierungszeit von durchschnittlich über 2 Jahren liegen. Die Mechanismen der Hyposensibilisierung bleiben jedoch hingegen weitgehend unverstanden, obgleich zahlreiche Theorien entwickelt worden sind [15]. Während der Hyposensibilisierung werden eine Reihe immunologischer Veränderungen beobachtet. Besonders der Titeranstieg des spezifischen IgG, dem eine schützende Funktion als

blockierender Antikörper zugeschrieben wird [19] wurde in Zusammenhang mit dem Therapieeffekt gebracht [10;43;78]. Eine prognostische Aussage erlaubt dieser Parameter im Einzelfall allerdings jedoch nicht [4]. Unter der Hyposensibilisierung wurden des Weiteren eine Abnahme der IgE-Rezeptorexpression auf den Lymphozyten [46], und Lymphokine als Inhibitoren zytotoxischer Funktionen der Thrombozyten [75] beobachtet.

4.1 Tryptase und Histamin im Plasma als Mediatoren der Anaphylaxie

Als Vertreter der Mediatoren der Anaphylaxie wurden bei Kontrollpersonen und Patienten die Konzentrationen von Tryptase und Histamin im Plasma bestimmt. Tryptase und Histamin im Plasma wurden bei den Patienten vor Stichprovokation, sowie zu verschiedenen Zeitpunkten nach Stich bestimmt. Es zeigte sich nach 15 Minuten ein leichter Anstieg des Histamins im Plasma, eine Stunde nach Stich hatten sich die Werte normalisiert. Diese Werte zeigen einen ähnlichen und vergleichbaren Verlauf, wie er bereits in der Literatur beschrieben wurde. Eine Gruppe dokumentierte einen vergleichbaren zeitlichen Verlauf der Histaminfreisetzung bei der Stichprovokation. Sie beobachteten 10 bis 15 Minuten nach

Insektenstich die Maximalwerte der Histaminfreisetzung mit anschließender Normalisierung und bestätigten die Rolle des Histamins als akuten Mediator der Anaphylaxie [63].

Um zu überprüfen, inwieweit Histaminspiegel ohne Belastungssituation eine Bedeutung bei der Anaphylaxie spielen, wurden die Ruhehistaminwerte im Plasma nach den anamnestisch eruierten Schweregraden der anaphylaktischen Reaktion getrennt ausgewertet. Interessanterweise zeigten die Histaminwerte im Plasma vor Stichprovokation bei den Patienten mit nur leichten systemischen Reaktionen in der Anamnese nahezu doppelt so hohe Werte, als bei den Patienten mit anamnestisch eruibaren schwerwiegenderen Reaktionen.

Auch unter Stichprovokation konnten Unterschiede hinsichtlich der anamnestisch erhobenen Schweregrade eruiert werden. Patienten mit anamnestisch erhobenen Schweregrad III hatten während der Stichprovokation durchgehend niedrigere Histaminspiegel im Plasma, als die Patienten mit Schweregrad I und II. Diese etwas überraschenden Daten könnten möglicherweise bedeuten, dass Patienten mit schwerwiegenderen Ereignissen in der Vorgeschichte besser auf die Hyposensibilisierung ansprechen und somit einen verbesserten Schutz haben könnten. Diese Hypothese ist auf Grund der kleinen Patientenzahl und dem nicht signifikanten Ergebnis durch

unsere Daten nicht sicher zu bestätigen und Bedarf weiterer Untersuchungen.

Bei den Patienten, die unter Stichprovokation systemische Reaktionen zeigten, lagen die Histaminwerte im Plasma zu jedem Zeitpunkt über denen, die keine Reaktionen zeigten. Vor Stichprovokation war die Histaminkonzentration nahezu doppelt so hoch. Im Vergleich zum dem Kollektiv ohne systemische Reaktion war der Histaminspiegel eine Stunde nach der Stichprovokation um den Faktor drei erhöht, nach drei Stunden war der Histaminwert noch signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht. Erst 18 Stunden nach Stich wurden die Ausgangswerte erreicht. Im Vergleich zu unseren Daten konnten van der Linden und Mitarbeiter ebenfalls keine Veränderungen des Histaminspiegels im Serum von Patienten ohne systemische Reaktionen messen. In der akuten Phase korrelierte der Histaminspiegel im Plasma jedoch gut mit dem Schweregrad der anaphylaktischen Reaktion [79]. Eine andere Studie von Eberlein-König und Mitarbeitern konnten interessanterweise einen signifikanten Anstieg des Histamins 15 Minuten nach Stichprovokation nur bei denjenigen Personen zeigen, die eine Reaktion zeigten, während hingegen bei den Patienten ohne Reaktion ein signifikanter Anstieg nach 60 und 180 Minuten zu verzeichnen war [14]. Dies unterstützt somit das Konzept, dass es

bei einer Stichprovokation durch die Hyposensibilisierung zu einer Modulierung der Höhe und des zeitlichen Ablaufs der Mediatorenfreisetzung kommen könnte. Zusammenfassend kommt dem Histamin bei der Akutphasereaktion der Anaphylaxie zweifelsfrei eine wichtige Bedeutung zu. Als Screeningparameter zur Beurteilung der Frage, ob Patienten eine anaphylaktische Reaktion entwickeln könnten, scheint das Histamin im Plasma jedoch nach dem derzeitigen Stand nicht geeignet zu sein.

Ein zweiter wichtiger Mediator der Anaphylaxie ist die Tryptase. In Tierversuchen konnte gezeigt werden, dass die Tryptase in der Lage war, über einen längeren Zeitraum als Histamin eine vermehrte Durchlässigkeit der Kapillaren hervorzurufen. Die Konzentration der Tryptase im Blut scheint der im Körper vorhandenen Mastzellen proportional zu sein und somit indirekt ein Parameter für die Mastzellen zu sein [62]. In unserer Studie wurde die Tryptase im Plasma parallel zum Histamin zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt. Die Ausgangswerte der Tryptase vor Stich bei Patienten mit systemischen Reaktionen zeigten einen Trend zu einer leichten Erhöhung im Vergleich zu den Patienten ohne systemische Reaktionen. In einer Studie mit 161 hyposensibilisierten Patienten bei denen der Erfolg mittels einer Stichprovokation getestet wurde,

konnte eine signifikante Assoziation zwischen dem Ausgang-Tryptasewert und der anschließenden systemischen Reaktion aufgezeigt werden [21]. Eine weitere Studie konnte diese Daten bestätigen [37]. Somit liegen unsere Daten in guter Übereinstimmung mit dieser Studie, wengleich auch in unserer Studie, wohl aufgrund zu kleiner Fallzahlen, diese Assoziation nicht signifikant war. Somit scheint die Tryptase als messbarer Parameter dem Histamin überlegen zu sein [38]. Ob die Tryptasespiegel vor Stichprovokation im Einzelfall allerdings eine prognostische Aussage zulassen ist derzeit eher anzuzweifeln und im Einzelfall nicht hilfreich.

Bei der Betrachtung des gesamten Patientenkollektivs zeigten sich im Verlauf des Beobachtungszeitraumes keine nennenswerten Veränderungen des Tryptasespiegels. Nach Aufteilung der Patienten in eine Gruppe mit bzw. ohne systemische Reaktionen konnte die wichtige Bedeutung der Tryptase als Akutphaseparameter aufgezeigt werden. Bei Patienten ohne systemische Reaktionen zeigte sich ein leichter Trend zur Abnahme der Tryptase im Plasma nach 15 Minuten, bzw. einer Stunde. Bei Patienten mit systemischen Reaktionen zeigte sich hingegen ein deutlicher und statistisch signifikanter Tryptaseanstieg im Plasma. Diese Daten stehen in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Stephan et al, der eine Korrelation des Tryptaseanstiegs im Serum mit dem Schweregrad

der anaphylaktischen Reaktion darstellte [70]. Wir konnten somit die wichtige Bedeutung der Tryptase bei der anaphylaktischen Reaktion bestätigen. Der Anstieg der Tryptase im Plasma erfolgte schneller als der Histaminanstieg bei diesen Patienten. Während der Anstieg bei der Tryptase schon nach 15 min signifikant war, konnte ein signifikanter Histaminanstieg erst zum Zeitpunkt nach einer Stunde beobachtet werden. Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Schwartz et al. nach Bienenstichprovokation [63]. Jedoch scheint es keinen einheitlichen Verlauf des Tryptaseanstiegs zu geben. Neben einer schlagartigen Freisetzung können die Maximalspiegel erst nach einer Stunde, in Fällen von verzögerter Anaphylaxie noch später auftreten [38].

In Zukunft könnte aber die Tryptase, zum einen als Ausgangswert, aber auch wenige Minuten nach Stichprovokation abgenommen, möglicherweise als Parameter für eine drohende und anaphylaktische Reaktion hergenommen werden. Bei fehlender Möglichkeit die Tryptase jedoch mittels eines Schnelltests zu untersuchen, bleibt die klinische Anwendbarkeit auf unabsehbare Zeit offen. Im Gegensatz hierzu kann jedoch die Tryptase bei schneller ansteigenden und länger anhaltenden Spiegeln im Vergleich zum Histamin auch zur Diagnosestellung eines anaphylaktischen Schocks postmortem hilfreich sein [1]. In diesem

Zusammenhang ist erwähnenswert, dass die Freisetzung der Tryptase unabhängig von eventuell zusätzlich applizierten systemischen Steroiden sein soll, so dass zum einen ein Steroid-unabhängiger Mechanismus verantwortlich zu sein scheint. Auch andere, z.B. iatrogen applizierte Substanzen beeinflussen die spätere Analyse nicht [2].

4.2 Histamin in den Leukozyten

Zusätzlich zu der Untersuchung des Histamins und der Tryptase im Plasma während der Stichreaktion, wurde das Histamin in den Leukozyten vor und nach Stich untersucht, um zu untersuchen ob sich hierbei Unterschiede im Vergleich zu dem Histamin im Plasma zeigen. Neben dem Patientenkollektiv, wurde die Histaminbestimmung auch an Kontrollpersonen durchgeführt, um standardisierte Werte zu erhalten. Unsere Daten zeigten keinen wesentlichen Unterschied, sowohl zwischen den Patienten und Kontrollpersonen, als auch bei den Patienten vor und nach Stichprovokation. Zwar fand sich bei den Patienten mit systemischer Reaktion ein Trend zu niedrigeren Histaminwerten in den Leukozyten, als bei denjenigen ohne, aufgrund der geringen Fallzahl sowie der großen individuellen Unterschiede waren diese Unterschiede jedoch nicht signifikant. Die klinische Relevanz der Histaminspiegel in den

Leukozyten scheint somit eher von untergeordneter Bedeutung zu sein. Bemerkenswerterweise war jedoch der Histamin-Ausgangswert bei den Patienten ohne systemische Reaktion leicht höher, als bei denjenigen mit Reaktion. Daten über den Histamingehalt in den Leukozyten bei Stichprovokation sind in der Literatur kaum zu finden. Eine Studie berichtete über einen Abfall der Histaminkonzentration in den Leukozyten im Fall der kontinuierlichen Allergenexposition während der Bienengift-Hyposensibilisierung [70]. Eine weitere Studie konnte diesen Abfall bestätigen und zwar sowohl bei den Personen mit, als auch ohne Reaktionen auf die Stichprovokation [14]. Ein Ansatz, der in den letzten Jahren zunehmend in den Mittelpunkt des Interesses rückte, ist der sogenannte Basophilen-Aktivierungs-Test. Über die direkte In-vitro Messung der CD63 Expression dieser Zellen, könnte somit eine zusätzliche Aussage über das Anaphylaxie-Risiko getroffen werden [16].

Des Weiteren zeigte sich in unseren Daten ein Trend, dass bei zunehmendem Histamin im Plasma, die Konzentration an Histamin in den Leukozyten abnahm. Zusätzlich fand sich ein deutlicher Zusammenhang bei der Korrelation zwischen der Tryptase im Plasma und dem Histamin in den Leukozyten, im Vergleich zu der Korrelation zwischen Histamin im Plasma und in den Leukozyten. Diese Ergebnisse unterstreichen die wechselseitige Beziehung

zwischen dem Histamin und der Tryptase. Inwieweit eine Zusammenlegung mehrerer Messparameter später eine prognostische Aussage über eine mögliche Stichreaktion erlauben kann derzeit nicht abschließend gesagt werden. Aufgrund der von uns beobachteten individuellen sehr großen Schwankungsbreite ist von einer möglichen prognostischen Aussage im Einzelfall jedoch nicht auszugehen.

4.3 Plasmatisches Renin-Angiotensin-System bei Probanden und Patienten vor und nach Stichprovokation

Bei der Hymenopterenengift-Allergie werden im Rahmen anaphylaktischer Reaktionen Mediatoren freigesetzt, die durch ihre inflammatorische, chemotaktische und vasodilatatorische Wirkung die Symptome einer systemischen Überempfindlichkeitsreaktion hervorrufen können. In dieser Situation können Gegenregulatoren, wie das ANG II als Vasokonstriktor wirksam werden.[26] Die gefäßverengende Wirkung des ANG II kann einerseits direkt über ANG II-Rezeptoren der glatten Muskelzellen, zum anderen auch über einen indirekt adrenerg vermittelten Effekt erfolgen.[8] Durch den Baroreflex werden die Regelgrößen neu eingestellt, so dass trotz gefäßverengender Wirkung des ANG II eine stabile Herzfrequenz in der Regel bestehen bleibt [53]. Zusätzlich wird über die gefäßverengende Wirkung die Nierenfunktion reguliert. [36]

Hermann et al. [23] und Tschirschnitz et al. [74] konnten zeigen, dass bei Patienten vor Hyposensibilisierung die ANG II Werte niedriger lagen, als bei den Kontrollpersonen. Sie folgerten, dass das RAS sich in einem herunterreguliertem Zustand befand und somit die Gegenregulation bei hypotonen Kreislagsituationen beeinträchtigt ist.

Unsere Ergebnisse bestätigen letztendlich die Ergebnisse von Hermann und Tschirschnitz. Allerdings fand sich bei unserer Untersuchung ein Trend, dass auch bei den Patienten mit stattgehabter Hyposensibilisierung niedrigere Angiotensin II-Werte als bei Normalpersonen gefunden wurden. Hierzu passend kam es nach Stichprovokation zu einem weiteren Abfall des ANG II im Plasma um sich im weiteren Verlauf dem Ausgangswert anzunähern. Ein interessanter Zusammenhang fand sich bei der Analyse der ANG-II Konzentration vor Stichprovokation mit den anamnestisch erhobenen Schweregraden der anaphylaktischen Reaktion. Patienten mit leichten systemischen Reaktionen in der Anamnese zeigten einen signifikant höheren Ausgangswert des ANG II, als die Patienten mit schwereren Reaktionen (Grad II und III). Unsere Daten stehen in sehr guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Tschirschnitz et al. Diese konnten zeigen, dass zwischen ANG II und dem Schweregrad der anamnestischen anaphylaktischen Reaktion

eine negative Korrelation besteht [74]. In unserer Untersuchung konnte dieser Effekt als Trend auch nach Stichprovokation weiter beobachtet werden. Patienten mit anamnestisch leichten systemischen Reaktionen zeigten einen starken Abfall des ANG II nach Stich, bei den schwereren anamnestischen Reaktionen war der Abfall des ANG II deutlich geringer.

Dass das RAS eine wichtige Bedeutung bei der anaphylaktischen Reaktion zukommt, konnten wir in unserer Untersuchung aufzeigen, denn diejenigen, die nach dem Stich systemische Reaktionen zeigten, hatten einen Trend zu deutlich niedrigeren Ausgangswerten, als die Patienten ohne systemischen Reaktionen. Auffällig war auch, dass nach Stichprovokation bei den Patienten ohne systemische Reaktion eine Reduzierung der ANG II-Spiegel für die Dauer von drei Stunden zu beobachten war, im Gegensatz hierzu fanden sich annähernd konstante ANG-II-Spiegel bei den Patienten mit systemischer Reaktion.

Im Gegensatz zu Tschirschnitz et al., die eine Altersabhängigkeit des Plasmaspiegels für das RAS zeigen konnte, fanden wir hierfür keine Hinweise. Somit bleibt es derzeit unklar, ob das Alter eine beeinflussende Größe für die Plasmaspiegel des RAS darstellen. Interessanterweise zeigen gerade ältere Patienten schwerwiegendere anaphylaktische Reaktionen [3]. Inwieweit hierbei

das RAS beteiligt ist, kann derzeit nicht abschließend geklärt werden [59].

Übereinstimmend mit Hermann und Ring [28] fanden wir keine geschlechtsspezifischen Unterschiede bezüglich des ANG II-Spiegels. Allerdings zeigen Ergebnisse von Tschirschnitz et al. signifikant niedrigere Angiotensinwerte im Plasma bei weiblichen Probanden und Patienten [74]. Physiologisch sind diese Ergebnisse jedoch nur schwer erklärbar, da über den denkbaren hormonellen Einfluss die Angiotensinogensynthese in der Leber durch Östrogene eher erhöht wird [40] und somit ein erhöhter ANG II Spiegel bei Frauen zu erwarten ist.

In unserer Untersuchung zeigten Patienten mit Wespengift-Allergie und Stichprovokation mit Wespen einen Trend zu niedrigeren Ausgangswerten für ANG-II, als auch niedrigere ANG-II-Spiegel im Verlauf im Vergleich zu Patienten mit Bienengift-Allergie. Dieser Zusammenhang ist derzeit ungeklärt und Bedarf weiterer Untersuchungen. Bedeutung könnte dieser Unterschied insbesondere für die Dauer und Effektivität einer Hyposensibilisierung erlangen.

4.4 Lokales RAS bei Patienten vor und nach Stichprovokation

Das Renin-Angiotensin System muss neben dem plasmatischen System auch in ein zusätzliches lokales, gewebeständiges System unterteilt werden [11]. In den achtziger Jahren wurde in verschiedenen Geweben Bestandteile des RAS, ANG-Rezeptoren, sowie die Genexpression für Renin und Angiotensinogen nachgewiesen [12;72]. Unter anderem konnte ein lokales RAS im Gehirn [18], im Herzen [35], sowie in alveolären Makrophagen und Monozyten [9] nachgewiesen werden. Als weiteres lokales RAS konnten Hermann und Ring ANG II in menschlichen Leukozyten identifizieren und mit Hilfe von HPLC als Ile5-ANG II charakterisieren [26]. In unserer Studie haben wir dieses lokale RAS ebenfalls untersucht, um die Auswirkungen der Stichprovokation bei den Insektengiftallergien zu untersuchen. Tschirschnitz konnte in ihrer Untersuchung die Beteiligung des lokalen RAS bei der Hymenopteren-Allergie nachweisen, da Patienten mit Allergie signifikant niedrigere leukozytäre Konzentrationen von ANG II hatten als Probanden. Auch in unserer Untersuchung fand sich ein Trend, dass bei Patienten vor der Stichprovokation niedrigere ANG II- Werte

in den Leukozyten vorlagen als 18 Stunden nach Stichprovokation. Interessanterweise fand sich bei den Patienten, die nach Stich keine systemischen Reaktionen hatten, ein Anstieg des ANG II in den Leukozyten auf etwas mehr als das Doppelte, im Gegensatz bei denjenigen mit systemischen Reaktionen, wo ein Abfall des ANG II in den Leukozyten nach 18 Stunden dokumentiert werden konnte. Im Gegensatz zu dem plasmatischen RAS, dem eine Funktion bei akuten Veränderungen des Blutdrucks zuzuordnen ist, scheinen die lokalen Renin-Angiotensin-Systeme dagegen eher für langfristige Wirkungen an den Organen verantwortlich zu sein.[5] Hiervon ausgehend könnte das ANG II in den Leukozyten als Speichersystem dienen und den raschen Nachschub von ANG II in das Plasma gewährleisten, so dass eine gleich bleibende Plasmakonzentration an ANG II möglich ist. Die hier vorliegenden Daten könnten dahingehend interpretiert werden, dass bei den Patienten mit systemischen Reaktionen, die Bereitstellung von ANG II in den Leukozyten unzureichend ist, und somit auf akute Reaktionen nur unzureichend reagiert werden kann. Eine Verbindung zwischen diesem lokalen RAS und dem plasmatischen RAS setzt jedoch voraus, dass zwischen diesen beiden Systemen ein Austausch stattfinden kann. An Endothelzellen konnte gezeigt werden, dass Renin in die Gefäßwand aufgenommen wurde [71] und

ANG I auf der Gefäßoberfläche zu ANG II umgewandelt wurde [60]. Renin scheint hierbei der geschwindigkeitsbestimmende Faktor für die vaskuläre Synthese von ANG II zu sein.[31] Der Nachweis eines zellulären Austauschs wurde an mononukleären Zellen geführt. Die Bindung von ANG II auf diesen Zellen erfolgte mittels Endozytose [44].

4.5 Immunologische Funktion des lokalen RAS

Das lokale RAS scheint zusätzlich eine immunologische Funktion zu besitzen. Simon et al. konnten einen inhibierenden Effekt auf die Lymphozytenfunktion zeigen [66]. Deszö et al. fanden eine Beteiligung des RAS in der Regulation von entzündlichen Prozessen in alveolären Makrophagen und Monozyten [9]. Pathophysiologisch spielt dies eine besondere Rolle, da die Phospholipase A₂, das Hauptallergen des Bienengifts, konzentrationsabhängig eine Produktion von Zytokinen in T-Lymphozyten, die die Immunglobulinausschüttung der B-Zellen regulieren [6]. Somit könnte bei den Patienten, die systemische Reaktionen nach Stichprovokation zeigten, die erniedrigten Spiegel im plasmatischen und lokalen ANG II die Regulation der Immunantwort im Sinne einer fehlenden Inhibition gestört sein. Eine überschießende immunologische Antwort wäre denkbar. Somit spielt möglicherweise

das RAS eine direkte Rolle bei der Anaphylaxie, besonders bei den Patienten, bei denen nicht die kardio-vaskuläre Dekompensation, sondern die generalisierte Reaktion im Vordergrund steht.

4.5 Diagnostik des Schweregrades der Insektengift-Allergie

Das Wiederholungsrisiko einer anaphylaktischen Reaktion bei Hymenoptereingift-Allergikern, die sich keiner Hyposensibilisierung unterzogen, lag in einer Studie bei 56 % [54]. Aus dieser Zahl lassen sich jedoch keine Rückschlüsse für das individuelle Risiko schließen. Im Einzelfall können Hauttest, RAST und der In-vitro-Histaminreleasetest als prognostische Parameter herangezogen werden. Allerdings zeigen die Ergebnisse des RAST und Prick-Tests keine Korrelation bezüglich der anamnestisch eruierten anaphylaktischen Reaktion [49]. Bei Patienten mit schweren systemischen Reaktionen zeigten sich oftmals nur schwach positive Reaktionen im RAST oder Hauttest [7;64]. Auch der Basophilen-Histaminreleasetest zeigt ähnliche Probleme in der Korrelation, wie RAST oder Prick-Test [51].

Urbanek stellte ein 5-Punkte Schema auf, nach welchem immunologische Untersuchungsergebnisse zueinander in Beziehung gesetzt werden [77]. Eine prognostische Einschätzung über die

Reaktion des Patienten bei einem folgenden Stich erlaubt dies jedoch nicht und sollte als Entscheidungshilfe nicht verwendet werden [47].

Zusätzlich erschwerend ist die Tatsache, dass Haut- und In-vitro-Test erst nach einer Latenz von ca. zwei Wochen nach Insektenstich durchgeführt werden können, da vorher mit falsch negativen Befunden gerechnet werden muss. Des Weiteren zeigt sich eine negative Korrelation zwischen RAST-Klasse und Zeitintervall seit der letzten anaphylaktischen Reaktion [49]. Müller et al. konnten zeigen, dass bei der Bienengift-Allergie mit einer höheren Reaktivität im RAST, sowie beim Gesamt-IgE gerechnet werden muss, als bei der Wespengift-Allergie [42].

Somit bieten spezifische Antikörper, Histaminreleasetests und Hautteste keine absolute Sicherheit in der Beurteilung des Schweregrades einer Insektengift-Allergie. Mit der Bestimmung von Komponenten des RAS und hier insbesondere des ANG II könnte eine nicht-immunologische Methode bestehen, die invers mit dem Schweregrad der anaphylaktischen Reaktion korreliert [74].

4.6. Medikamentöse Begleittherapie

Aufgrund der von uns erhobenen und der veröffentlichten Daten, stellt sich die Frage, ob Besonderheiten in der medikamentösen

Begleittherapie bei Patienten mit Insektengift-Allergie und Hyposensibilisierung zu beachten sind. Dies gilt insbesondere für die ACE-Hemmer.

Das RAS kann in seiner Funktion als kardio-vaskulärer Regulator durch ACE-Hemmer über eine Reduktion des zirkulierenden ANG II gehemmt werden. Durch die Langzeitgabe von ACE-Hemmern kann es bei adrenerger Stimulation, wie z.B. einer Anaphylaxie, aufgrund einer Sensibilisierung renaler Gefäße gegenüber Noradrenalin zu einem ischämischen Nierenversagen führen, welches wiederum zu einer verminderten Gegenregulation bei einer anaphylaktischen Reaktion führen kann [82]. Als zweiten nicht zu vernachlässigenden Punkt kommt es unter ACE-Hemmern zu einem verminderten Abbau des Vasodilatators Bradykinin [69]. Tunon-de-Lara et al. beschrieb anaphylaktische Reaktionen während der Hyposensibilisierung unter ACE-Hemmer-Therapie, die nach Absetzen des ACE-Hemmers ausblieben und bei erneuter Gabe wieder auftraten [76]. Aus diesem Grunde wurden in unserer Studie keine Patienten untersucht, die ACE-Hemmer einnahmen.

4.7. Schlussfolgerung

Aus den vorliegenden Ergebnissen kann gefolgert werden, dass die Bestimmung der Komponenten des RAS im Plasma, sowie die Bestimmung der Mediatoren der Anaphylaxie als ein reproduzierbarer Laborparameter einen Platz in der Diagnostik der Bienen- und Wespengift-Allergie finden könnte. Insbesondere können diese Parameter auch während und nach der Stichprovokation eingesetzt werden, um prognostische Parameter auf spätere mögliche anaphylaktische Reaktionen zu bekommen. Bei weitergehenden Untersuchungen der Parameter mit ausreichend großer Patientenzahl könnte sogar die Stichprovokation in Zusammenschau mit anderen Befunden abgelöst werden.

So zeigte sich eine inverse Korrelation zwischen dem Schweregrad der anaphylaktischen Reaktion und dem Plasmaspiegel des ANG II vor Stichprovokation. Derzeit gibt es für keinen anderen Parameter eine Beziehung zum Schweregrad der anaphylaktischen Reaktion. Die Ergebnisse zeigen jedoch, dass sowohl die anamnestisch eruierbaren Schweregrade, als auch die unter Stichprovokation aufgetretenen Reaktionen invers mit dem ANG II-Spiegel korrelierten. Somit kommt dem ANG II und somit dem RAS eine

wichtige gegenregulatorische Bedeutung zur Aufrechterhaltung einer stabilen Herz-Kreislauffunktion bei der Anaphylaxie zu.

Durch die Bestimmung des ANG II in den Leukozyten existiert ein weiterer Parameter, der in Beziehung mit der anaphylaktischen Reaktion steht. Durch Weiterentwicklung, z.B. durch In-vitro-Tests könnte so ein diagnostischer Parameter entwickelt werden, der den Schweregrad einer evtl. anaphylaktischen Reaktion vorhersagen könnte. Hierzu sind allerdings weitere Untersuchungen notwendig, die an einer größeren Anzahl von Patienten mit systemischen Reaktionen die Aussagekraft der hier vorgestellten Ergebnisse erhöhen kann.

5. Zusammenfassung

Bei 36 Patienten mit nachgewiesener Hymenopterenengift-Allergie (Durchschnittsalter 47,9 Jahre; 14 Frauen und 22 Männer) wurden die Mediatoren der Anaphylaxie Histamin und Tryptase, sowie ANG II als Vertreter des RAS vor und nach Stichprovokation mit einem Lebendinsekt untersucht. Zwanzig freiwillige Personen dienten als Kontrollgruppe (Durchschnittsalter 36,1 Jahre; 13 Frauen und 7 Männer).

Bei allen Patienten wurde eine Hyposensibilisierung entweder mit Bienengift (n=10), mit Wespengift (n=15) oder beiden Giften (n=11) durchgeführt. Die durchschnittliche Hyposensibilisierungsdauer betrug 2,3 +/- 0,4 Jahre. Von den 36 Patienten zeigten 2 Patienten eine systemische Reaktion auf die Stichprovokation (5,6 %).

Es fand sich ein Anstieg des Mediators Histamin mit einem Maximum nach 15 Minuten bei allen Patienten. Besonders bei den Patienten mit systemischen Reaktionen nach Stich (n=2) fanden sich erhöhte Spiegel (15min 1,24+/-0,3 vs. 0,66+/-0,1 mg/ml Plasma, 1 Stunde 3,59+/-2,61 vs. 0,70+/-0,10 mg/ml Plasma) im Vergleich zu den Kontrollen.

Des Weiteren zeigte sich bei der Tryptase ebenfalls ein signifikanter Anstieg bei den Patienten mit systemischer Reaktion auf den Stich nach 15 min und 1 Stunde (12,9 und 12,45 vs. 7,96µg/l vor Stich).

Bei der Untersuchung des Histamins in den Leukozyten fanden sich wiederum bei den Patienten, die systemische Reaktionen zeigten, abweichende Spiegel. Mit $184,6 \pm 130$ ng/mg Protein lagen die Spiegel nach 18h deutlich unter den Ausgangswerten ($415,56 \pm 293,8$ ng/mg Protein). Zusätzlich fand sich ein Trend, dass bei zunehmendem Histamin im Plasma die Konzentration an Histamin in den Leukozyten abnahm. Dieser Trend bestätigte sich auch beim Vergleich der Tryptase im Plasma und der Konzentration an Histamin in den Leukozyten.

Als Vertreter des RAS wurde das ANG II untersucht. Die Ausgangswerte lagen bei allen Patienten mit $4,04 \pm 0,6$ fmol/ml unter den Werten von gesunden Normalpersonen ($5,38 \pm 1,25$ fmol/ml, n.s.)

Nach Stichprovokation kam es bei allen Patienten zu einer Reduktion des ANG II auf nahezu die Hälfte des Ausgangswertes, um sich nach 3 bzw. 18 h Stunden wieder dem Ausgangswert anzunähern. Auffallend war, dass die Patienten mit anamnestisch nur leichten Reaktionen (n=2) statistisch signifikant höhere Ausgangswerte an ANG II hatten, als die Patienten mit Schweregrad II (n=27) und III (n=6). Auch im Verlauf nach Stichprovokation hatte diese Gruppe stets höhere ANG II-Spiegel.

Die Patienten, die auf die Stichprovokation systemisch reagierten,

hatten wiederum niedrigere Ausgangswerte ($1,7\pm 0,5$ vs. $4,2\pm 0,6$ fmol/ml, n.s.). Erstaunlicherweise veränderten sich die Spiegel bei dieser Patientengruppe nach Stichprovokation nicht.

Keine signifikanten Unterschiede fanden sich bezüglich des Alters, des Geschlechts, oder der Insektenart. Das ANG II in den Leukozyten verhielt sich nach Stich abhängig von der Reaktion. Bei den Patienten ohne systemische Reaktion kam es zu einem Anstieg im Vergleich zum Ausgangswert. Im Gegensatz dazu wurde bei den Patienten mit Reaktion ein Abfall registriert.

Diese Ergebnisse weisen daraufhin, dass die Mediatoren der Anaphylaxie gut mit dem Schweregrad der anaphylaktischen Reaktion bei der Insektengift-Allergie korrelieren. Das RAS scheint eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese der anaphylaktischen Reaktion im Rahmen der Insektengift-Allergie zu spielen, so dass hier ein reproduzierbarer Parameter zur Verfügung steht, gerade auch im Hinblick zur Beurteilung der Prognose einer Insektengift-Allergie.

6. Literatur

1. Ansari MQ, Zamora JL, Lipscomb MF (1993) Postmortem diagnosis of acute anaphylaxis by serum tryptase analysis. A case report. *Am J Clin Pathol* 99:101-103.
2. Atkins PC, Schwartz LB, Adkinson NF, Jr., von Allmen C, Valenzano M, Zweiman B (1990) In vivo antigen-induced cutaneous mediator release: simultaneous comparisons of histamine, tryptase, and prostaglandin D2 release and the effect of oral corticosteroid administration. *J Allergy Clin Immunol* 86:360-370.
3. Barnard JH (1973) Studies of 400 Hymenoptera sting deaths in the United States. *J Allergy Clin Immunol* 52:259-264.
4. Bose R, Marsh DG, Delespesse G (1986) Anti-idiotypes to anti-Lolp I (Rye) antibodies in allergic and non-allergic individuals. Influence of immunotherapy. *Clin Exp Immunol* 66:231-240.

5. Campbell DJ (1987) Tissue renin-angiotensin system: sites of angiotensin formation. *J Cardiovasc Pharmacol* 10 Suppl 7:S1-S8.
6. Carballido JM, Carballido PN, Terres G, Heusser CH, Blaser K (1992) Bee venom phospholipase A2-specific T cell clones from human allergic and non-allergic individuals: cytokine patterns change in response to the antigen concentration. *Eur J Immunol* 22:1357-1363.
7. Clayton WF, Georgitis JW, Reisman RE (1985) Insect sting anaphylaxis in patients without detectable serum venom-specific IgE. *Clin Allergy* 15:329-333.
8. Clough DP, Hatton R, Keddie JR, Collis MG (1982) Hypotensive action of captopril in spontaneously hypertensive and normotensive rats. Interference with neurogenic vasoconstriction. *Hypertension* 4:764-772.
9. Dezso B, Nielsen AH, Poulsen K (1988) Identification of renin in resident alveolar macrophages and monocytes: HPLC and immunohistochemical study. *J Cell Sci* 91:155-159.

10. Djurup R, Malling HJ, Sondergaard I, Weeke B (1985) The IgE and IgG subclass antibody response in patients allergic to yellow jacket venom undergoing different regimens of venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 76:46-55.
11. Dzau VJ (1989) Kardiovaskuläre Homöostase. *MMW Med München* 131 (Suppl 1):9-18.
12. Dzau VJ, Ellison KE, Brody T, Ingelfinger J, Pratt RE (1987) A comparative study of the distributions of renin and angiotensinogen messenger ribonucleic acids in rat and mouse tissues. *Endocrinology* 120:2334-2338.
13. Eberlein-König B, Rakoski J, Behrendt H, Ring J (2004) Use of CD63 expression as marker of in vitro basophil activation in identifying the culprit in insect venom allergy. *J Invest Allergol Clin Immunol* 14:10-16.
14. Eberlein-König B, Ullmann S, Thomas P, Przybilla B (1995) Tryptase and histamine release due to a sting challenge in bee venom allergic patients treated successfully or unsuccessfully with hyposensitization. *Clin Exp Allergy* 25:704-712.

15. Ebner C (1999) Immunological mechanisms operative in allergen-specific immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol* 119:1-5.
16. Erdmann SM, Sachs B, Kwieciën R, Moll-Slodowy S, Sauer I, Merk HF (2004) The basophil activation test in wasp venom allergy: sensitivity, specificity and monitoring specific immunotherapy. *Allergy* 59:1102-1109.
17. Freeman TM (2004) Clinical practice. Hypersensitivity to hymenoptera stings. *N Engl J Med* 351:1978-1984.
18. Ganten D, Hermann K, Bayer C, Unger T, Lang RE (1983) Angiotensin synthesis in the brain and increased turnover in hypertensive rats. *Science* 221:869-871.
19. Golden DB, Meyers DA, Kagey SA, Valentine MD, Lichtenstein LM (1982) Clinical relevance of the venom-specific immunoglobulin G antibody level during immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 69:489-493.

20. Golden DB, Valentine MD, Kagey SA, Lichtenstein LM (1982)
Prevalence of hymenoptera venom allergy. J Allergy Clin Immunol 69:124.
21. Haeberli G, Bronnimann M, Hunziker T, Muller U (2003)
Elevated basal serum tryptase and hymenoptera venom allergy: relation to severity of sting reactions and to safety and efficacy of venom immunotherapy. Clin Exp Allergy 33:1216-1220.
22. Helbling A, Hurni T, Mueller UR, Pichler WJ (2004) Incidence of anaphylaxis with circulatory symptoms: a study over a 3-year period comprising 940,000 inhabitants of the Swiss Canton Bern. Clin Exp Allergy 34:285-290.
23. Hermann K (1993) Bedeutung des Renin Angiotensin Systems bei der zentralen Blutdruckregulation und Anaphlyxie. Habilitationsschrift, Universität Hamburg .
24. Hermann K, Ganten D, Unger T, Bayer C, Lang RE (1988)
Measurement and characterization of angiotensin peptides in plasma. Clin Chem 34:1046-1051.

25. Hermann K, Raizada MK, Summers C, Phillips MI (1988) Immunocytochemical and biochemical characterization of angiotensin I and II in cultured neuronal and glial cells from rat brain. *Neuroendocrinology* 47:125-132.
26. Hermann K, Ring J (1990) Angiotensin und Insektengift-Anaphylaxie. *Allergologie* 13:47-48.
27. Hermann K, Ring J (1990) Hymenoptera venom anaphylaxis: may decreased levels of angiotensin peptides play a role? *Clin Exp Allergy* 20:569-570.
28. Hermann K, Ring J (1993) The renin angiotensin system and hymenoptera venom anaphylaxis. *Clin Exp Allergy* 23:762-769.
29. Hermann K, Ring J (1997) Hymenopterengift-Anaphylaxie. Die Rolle gegenregulierender Faktoren am Beispiel des Renin-Angiotensin-Systems. *Die Medizinische Welt* 48:8-15.
30. Hunt KJ, Valentine MD, Sobotka AK, Benton AW, Amodio FJ, Lichtenstein LM (1978) A controlled trial of immunotherapy in insect hypersensitivity. *N Engl J Med* 299:157-161.

31. Kato H, Iwai N, Inui H, Kimoto K, Uchiyama Y, Inagami T (1993) Regulation of vascular angiotensin release. Hypertension 21:446-454.
32. Kilian J (1977) Die Notfalltherapie des anaphylaktischen Schockes. Notfallmedizin 3:138-142.
33. Krönauer C, Eberlein-König B, Ring J, Behrendt H (2001) Inhibition of histamine release of human basophils and mast cells in vitro by ultraviolet A (UVA) irradiation. Inflamm Res 50 Suppl 2:S44-S46.
34. Krönauer C, Eberlein-König B, Ring J, Behrendt H (2003) Influence of UVB, UVA and UVA1 irradiation on histamine release from human basophils and mast cells in vitro in the presence and absence of antioxidants. Photochem Photobiol 77:531-534.
35. Linz W, Scholkens BA, Han YF (1986) Beneficial effects of the converting enzyme inhibitor, ramipril, in ischemic rat hearts. J Cardiovasc Pharmacol 8 Suppl 10:S91-S99.

36. Lohmeier TE, Yang HM (1991) Preservation of renal function by angiotensin during chronic adrenergic stimulation. *Hypertension* 17:278-287.
37. Ludolph-Hauser D, Rueff F, Fries C, Schopf P, Przybilla B (2001) Constitutively raised serum concentrations of mast-cell tryptase and severe anaphylactic reactions to Hymenoptera stings. *Lancet* 357:361-362.
38. Ludolph-Hauser D, Rueff F, Sommerhoff CP, Przybilla B (1999) [Tryptase, a marker for the activation and localization of mast cells]. *Hautarzt* 50:556-561.
39. McHugh SM, Ewan PW (1989) Reduction of increased serum neutrophil chemotactic activity following effective hyposensitization in house dust mite allergy. *Clin Exp Allergy* 19:327-334.
40. Menard J, Bouhnik J, Clauser E, Richoux JP, Corvol P (1983) Biochemistry and regulation of angiotensinogen. *Clin Exp Hypertens A* 5:1005-1019.

41. Moffitt JE, Golden DB, Reisman RE, Lee R, Nicklas R (2004) Stinging insect hypersensitivity: A Practice Parameter Update. *J Allergy Clin Immunol* 114:869-886.
42. Müller U, Helbling A, Berchtold E (1992) Immunotherapy with honeybee venom and yellow jacket venom is different regarding efficacy and safety. *J Allergy Clin Immunol* 89:529-535.
43. Müller U, Helbling A, Bischof M (1989) Predictive value of venom-specific IgE, IgG and IgG subclass antibodies in patients on immunotherapy with honey bee venom. *Allergy* 44:412-418.
44. Neyses L, Locher R, Wehling M, Pech H, Tenschert W, Vetter W (1984) Angiotensin II binding to human mononuclear cells: receptor or free fluid endocytosis? *Clin Sci* 66:605-612.
45. Peach MJ, Chiodera P (1974) Stimulation and inhibition of aldosterone biosynthesis in vitro by angiotensin II and analogues. *Circ Res* 34:556-562.

46. Prinz JC, Rieber EP, Ring J (1991) Loss of FeR2/CD23 expression on T and B lymphocytes during rush hyposensitization. In: Ring J, Przybilla B (eds). New trends in allergy III Springer, Berlin Heidelberg New York :105-108.
47. Przybilla B (1993) Bienen- und Wespengiftallergie. Hautarzt 44:611-623.
48. Przybilla B, Ring J (1991) Hymenoptera venom allergy. New trends in allergy III Springer, Berlin Heidelberg New York :335-349.
49. Przybilla B, Ring J, Griesshammer B (1989) Diagnostische Befunde bei Hymenopterenallergie. Allergologie 12:192-202.
50. Przybilla B, Ring J, Riishede J (1992) Die Indikation zur Hymenopteringift-Hyposensibilisierung kann nicht anhand eines diagnostische Parameter bewertenden Punkteschemas gestellt werden. Allergologie 15:114-119.
51. Przybilla B, Ring J, Wielgosch J (1988) Der Basophilen-Histamin-Freisetzungstest als diagnostische Methode bei Hymenopteringift-Allergie. Hautarzt 39:662-670.

52. Rabermaun E (1972) Bee and wasp venoms. *Science* 177:314-322.
53. Reid IA, Chou L (1990) Analysis of the action of angiotensin II on the baroreflex control of heart rate in conscious rabbits. *Endocrinology* 126:2749-2756.
54. Reisman RE (1992) Natural history of insect sting allergy: relationship of severity of symptoms of initial sting anaphylaxis to re-sting reactions [see comments]. *J Allergy Clin Immunol* 90:335-339.
55. Richet C, Portier P (1907) De l'action anaphylactique de certain venins. *Cr Soc Biol* 6:170-172.
56. Ring J (1988) *Angewandte Allergologie*. MMW Med München .
57. Ring J, Messmer K (1977) Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes. *Lancet* 1:466-469.

58. Rocklin RE, Sheffer AL, Greineder DK, Melmon KL (1980) Generation of antigen-specific suppressor cells during allergy desensitization. *N Engl J Med* 302:1213-1219.

59. Rzany B, Przybilla B, Jarisch R, Aberer W, Dietschi R, Wuthrich B, Buhler B, Frosch P, Rakoski J, Kiehn H, et al (1991) Clinical characteristics of patients with repeated systemic reactions during specific immunotherapy with hymenoptera venoms. A retrospective study. *Allergy* 46:251-254.

60. Saye JA, Singer HA, Peach MJ (1984) Role of endothelium in conversion of angiotensin I to angiotensin II in rabbit aorta. *Hypertension* 6:216-221.

61. Schwartz LB, Lewis RA, Austen KF (1981) Tryptase from human pulmonary mast cells. Purification and characterization. *J Biol Chem* 256:11939-11943.

62. Schwartz LB, Sakai K, Bradford TR, Ren S, Zweiman B, Worobec AS (1995) The alpha form of human tryptase is the predominant type present in blood at baseline in normal

subjects and is elevated in those with systemic mastocytosis.
J Clin Invest 96:2702-2710.

63. Schwartz LB, Yunginger JW, Miller J, Bokhari R, Dull D (1989) Time course of appearance and disappearance of human mast cell tryptase in the circulation after anaphylaxis. J Clin Invest 83:1551-1555.
64. Selcow JE, Mendelson LM, Rosen JP (1980) Anaphylactic reactions in skin test-negative patients [letter]. J Allergy Clin Immunol 65:400.
65. Settipane GA, Boyd GK (1970) Prevalence of bee sting allergy in 4992 boy scouts. Acta Allergologica 25:286-291.
66. Simon MR, Weinstock JV (1985) Angiotensin II inhibition of mitogen- and antigen-induced human blood mononuclear cell thymidine uptake. J Clin Lab Immunol 18:141-144.
67. Skeggs LT, Kahn JR, Shumway NP (1956) The preparation and function of the hypertensin convertin enzyme. J Exp Med 103:295-299.

68. Skeggs LT, Marsh WH, Kahn JR, Shumway NP (1954) The existence of two forms of hypertension. *J Exp Med* 99:275-282.
69. Slater E, Merrill D, Guess H (1988) Clinical profile of angioedema associated with angiotensin converting-enzyme inhibition. *JAMA* 260:967-970.
70. Stephan V, Kuhr J, Urbanek R (1989) Relevance of basophil histamine release changes during venom immunotherapy. *Allergy* 44:453-459.
71. Swales JD, Heagerty AM (1987) Vascular renin-angiotensin system: the unanswered questions. *J Hypertens Suppl* 5:S1-S5.
72. Taugner R, Hackenthal E, Helmchen U, Ganten D, Kugler P, Marin GM, Nobiling R, Unger T, Lockwald I, Keilbach R (1982) The intrarenal renin-angiotensin-system. An immunocytochemical study on the localization of renin, angiotensinogen, converting enzyme and the angiotensins in the kidney of mouse and rat. *Klin Wochenschr* 60:1218-1222.

73. Tigerstedt R, Bergman PG (1898) Niere und Kreislauf. Scand Arch Physiol 8:223-270.
74. Tschirschnitz v. M (1995) Veränderungen im Renin-Angiotensin-System bei Bienen- und Wespengiftallergikern während spezifischer Hyposensibilisierung. Dissertationsarbeit, Hamburg .
75. Tsicopoulos A, Tonnel AB, Vorng H, Joseph M, Wallaert B, Kusnierz JP, Pestel J, Capron A (1990) Lymphocyte-mediated inhibition of platelet cytotoxic functions during Hymenoptera venom desensitization: characterization of a suppressive lymphokine. Eur J Immunol 20:1201-1207.
76. Tunon-de LJ, Villanueva P, Marcos M, Taytard A (1992) ACE inhibitors and anaphylactoid reactions during venom immunotherapy [letter]. Lancet 340:908.
77. Urbanek R (1979) [Current concepts in the treatment of insect venom allergies]. Derm Beruf Umwelt 27:44-48.
78. Urbanek R, Kemeny DM, Richards D (1986) Sub-class of IgG anti-bee venom antibody produced during bee venom

immunotherapy and its relationship to long-term protection from bee stings and following termination of venom immunotherapy. Clin Allergy 16:317-322.

79. van der Linden PW, Hack CE, Poortman J, Vivie-Kipp YC, Struyvenberg A, van der Zwan JK (1992) Insect-sting challenge in 138 patients: relation between clinical severity of anaphylaxis and mast cell activation [see comments]. J Allergy Clin Immunol 90:110-118.
80. van-der-Klauw MM, Stricker BH, Herings RM, Cost WS, Valkenburg HA, Wilson JH (1993) A population based case-cohort study of drug-induced anaphylaxis. Br J Clin Pharmacol 35:400-408.
81. Waterhouse A, Oxon MD (1914) Bee-stings and anaphylaxis. Lancet 2:946.
82. Yang HM, Lohmeier TE (1993) Influence of endogenous angiotensin on the renovascular response to norepinephrine. Hypertension 21:695-703.

7. Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. J. Ring, Direktor der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Technischen Universität München, gilt mein aufrichtiger Dank für die Überlassung des Themas dieser Dissertationsschrift. Darüber hinaus möchte ich mich bei ihm für die lehrreichen und hervorragenden Vorlesungen bedanken, die mir während meines Promotionsstudiums eine wertvolle Ergänzung waren.

Bei Herrn PD Dr. K. Hermann möchte ich mich sehr herzlich für die außerordentliche Unterstützung bei der Realisierung der Promotion bedanken. Durch seine vielseitigen Anregungen und Hilfestellungen bei der Durchführung der Versuche und bei der Interpretation der Daten zeigte er mir den Umgang mit wissenschaftlichen Ergebnissen. Er war zu jeder Zeit zur Diskussion bereit und hat seine große Begeisterung für die Forschung auf mich übertragen können.

Mein Dank gilt auch Frau PD Dr. B. Eberlein-König. Ihre Bereitschaft diese Arbeit weiter zu unterstützen hat wesentlich zum weiteren Werdegang der Dissertation beigetragen.

Herrn Prof. Dr. B. Przybilla gilt besonderer Dank, für den klinischen Teil dieser Arbeit. Sein Engagement und Unterstützung trugen sowohl bei der Durchführung der Versuche, als auch bei der Interpretation der Ergebnisse entscheidend zum Gelingen der Arbeit bei.

8 Lebenslauf

Name: Annette Liebetrau, geb. Hirzebruch
Geburtsdatum: 16.09.1969
Geburtsort: Münster in Westfalen
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: verheiratet seit 29.09.1995
Kinder: Annika, geb. 29.10.1997
Sarah, geb. 28.10.1999
Florian geb. 02.05.2003
Eltern: Prof. Ulrich Hirzebruch, Hochschullehrer
Irmgard Hirzebruch, geb.Brökert, Hausfrau

Schulbildung: 1976-1980 Grundschule Albachten
1980-1982 Gymnasium in Münster
1982-1989 Gymnasium in Siegen, Abitur
Hochschule: 1989-1990 Studium der Physik und
Chemie an der
Universität Bielefeld
1990-1996 Studium der Medizin an der
Universität Mainz,
III.Staatsexamen 1996
1997-2000 Promotionsstudiengang an
der Technischen
Universität München

Approbation: 20.01.2005
Weiterbildung: seit 1998 regelmäßige Fortbildung
„Traditionelle Chinesische Medizin“

9. Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfaßt, andere als die von mir angegebenen Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe, und dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.