

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Klinische und paraklinische Charakterisierung von Erd-  
und Baumnussallergikern – die Bedeutung von sIgE und  
Mastzellmediatoren**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Charlotte Eisenmann

aus München

Datum der Promotion: 22.09.2017

## Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	2
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	5
<b>Tabellen- und Abbildungsverzeichnis</b> .....	6
<b>Abstrakt</b> .....	10
<b>Abstract</b> .....	12
<b>1. Einleitung</b> .....	14
1.1. Einführung zu Nahrungsmittelallergien.....	14
1.1.1 Pathomechanismus der IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergien....	15
1.1.2 Häufige Auslöser und Risikofaktoren.....	16
1.2. Klinische Aspekte der Nahrungsmittelallergien.....	17
1.2.1 Epidemiologie.....	17
1.2.2 Symptomatik.....	18
1.2.3 Diagnostik und ihre Grenzen.....	19
1.2.4 Therapie.....	20
1.3. Die Erd- und Baumnussallergie.....	22
1.3.1 Epidemiologie.....	22
1.3.2 Regionale Unterschiede der Allergikerprofile.....	23
1.3.3 Kreuzreaktionen zwischen den Nüssen.....	23
1.4. Erd- und Baumnüsse in der Nahrungsmittelindustrie.....	24
1.4.1 Botanische Grundlagen.....	24
1.4.2 De Verwendung von Erd- und Baumnüssen.....	25
1.5. Molekulare Allergologie.....	26
1.5.1 Relevante Proteinfamilien.....	26
1.5.2 Der Einsatz von rekombinant hergestellten Einzelallergenen.....	28
1.6. Biomarker allergischer Reaktionen.....	28
1.7. Die differenzierte Betrachtung der gemessenen Marker.....	29
1.7.1 Histamin.....	31
1.7.2 Tryptase.....	31
1.7.3 Cys-LTs.....	32
1.7.4 9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -PGF <sub>2</sub> .....	33
1.8. Zielsetzung.....	34

<b>2. Material und Methoden</b> .....	35
2.1. Probandenkollektiv.....	35
2.2. Screening-Untersuchung.....	38
2.2.1 Anamnesebogen.....	38
2.2.2 Blutentnahme.....	39
2.2.3 Skin Prick Test.....	39
2.3. Die doppelt blinde Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation.....	40
2.3.1 Ablauf.....	40
2.3.2 Die Zusammensetzung der Provokationsmahlzeit.....	41
2.3.3 Reaktionsmanagement.....	42
2.4. Laboranalysen.....	42
2.4.1 Messung des IgE.....	42
2.4.2 Bestimmung der Biomarker.....	43
2.5. Auswertung und Grafiken.....	43
<b>3. Ergebnisse</b> .....	45
3.1. Anamnestische Angaben.....	45
3.1.1 Identifikation der Probanden und Unterteilung in Gruppen.....	46
3.1.2 Alters- und Geschlechtsverteilung.....	46
3.1.3 Atopische Begleiterkrankungen.....	46
3.1.4 Die anamnestisch geschilderte Symptomatik.....	47
3.2. Skin Prick Test.....	48
3.2.1 Anzahl an positiven Testergebnissen.....	48
3.2.2 Vergleich von nativer Erdnuss und Erdnuss-Extrakt als Allergenquelle.....	49
3.3. Identifikation und Klassifikation der Nahrungsmittelallergiker mittels DBPCFC.....	50
3.3.1 Ergebnisse der durchgeführten Provokationen.....	50
3.3.2 Vergleich des bei der DBPCFC beobachteten mit dem anamnestisch geschilderten Schweregrad.....	50
3.3.3 Vergleich der bei der DBPCFC beobachteten mit der anamnestisch geschilderten Symptomatik.....	52
3.3.4 Korrelation des bei der DBPCFC festgestellten Schweregrades mit dem SPT-Ergebnis.....	52
3.4. Analyse des spezifischen IgE.....	52

3.4.1	Deskriptive Statistik	51
3.4.2	Korrelation der sIgE-Werte mit der Quaddelgröße im SPT	55
3.4.3	Korrelation der sIgE-Werte mit dem bei der DBPCFC festgestellten Schweregrad	60
3.5.	Biomarker	64
3.5.1	Deskriptive Statistik	64
3.5.2	Die Entwicklung der Plasmaspiegel der Biomarker im Verlauf der DBPCFC	66
3.5.3	Korrelation der Biomarker untereinander	68
3.5.4	Korrelation der Biomarker mit dem bei der DBPCFC festgestellten Schweregrad	68
3.5.5	Receiver Operating Characteristic	70
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>72</b>
4.1.	Die doppelt blinde Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation – die kritische Betrachtung von Durchführung und Auswertung	72
4.2.	Die Bedeutung des spezifischen IgE	74
4.2.1	Überblick und Datenvergleich	74
4.2.2	Möglichkeiten und Limitationen im klinischen Alltag	78
4.3.	Die Bedeutung der gemessenen Biomarker	79
4.3.1	Histamin	79
4.3.2	Tryptase	82
4.3.3	Cys-LTs	85
4.3.4	9 $\alpha$ -,11 $\beta$ -PGF <sub>2</sub>	86
4.3.5	Weitere Biomarker in der aktuellen Forschung	88
4.4.	Schwächen der Untersuchung	89
4.4.1	Probandenrekrutierung	89
4.4.2	Der Umgang mit den Blutproben	91
4.5.	Fazit und Ausblick	91
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>93</b>
	<b>Eidesstattliche Versicherung</b>	<b>101</b>
	<b>Anteilerklärung an Publikationen</b>	<b>102</b>
	<b>Lebenslauf</b>	<b>103</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>105</b>
	<b>Anhang</b>	<b>106</b>

## Abkürzungsverzeichnis

°C:	Grad in Celsius
5-LO:	5-Lipoxygenase
AUC:	area under the curve
CCD:	cross-reactive carbohydrate determinant
COX:	Cyclooxygenase
CRD:	component resolved diagnostic
Cys-LTs:	Cysteinyl-Leukotriene
DBPCFC:	double-blind placebo-controlled food challenge
DGAKI:	Deutsche Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie
EAACI:	European Association of Allergy and Clinical Immunology
FLAP:	five-lipoxygenase activating protein
HWZ:	Halbwertszeit
IgE:	Immunglobulin E
LMIV:	Lebensmittelinformationsverordnung
LT:	Leukotrien
LTP:	lipid transfer protein
MW:	Mittelwert
NMA:	Nahrungsmittelallergie
NORA:	network of severe allergic reactions
OAS:	orales Allergiesyndrom
PAF	Plättchen aktivierender Faktor
PG:	Prostaglandin
PR-10:	pathogenesis-related protein 10
ROC:	receiver operating characteristic
RK:	Rhinokonjunktivitis
r <sub>s</sub> :	Korrelationskoeffizient nach Spearman
SD:	Standardabweichung ( <i>englisch: standard derivation</i> )
slgE:	spezifisches Immunglobulin E
SPT:	skin prick test
SRS-A:	slow reacting substance of anaphylaxis
TNF	Tumor Nekrose Faktor

**Tabellen- und Abbildungsverzeichnis**

Tab. 1	Die häufigsten Auslöser von Nahrungsmittelallergien [4, 10, 11].....	16
Tab. 2	Spannweite der Prävalenzangaben zur Nahrungsmittelallergie in Europa von 2001-2016 [18].....	17
Tab. 3	Typische Symptome einer allergischen Typ-I-Reaktion [3, 5, 7].....	18
Tab. 4	Informationen zu den verwendeten Erd- und Baumnüssen [5, 52, 53].....	24-25
Tab. 5	Die Allergene von Haselnuss, Erdnuss und Walnuss und ihre Proteinfamilien [46, 49, 55, 57-60].....	27
Tab. 6	Die Grundeigenschaften der gemessenen Biomarker [25, 70-76]....	30
Tab. 7	Schweregradskala zur Klassifizierung allergischer Reaktionen, modifiziert nach Ring&Messmer [91].....	37
Tab. 8	Symptome allergischer Reaktionen.....	38
Tab. 9	Panel der gemessenen IgE-Werte [Thermo Fisher Scientific (Freiburg, Deutschland)].....	42
Tab. 10	Einteilung der Probanden nach dem anamnestisch ermittelten Schweregrad ihrer Reaktion.....	45
Tab. 11	Die Geschlechtsverteilung innerhalb der Gruppen.....	46
Tab. 12	Die atopischen Begleiterkrankungen innerhalb der Gruppen.....	47
Tab. 13	Das Vorkommen der geschilderten Symptomkomplexe innerhalb der Gruppen.....	47
Tab. 14	Die Anzahl an positiven Ergebnisse im SPT mit Erd- und Baumnüssen.....	48
Tab. 15	Die Anzahl an positiven Ergebnisse im SPT mit Atopenen.....	48
Tab. 16	DBPCFCs – Aufteilung nach Testergebnis und getesteter Nuss.....	50
Tab. 17	Vergleich der Schweregrade aus Anamnese und DBPCFC.....	51
Tab. 18	Anzahl der gemessenen erhöhten Werte beim sIgE gegenüber Haselnuss-Extrakt und –Einzelkomponenten ( <i>A = Einteilung nach Anamnese, D = Einteilung nach DBPCFC bzw. gesicherter klinischer Vorgeschichte, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung</i> ).....	53
Tab. 19	Anzahl der gemessenen erhöhten Werte beim sIgE gegenüber Erdnuss-Extrakt und –Einzelkomponenten ( <i>A = Einteilung nach Anamnese, D = Einteilung nach DBPCFC bzw. gesicherter klinischer Vorgeschichte, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung</i> ).....	54
Tab. 20	Anzahl der gemessenen erhöhten Werte beim sIgE gegenüber Walnuss-Extrakt und –Einzelkomponenten ( <i>A = Einteilung nach Anamnese, D = Einteilung nach DBPCFC bzw. gesicherter</i>	

	<i>klinischer Vorgeschichte, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung</i> ).....	54
Tab. 21	Anzahl der gemessenen erhöhten Werte beim sIgE gegenüber den anderen Baumüssen ( <i>A = Einteilung nach Anamnese, D = Einteilung nach DBPCFC bzw. gesicherter klinischer Vorgeschichte</i> ).....	55
Tab. 22	Sensitivität und Spezifität des sIgE gegenüber Haselnuss bei einem Schwellenwert von 0,35 kU/L.....	62
Tab. 23	Sensitivität und Spezifität des sIgE gegenüber Erdnuss bei einem Schwellenwert von 0,35 kU/L.....	62
Tab. 24	Mittelwert (MW), Median und Standardabweichung SD der Serumlevel der Biomarker zu den einzelnen Messpunkten.....	65
Tab. 25	Der Vergleich von Sensitivität, Spezifität und Schwellenwert des sIgE gegenüber Ara h 2 in verschiedenen Publikationen.....	77
Tab. 26	Eine Auswahl an Publikationen, bei denen Histaminwerte im Rahmen einer allergischen Reaktion gemessen wurden. <i>MW = Mittelwert</i> .....	81-82
Tab. 27	Eine Auswahl an Publikationen, bei denen Tryptasewerte im Rahmen einer allergischen Reaktion gemessen wurden. <i>MW = Mittelwert</i> .....	83-85
Abb. 1	Einteilung von Nahrungsmittelunverträglichkeiten, modifiziert nach Ring et. al.[1]. Die in der vorliegenden Arbeit behandelten Unverträglichkeiten sind grau hinterlegt.....	14
Abb. 2	Entstehung einer Typ-I-Allergie, modifiziert nach Plewig et al. [2,4].....	15
Abb. 3	Die im Rahmen der Testungen verwendeten Erd- und Baumüsse; für die Beschriftungen d. Tab. 4.....	24
Abb. 4	Vereinfachte Darstellung der Mastzell-Aktivierung: sIgE bindet an seinen spezifischen Rezeptor FcεRI. In Anwesenheit des spezifischen Antigens aggregieren diese Komplexe und setzen diverse Signalkaskaden in Gang, die sowohl zur Degranulation und zur Ausschüttung präformierter Mediatoren, als auch zur Neubildung und konsekutiven Freisetzung anderer Mediatoren (nähere Ausführungen s. Text) führt ( <i>Ca<sup>2+</sup> = Kalzium, PAF = Plättchen aktivierender Faktor, NO = Stickstoffmonoxid, NGF = Nerven-Wachstumsfaktor, VEGF = vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor, SCF = Stammzellefaktor, GM-SCF = Granulozyten-Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor, IL = Interleukin, TNF = Tumor Nekrose Faktor, ENA = epitheliales aktiviertes Peptid, CCL = CC-Chemokin-Ligand</i> ).....	29
Abb. 5	Vereinfachte Darstellung des Leukotrien-Stoffwechsels [80, 81].....	32
Abb. 6	Vereinfachte Darstellung des Prostaglandin D2-Stoffwechsels [72, 78].....	34
Abb. 7	Flussdiagramm der Datenerhebung.....	35

Abb. 8	Die Altersverteilung innerhalb der Gruppen.....	46
Abb. 9	Anzahl an positiven Ergebnissen im SPT mit nativer Erdnuss und mit Erdnuss-Extrakt .....	49
Abb. 10	Korrelation der Quaddel-Durchmesser aus dem SPT mit der nativen Erdnuss und dem Erdnuss-Extrakt.....	49
Abb. 11	Korrelation des anamnestisch angegebenen mit dem bei der DBPCFC festgestellten Schweregrad .....	51
Abb. 12	Vergleich der Symptomkomplexe aus Anamnese ("A", erste Säule) und DBPCFC ("P", zweite Säule). <i>Muc=Mucosal, oRT=oberer Respirationstrakt, uRT= unterer Respirationstrakt, GIT=Gastrointestinaltrakt, HKS=Herz-Kreislauf-System.</i> Die Symptomkomplexe sind in Tab. 8 im Kapitel 2.2.1 beschrieben.....	51
Abb. 13	Korrelation von SPT-Quaddelgröße und dem bei der DBPCFC festgestelltem Schweregrad .....	52
Abb. 14	Korrelationen der Haselnuss-sIgE-Werte mit den Quaddelgrößen im SPT mit nativer Haselnuss ( <i>die blaue durchgezogene Linie ist die lineare Anpassungslinie der Gleichung, die gestrichelte Linie zeigt den Schwellenwert von 0,35 kU/L an</i> ).....	56
Abb. 15	Korrelationen der Erdnuss-sIgE-Werte mit den Quaddelgrößen im SPT mit nativer Erdnuss ( <i>die blaue durchgezogene Linie ist die lineare Anpassungslinie der Gleichung, die gestrichelte Linie zeigt den Schwellenwert von 0,35 kU/L an</i> ).....	58
Abb. 16	Korrelationen der Erdnuss-sIgE-Werte mit den Quaddelgrößen im SPT mit Erdnuss-Extrakt ( <i>die blaue durchgezogene Linie ist die lineare Anpassungslinie der Gleichung, die gestrichelte Linie zeigt den Schwellenwert von 0,35 kU/L an</i> ).....	59
Abb. 17	Korrelation des sIgE gegenüber Haselnuss mit dem bei der DBPCFC festgestellten Schweregrad ( <i>die durchgezogene Linie ist die lineare Anpassungslinie der Gleichung, die gestrichelte Linie zeigt den Schwellenwert von 0,35 kU/L an</i> ).....	61
Abb. 18	Korrelation des sIgE gegenüber Erdnuss mit dem bei der DBPCFC festgestellten Schweregrad ( <i>die durchgezogene Linie ist die lineare Anpassungslinie der Gleichung, die gestrichelte Linie zeigt den Schwellenwert von 0,35 kU/L an</i> ).....	63
Abb. 19	Messwerte der Biomarker zu den einzelnen Messzeitpunkten im Vergleich mit der Kontrollgruppe ( <i>die lilafarbene Linie stellt den Median dar</i> ).....	65
Abb. 20	Der prozentuale Vergleich der Entwicklung (Anstieg bzw. Abfall) der Serumspiegel der Biomarker von T1 bis T2.....	67
Abb. 21	Der prozentuale Vergleich der Entwicklung (Anstieg bzw. Abfall) der Serumspiegel der Biomarker von T1 bis T3.....	67
Abb. 22	Die Zeitkurven der Serumwerte im Verlauf der DBPCFC ( <i>n.s. = nicht signifikant</i> ).....	68



Abb. 23	Histamin-Werte zu den Mess-Zeitpunkten T1, T2 und T3 in Relation zum Schweregrad der Reaktion in der DBPCFC ( <i>n.s.</i> = <i>nicht signifikant</i> ).....	69
Abb. 24	Tryptase-Werte zu den Mess-Zeitpunkten T1, T2 und T3 in Relation zum Schweregrad der Reaktion in der DBPCFC ( <i>n.s.</i> = <i>nicht signifikant</i> ).....	69
Abb. 25	Cys-LTs-Werte zu den Mess-Zeitpunkten T1, T2 und T3 in Relation zum Schweregrad der Reaktion in der DBPCFC ( <i>n.s.</i> = <i>nicht signifikant</i> ).....	70
Abb. 26	9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -PGF <sub>2</sub> -Werte zu den Mess-Zeitpunkten T1, T2 und T3 in Relation zum Schweregrad der Reaktion in der DBPCFC ( <i>n.s.</i> = <i>nicht signifikant</i> ).....	70
Abb. 27	Receiver Operating Characteristics mit Darstellung der Area under the curve der einzelnen Marker zu den Messzeitpunkten T2 und T3 im Vergleich zum Basalwert T1.....	71
Kasten 1	Das Prinzip der Namensgebung für potentiell allergene Proteine [55].....	26
Kasten 2	Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme.....	36
Kasten 3	Die im SPT getesteten Allergene.....	39
Kasten 4	Formel zur Berechnung der Quaddelgröße im SPT.....	40
Kasten 5	Die Zusammensetzung des Basisbreis.....	41
Kasten 6	Die während der Untersuchung verfügbaren Notfallmedikamente und ihre Darreichungsform.....	42

## **Abstrakt**

### **Einleitung**

Nahrungsmittelallergien sind häufig. Die geschätzte Prävalenz in Europa liegt bei 0,2-4,2% mit steigender Tendenz. Die doppelt blinde Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation ist der Goldstandard für die Diagnose und Klassifizierung einer Nahrungsmittelallergie. Die Provokationen sind allerdings zeitaufwändig und mit einem Risiko für den Patienten behaftet. Zudem kann die korrekte Interpretation der Testung schwierig sein.

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob sich Mastzellmediatoren wie Histamin, Tryptase, cys-Leukotriene und  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> im Serum während einer positiven oralen Provokation verändern und ob sich eine Korrelation mit dem Schweregrad der Reaktion bestimmen lässt. Zusätzlich wurden die spezifischen IgE-Werte im Serum mit dem Schweregrad der Reaktion korreliert.

### **Material und Methoden**

Insgesamt wurden 40 doppelt blinde Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokationen bei Erd- und/oder Baumnussallergikern durchgeführt, wobei die Schwere der Reaktion angelehnt an die Skala von *Ring&Messmer* in drei Grade eingeteilt wurde. Blutentnahmen fanden unmittelbar vor der Testung (T1), 5-10 min nach der Reaktion (T2) und 2 h nach der Reaktion (T3) statt. Histamin (LDN, Nordhorn, Deutschland), cys-Leukotriene (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>) und  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> (beide Cayman Chemical, Ann Arbor, USA) wurden intern mit ELISA-Messungen bestimmt. Tryptase und sIgE wurden von Thermo Fisher Scientific (Freiburg, Deutschland) gemessen.

### **Ergebnisse**

Es konnte ein signifikanter Anstieg von Tryptase (N=14/19), cys-Leukotrienen (N=15/21) und  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> (N=16/20), aber nicht von Histamin (N=12/22), zum Zeitpunkt T2 bei als positiv bewerteten Provokationen gemessen werden. Eine Korrelation mit dem Schweregrad der Reaktion ließ sich nur bei den Tryptasewerten feststellen. Die sIgE-Analysen zeigten eine signifikante Korrelation mit dem Schweregrad für das sIgE gegenüber dem Erdnuss-Extrakt und den Speicherproteinen der Hasel-, Erd- und Walnuss.

### **Schlussfolgerung**

Um das Ergebnis einer Nahrungsmittelprovokation zu unterstützen, scheint die Messung der Mastzellmediatoren Tryptase, cys-LTs und  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> im Blut geeignet zu sein. Die Höhe des Anstieges der Serum-Tryptase ist mit dem Schweregrad der Reaktion assoziiert. Es gab jedoch auch Fälle mit schweren Reaktionen ohne eine messbare Erhöhung der Mediatoren. Durch die Messung von Histamin ergab sich in dieser Untersuchung kein diagnostischer Informationsgewinn.

Die Fragen, inwieweit der Anstieg der Marker hilfreich für die Einteilung des Schweregrades einer Reaktion sein kann, welche Marker-Kombination(en) zu den besten Ergebnissen führt und eine genaue zeitliche Analyse zur Bestimmung des optimalen Messzeitpunktes des jeweiligen Markers bleiben Gegenstand künftiger Studien.

Die sIgE-Messung liefert Informationen über das individuelle Sensibilisierungsmuster.

Vor allem bei der Messung des sIgE gegenüber Speicherproteinen finden sich Assoziationen zum Schweregrad der Reaktion. Für die korrekte Interpretation der Tests ist es essentiell, die Ergebnisse immer im Zusammenhang mit der klinischen Relevanz zu bewerten.

## **Abstract**

### **Introduction**

Food allergy is a common disease. The estimated prevalence in Europe ranges between 0,2-4,2% with an increasing trend. The double-blind placebo-controlled food challenge is the gold standard for the diagnosis and classification. However, these challenges are time consuming and bear a risk for the patient. Moreover, the interpretation can be difficult.

The aim of this study was to analyze if mast cell mediators like histamine, tryptase, cys-LTs and  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> in the serum change during a positive food challenge and if there is a correlation with the severity of the reaction. Additionally specific IgE-antibodies were correlated with the severity.

### **Methods**

40 oral challenges were performed on patients suffering from peanut and/or tree nut allergy. Reaction severity was divided in three severity grades by using a grading scale inspired by the one of *Ring&Messmer*. Blood samples were collected before DBPCFC (T1), 5-10 mins after the reaction (T2) and 2 h post-onset (T3). Histamine (LDN,Nordhorn, Germany), cys-LTs (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>) and  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> (both Cayman Chemical, Ann Arbor, USA) were internally determined by ELISA. Tryptase and sIgE were measured by Thermo Fisher Scientific (Freiburg, Germany).

### **Results**

A significant increase of tryptase, cys-LTs and  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub>, but not histamine, could be observed at the time point T2 in sera from patients with a positively rated food challenge. Only tryptase levels correlated significantly with the severity of the reaction.

As for sIgE, there was a significant correlation with the severity for sIgE against peanut-extract and the storage proteins of hazelnut, peanut and walnut.

### **Conclusion**

The measuring of tryptase, cysLTs and  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> in the peripheral blood seems to be suitable to support the result of a food challenge. The rise of tryptase values correlates with the severity of the reaction. However, there were severe reactions without a

measurable rise of the mediators. There was no gain of diagnostic information through the measurement of histamine.

Whether the total increase of the markers helps to predict the severity of a reaction, which marker combination(s) leads to optimal results and the determination of the optimal point in time for the measurement of the single markers needs to be assessed in future studies. The sIgE measurements provide information about the individual pattern of sensitization. The measuring of sIgE towards storage proteins can be associated with the severity of the reaction. Nevertheless, for the correct interpretation of the test it is essential that the results shall always be regarded in connection with the clinical relevance.

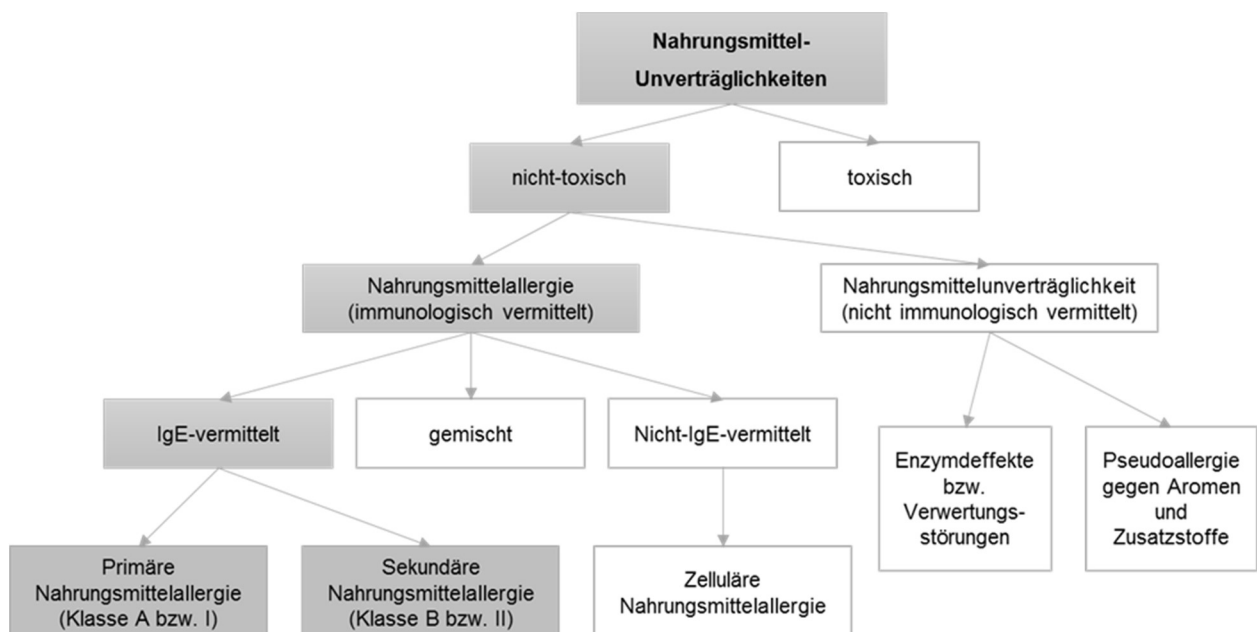
## 1. Einleitung

### 1.1. Einführung zu Nahrungsmittelallergien

Nahrungsmittel und Ernährung sind zentrale Themengebiete unserer Zeit und sind im Laufe der letzten Jahrzehnte ein fester Bestandteil von Kultur, Wirtschaft, Kunst und Geschichte geworden.

Aufgrund der Globalisierung und dem modernen Handel sind auch die internationale Verbreitung und somit die Vielfalt im Angebot an Nahrungsmitteln stark angestiegen.

Gepaart mit dem erhöhten Gesundheitsbewusstsein der Bevölkerung sind Nahrungsmittel und Nahrungsmittel-Unverträglichkeiten auch ein wichtiges Thema in der Medizin. Diese Monographie beschäftigt sich mit Immunglobulin E (IgE)-vermittelten Nahrungsmittelallergien (NMA) bei Erwachsenen mit dem Fokus auf Allergien gegenüber Erd- und Baumüssen (s. Abb.1).



**Abb. 1:** Einteilung von Nahrungsmittelunverträglichkeiten, modifiziert nach Ring et al. (1); die in der vorliegenden Arbeit behandelten Unverträglichkeiten sind grau hinterlegt

NMA sind auf immunologischen Mechanismen beruhende unerwünschte Reaktionen, die nach dem Kontakt mit einem Nahrungsmittel auftreten. Es handelt sich um IgE-vermittelte, allergische Reaktion vom Soforttyp (Typ I nach Coombs und Gell) (2). Die Stärke der Reaktion kann vom „oralen Allergiesyndrom“ (OAS), bestehend aus Juckreiz,

Kribbelgefühl der oralen Mukosa und/oder einem leichten Anschwellen von Lippen und Zunge bis hin zum anaphylaktischen Schock mit potentiell fatalem Ausgang reichen (3).

## 1.1.1 Pathomechanismus IgE-vermittelter Nahrungsmittelallergien

Die IgE-vermittelte NMA beruht auf einer überschießenden Immunreaktion des Körpers auf fremde Proteine. Es handelt sich um einen mehrstufigen Prozess mit einer Sensibilisierungs- und einer Auslösungs-Phase. Pathologisch spielt die Bildung von IgE-Antikörpern eine zentrale Rolle. Sie binden über den hochaffinen IgE-Rezeptor an Mastzellen. Ein erneuter Allergenkontakt bewirkt eine Quervernetzung der IgE/Rezeptor-Komplexen, woraufhin die Mastzellen degranulieren und ihre Mediatoren freisetzen (s. Abb. 2).

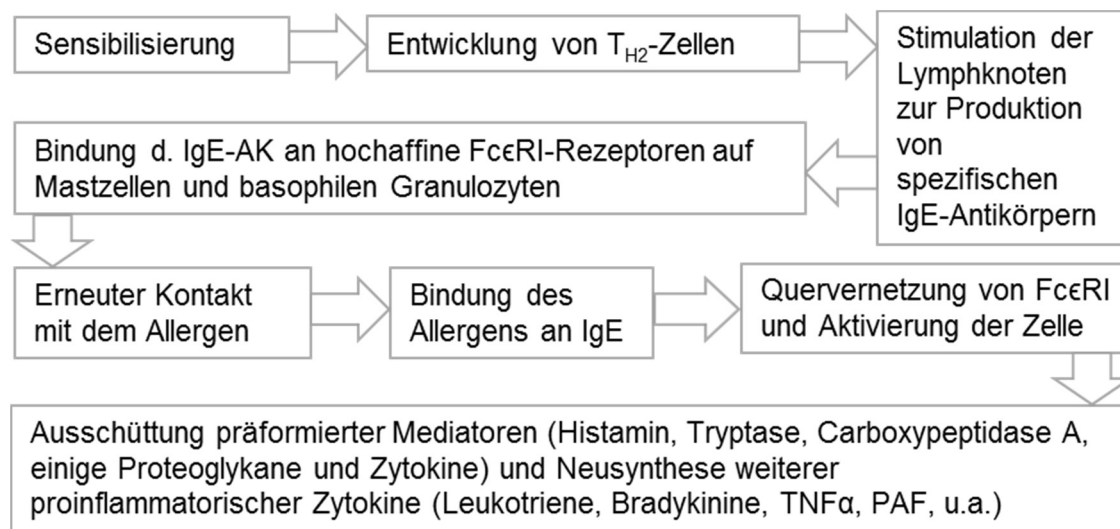


Abb. 2: Entstehung einer Typ-I-Allergie, modifiziert nach Plewig et al. (2, 4)

IgE-vermittelte NMA werden in primäre und sekundäre NMA unterteilt (s. Abb. 1).

Die primäre Sensibilisierung erfolgt nach oraler Aufnahme des Allergens über die Schleimhaut des Gastrointestinaltraktes (2). Auch eine Sensibilisierung über Hautkontakt, diaplazentare Sensibilisierung oder Sensibilisierung über die Muttermilch werden als Wege der primären Sensibilisierung diskutiert (5). Die sekundäre Sensibilisierung findet nicht über die Nahrungsmittel selbst, sondern über die Inhalation strukturell verwandter Pollenallergene und konsekutiver IgE-Bildung statt (2). Aufgrund der Homologie dieser Allergene zu bestimmten Nahrungsmittelallergenen können sie ebenfalls eine Reaktion auslösen. Das bekannteste Beispiel hierfür sind die sog. „pathogenesis-related“ (PR)-10-Proteine. Der Hauptvertreter dieser Gruppe, das

Birkenpollen-Majorallergen Bet v 1, kreuzreagiert mit den PR10-Proteinen zahlreicher Nahrungsmittel (6). Diese pollenassoziierten Kreuzreaktionen gegenüber Nahrungsmitteln fallen in der Regel mild aus und bleiben in >90% der Fälle auf ein OAS beschränkt (1, 3). Während bei Kindern die Prävalenz der primären NMA höher ist als die der sekundären (7), sind ca. 60% der NMA im Erwachsenenalter pollenassoziiert (2, 8).

### 1.1.2 Häufige Auslöser und Risikofaktoren

Es wurden bereits über 170 potentiell allergene Nahrungsmittel identifiziert, von denen in Europa vermutlich im Durchschnitt um die 24 relevant sind (9). Die häufigsten Nahrungsmittelallergene sind in Tab.1 dargestellt.

Tab. 1: Die häufigsten Auslöser von Nahrungsmittelallergien (4, 10, 11)

<b>Kinder</b>	Kuhmilch, Hühnereiweiß, Erd- und Baumnüsse, Soja, Fisch
<b>Erwachsene</b>	Früchte, Erd- und Baumnüsse, Weizen, Fisch, Meeresfrüchte

Während sich die Kuhmilch-, Soja-, Weizen- und Hühnereiweißallergie meist im Kindesalter entwickelt, kann eine Erd- und Baumnussallergie in jedem Lebensalter auftreten (3-5). Bei der Kuhmilch- und Hühnereiweiß-Allergie kommt es in 60-80% der Fälle im Laufe der Pubertät zu einer Toleranzentwicklung (3). Bei einer Erdnussallergie passiert das in 15-20% der Fälle, bei der Baumnussallergie nur in 8-9% (12-14).

Als Risikofaktoren für die Entwicklung einer NMA gelten Atopie in der Familie (3, 4), hoher Bildungsstand und hohes Einkommen (4), geringe Sonnenexposition, Vitamin D-Mangel und Übergewicht (3). In einer in Berlin durchgeführten epidemiologischen Studie war es die Gruppe von Frauen im Alter von 18-39 Jahren mit einem hohem Bildungsstand, in der die meisten Personen angaben, an einer NMA zu leiden (15).

Bei einigen Patienten kann die Reaktion durch Kofaktoren ausgelöst bzw. verstärkt werden. Man geht davon aus, dass bei 43% der anaphylaktischen Reaktionen Kofaktoren eine Rolle spielen (16). Das bekannteste Beispiel hierfür ist die sog. anstrengungsinduzierte nahrungsmittelabhängige Anaphylaxie, die vor allem in Verbindung mit einer Weizenallergie, aber auch mit Allergien gegen Erd- und Baumnüsse auftritt (17). Weitere mögliche Kofaktoren sind Infektionen, Menstruation, Medikamente (z.B. NSAR) und Alkoholabusus (2-4). Da das Vorhandensein von Kofaktoren teilweise schwer nachzuvollziehen ist, ist eine sorgfältige Anamnese und ggf. der Miteinbezug der Faktoren in einer Provokationstestung wichtig für die korrekte Diagnosestellung.



## 1.2. Klinische Aspekte der Nahrungsmittelallergie

### 1.2.1 Epidemiologie

#### *Allergische Reaktionen auf Nahrungsmittel*

Es gibt zahlreiche Studien zur Prävalenz von NMA. Die epidemiologische Datenerhebung ist dennoch schwierig, da die Analysen selten nach einem standardisierten Protokoll durchgeführt wurden (4). Die Tatsache, dass teilweise immunologische und nicht-immunologische Reaktionen nicht voneinander abgegrenzt wurden, sowie die große Diskrepanz zwischen der von Patienten angegebenen und der ärztlich bestätigten NMA erschweren den Datenvergleich (18).

Grabenhenrich et al. führten eine Analyse von europäischen Prävalenzstudien der letzten 25 Jahre durch (18). Die ermittelten Spannweiten für die Prävalenz von NMA sind in Tab. 2 zusammengefasst. Laut der europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit liegt die Prävalenz von NMA in Europa derzeit bei 1,0% (19).

In Deutschland liegt die Lebenszeitprävalenz für NMA nach einer 2013 vom Robert-Koch-Institut durchgeführten Analyse zwischen 4,1-5,4% (20).

#### *Anaphylaktische Reaktionen auf Nahrungsmittel*

Nahrungsmittel sind bei Kindern der häufigste und bei Erwachsenen nach Insektengiften der zweithäufigste Auslöser einer anaphylaktischen Reaktion (21). Die weltweite Prävalenz von anaphylaktischen Reaktionen im Allgemeinen liegt schätzungsweise bei 0,1-3,0% (17). Mit dem europäischen Anaphylaxie-Register (engl.: network of severe allergic reactions, NORA) wurde 2011 ein Online-System zur Dokumentation anaphylaktischer Reaktionen eingerichtet. In einem 2014 erschienenen Bericht umfasste das Register 3333 Fälle, von denen mindestens 793 durch Nahrungsmittel bedingt waren (10).

#### *Fatale Reaktionen auf Nahrungsmittel*

Fatalitäten aufgrund von einer allergischen Reaktion auf Nahrungsmittel sind selten, aber möglich. Das höchste Risiko hierfür haben Patienten, die unter (allergischem) Asthma bronchiale leiden (22). Laut Umasunthar et al. liegt die weltweite Inzidenz von fatalen

Tab. 2: Spannweite der Prävalenzangaben zur Nahrungsmittelallergie in Europa von 2001-2016 (18)

Diagnose aufgrund von	Prävalenzangaben in Europa [%]
Selbstreport	5,7 – 61,6
Ärztliche Diagnose	0,2 – 4,2
DBPCFC	0,0 – 2,2

Reaktionen auf ein Nahrungsmittel bei 1,81 pro eine Million Nahrungsmittelallergiker pro Jahr, wobei am häufigsten die Altersgruppe der 0-19-jährigen (3,25 pro Million Nahrungsmittelallergiker pro Jahr) betroffen ist (23). In der Datensammlung des NORA wurden bis November 2015 sieben fatale Fälle durch eine NMA (dreimal Erdnuss, einmal Haselnuss, zweimal Kuhmilch, einmal Schnecken) registriert (10, 17). Die tatsächliche Anzahl von fatalen Reaktionen ist vermutlich höher, da eine anaphylaktische Reaktion post mortem nicht immer eindeutig festgestellt werden kann (24) und da nicht alle Fälle an die für die epidemiologische Datenerhebung zuständigen Tertiär-Zentren gemeldet werden (23).

### 1.2.2 Symptomatik

Die Symptome einer allergischen Reaktion betreffen vor allem Organsysteme, in denen gehäuft Mastzellen vorkommen (s. Tab. 3) (25). Untersuchungen von Patienten mit anaphylaktischen Reaktionen zeigen, dass am häufigsten (in ca. 84% der Fälle) die Haut betroffen ist, gefolgt von den respiratorischen (66%) und kardiovaskulären (63%) Systemen und dem Gastrointestinaltrakt (39%) (10, 22, 26).

Tab. 3: Typische Symptome einer allergischen Typ-I-Reaktion (3, 5, 7)

Organsystem	Symptombeispiele
<b>Haut</b>	Juckreiz, Flush, Erythem, Exanthem, Ekzem, Urtikaria, Angioödem
<b>Schleimhaut</b>	Juckreiz, Taubheitsgefühl, Rötung, Schwellung, Blasenbildung
<b>Augen</b>	Juckreiz, Tränen, konjunktivale Injektionen, periorbitales Ödem
<b>Gastrointestinaltrakt</b>	Dysphagie, Übelkeit, Erbrechen, Schmerzen/Krämpfe, Flatulenz, Durchfall
<b>Respiratorisches System</b>	Schnupfen, thorakales Engegefühl, Stridor, Giemen, Husten, Heiserkeit, Dyspnoe, Bronchokonstriktion, Atemstillstand
<b>Herz-Kreislauf-System</b>	Schwindel, Kopfschmerzen, Hypotension, Tachykardie, Vigilanzminderung, Synkope, Kreislaufstillstand

Meist treten die Symptome bei einer Anaphylaxie sofort bis wenige Minuten nach dem Verzehr des Auslösers auf. Sie können sich aber auch mit einer Latenz von ein bis zwei, in seltenen Fällen sogar bis zu 12 Stunden entwickeln (3, 10). Auch undulierende Verläufe mit schweren Reaktionen nach anfänglicher Besserung wurden beschrieben

(10, 27). Deshalb ist nach einer schweren allergischen Reaktion eine engmaschige Überwachung der Vitalparameter für mindestens 24h erforderlich (7).

Die Reaktionsstärke einer Anaphylaxie kann sich bei den Betroffenen im Verlauf verändern: Nur ca. 21% der Folgereaktionen gleichen der Primärreaktion (10). Eine Zunahme kann durch Kofaktoren (s. Kap. 1.1.2) bedingt sein, eine Abnahme durch sog. „host compensation“ (2, 4, 10, 28). Dies ist ein Überbegriff für immunologische, endokrine und vaskuläre Schutzreflexe (z.B. eine vermehrte endogene Katecholamin-Produktion), die in manchen Fällen aktiviert werden können. Die genauen Mechanismen dieser Schutzreflexe sind Gegenstand aktueller Forschung (28).

Oftmals ist die Veränderung in der Reaktionsstärke jedoch unklarer Genese.

### **1.2.3 Diagnostik und ihre Grenzen**

Die Diagnose einer NMA kann mit starken Einschränkungen im Alltag und einer Verminderung der Lebensqualität einhergehen, so dass sie erst nach einer eingehenden klinischen Prüfung gestellt werden sollte (29). Zur Diagnose einer NMA liegen aktuelle Leitlinien der Europäischen Akademie für Allergologie und klinische Immunologie (EAACI) und der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAKI), die in Zusammenarbeit mit dem Ärzteverband deutscher Allergologen und der Gesellschaft für pädiatrische Allergologie entstanden sind, vor (7, 26). Die Bausteine der allergologischen Diagnostik sind im Folgenden aufgeführt.

#### *Anamnese*

Bei einer Unverträglichkeitsreaktion nach dem Verzehr eines Nahrungsmittels ist eine ausführliche Eigen- und Fremdanamnese notwendig. Das Führen eines Ernährungstagebuchs inkl. der Dokumentation von potentiellen Kofaktoren ist sinnvoll, um den/die Auslöser einzugrenzen (2, 7).

#### *In-vivo-Testungen*

Die gängige in-vivo-Methode zur Diagnostik einer NMA ist der sog. „skin-prick-test“ (SPT) (1). Die Testung kann entweder mit dem nativen Nahrungsmittel oder mit einem kommerziell hergestellten Extrakt durchgeführt werden. Aufgrund der Instabilität einiger allergener Komponenten sowie der z.T. fehlenden Standardisierung der Extrakte wird bei einigen Nahrungsmitteln die native Testung bevorzugt (30).

Der SPT hat eine hohe Sensitivität und einen negativen prädiktiven Wert von >90% (3), aber einen positiven prädiktiven Wert von nur ca. 50% (31). Daher muss die klinische

Relevanz der im SPT nachgewiesenen Sensibilisierung in die Auswertung der Ergebnisse immer miteinbezogen werden. Kontraindikationen sind schwerste anaphylaktische Reaktionen in der Vorgeschichte oder eine gestörte Hautbarriere (z.B. beim akuten atopischen Ekzem) (7).

Der Intrakutantest und der Patch-Test werden bei der NMA-Diagnostik aufgrund der fehlenden Standardisierung nicht empfohlen (3, 22, 30).

### *In-vitro-Testungen*

Die Messung von IgE-Antikörpern im Patientenserum kann in manchen Fällen wichtige Hinweise auf die Art der Sensibilisierung liefern. Die Messung von anderen Parametern im Blut von Patienten als Biomarker allergischer Reaktionen ist Gegenstand der aktuellen Forschung. Auf beide Methoden wird in den Kapiteln 1.5. und 1.6. genauer eingegangen.

### *Orale Provokationen*

Der Goldstandard der NMA-Diagnostik ist die doppelt blinde Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation (engl.: double-blind placebo-controlled food challenge, DBPCFC). Sie wird eingesetzt, um den Verdacht auf eine NMA zu bestätigen und den Schweregrad der Reaktion zu bestimmen. Nachteile dieser Methode sind der hohe Zeitaufwand und das potentielle Risiko für den Patienten.

Offene Provokationen können durchgeführt werden, um nach negativen SPT und/oder einer negativen IgE-Bestimmung eine Toleranz zu bestätigen (3).

### *Weitere diagnostische Verfahren*

Zelluläre Laborverfahren, wie z.B. der Histamin-Release-Test, der Leukotrienfreisetzungstest, der Lymphozytenstimulationstest oder der Basophilenaktivierungstest sind nur bedingt zur Diagnose einer NMA geeignet und werden zum heutigen Zeitpunkt vor allem zu Forschungszwecken eingesetzt (22).

Die Kombination von in-vivo- und in-vitro-Methoden erhöht Sensitivität und Spezifität (31) und ist daher sinnvoll, bietet jedoch (noch) keine Alternative zur DBPCFC. Regelmäßige Folgeuntersuchungen mit wiederholter Durchführung von SPT und IgE sind zu empfehlen, um die Entwicklung der NMA zu verfolgen (3).

## **1.2.4 Therapie**

Die effektivste Methode zur Vermeidung einer Reaktion bei der NMA ist die absolute Karenz des allergenen Nahrungsmittels (4, 11). Hierfür ist eine Ernährungsberatung

sinnvoll. Des Weiteren sollte eine ausführliche Aufklärung von Patienten und Angehörigen über das Vorkommen des Auslösers in Alltagssituationen (z.B. in Restaurants, auf Feiern o.ä.) erfolgen (3, 14). Seit 2011 ist in der Europäischen Union die Lebensmittelinformationsverordnung (LMIV) 1169/2011 gültig. Sie enthält 14 deklarationspflichtige Nahrungsmittel, deren Kennzeichnungspflicht seit 2014 auch auf unverpackte Waren ausgeweitet wurde (32).

Die medikamentöse Therapie der NMA bezieht sich hauptsächlich auf die symptomatische Behandlung von Akutsituationen. Hierbei werden folgende Substanzen eingesetzt:

### *Antihistaminika*

Durch einen inversen Agonismus am Histamin-H1-Rezeptor bewirken die klassischen Antihistaminika eine Minderung einiger der für eine allergische Reaktion typischen Symptome, vor allem an Haut und Schleimhaut (4).

Antihistaminika wirken allerdings nicht bei respiratorischen oder kardiovaskulären Beschwerden. Deshalb reichen sie nicht aus, um eine anaphylaktische Reaktion zu therapieren (4). Zudem können sie frühe Symptome verschleiern und somit den Einsatz lebensrettender Maßnahmen verzögern (7).

### *Glucocorticoide*

Glucocorticoide blockieren die Neusynthese proinflammatorischer Mediatoren, sind effektiv gegen Asthma und wirken in hohen Dosen membranstabilisierend (1, 7). Sie werden aufgrund ihres verzögerten Wirkeintritts vor allem zur Prävention von Spätreaktionen eingesetzt (4).

### *Adrenalin*

Adrenalin bewirkt durch Agonismus an den adrenergen Rezeptoren ( $\alpha_1$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ) eine Kreislaufstabilisierung und wirkt der allergischen Symptomatik schnell entgegen. Deshalb ist es als intramuskuläre Injektion in den Musculus vastus lateralis laut den aktuellen Leitlinien das Mittel der Wahl bei einer anaphylaktischen Reaktion (2, 26). Eine möglichst frühe Adrenalingabe geht nachgewiesenermaßen mit einer verbesserten Prognose einher (5). Die Daten des NORA zeigen allerdings, dass die Empfehlungen der Leitlinie im klinischen Alltag nicht oft umgesetzt werden: Häufig werden an erster Stelle Antihistaminika und Glucocorticoide gegeben, bzw. selbst von den Patienten eingesetzt (17). Sowohl von Seiten der Patienten als auch der behandelnden Ärzten besteht Aufklärungsbedarf bezüglich der korrekten Anwendung der Adrenalin-Autoinjektoren.

Jeder Patient mit Verdacht auf NMA sollte mit einem medikamentösen Notfallset, bestehend aus einem oralen Antihistaminikum, einem oralen Glucocorticoid und einem Adrenalin-Autoinjektor, ausgestattet und in dessen Gebrauch geschult werden (26).

### *Weitere medikamentöse Therapiemöglichkeiten*

Versuchsweise werden der anti-IgE-Antikörper Omalizumab, Leukotrien-Antagonisten wie Montelukast und Mastzell-Stabilisatoren wie Cromoglycinsäure bei Anaphylaxie-Patienten eingesetzt. Hierfür lassen sich allerdings noch keine einheitlichen Empfehlungen abgeben (2, 7). In Studien werden derzeit die orale und die sublinguale spezifische Immuntherapie u.a. für Erd- und Haselnüsse getestet (3, 4). Vor allem bei Erdnuss konnten hier bereits erste Erfolge verzeichnet werden (33). Allerdings kam es unter der Therapie teilweise zu schweren systemischen Reaktionen und es fehlen bislang Daten zur langfristigen Wirksamkeit (2).

## **1.3. Die Erd- und Baumnussallergie**

### **1.3.1 Epidemiologie**

Die Angaben zur Prävalenz der Erdnussallergie beruhend auf Selbsteinschätzung und/oder ärztlicher Diagnose reichen von 0,5-3,0% (4, 34-36).

Prävalenzangaben auf Basis einer DBPCFC sind selten. Zwei bei Kindern durchgeführte Studien ergaben Prävalenzen von 1,5% und 1,6% (37, 38).

Für die Prävalenz von Baumnussallergien nach Selbsteinschätzung kann man in internationalen Metaanalysen der letzten Jahre Angaben zwischen 0,05-7,3% (bzw. bis 11,4% bei Einschluss von Patienten mit pollenassoziierter Baumnussallergie) finden (4, 35, 39, 40). Die Prävalenz der durch DBPCFC bewiesenen Allergie gegen Baumnüsse liegt bei <2,0% (40). Die Reaktionen bei der NMA gegenüber Erd- und Baumnüssen sind in der Regel stärker als bei einer NMA gegenüber anderen Nahrungsmitteln (4, 40).

Die Daten von NORA zeigen für Europa, dass Erdnüsse die häufigsten und Haselnüsse nach Weizen die dritthäufigsten Auslöser einer anaphylaktischen Reaktion gegenüber Nahrungsmitteln sind (10). Auch Macadamia- und Paranüsse wurden als seltene Auslöser von anaphylaktischen Reaktionen gefunden (17).

Erdnüsse gehören mit einem Anteil von 50-70% und Baumnüsse von 18-40% zu den häufigsten Auslösern einer NMA mit fatalem Ausgang (11, 40-42).

### 1.3.2 Regionale Unterschiede der Allergikerprofile

Aufgrund von Unterschieden der landesspezifischen Ernährungs-Gewohnheiten variiert die Häufigkeit von Erd- und Baumnussallergien weltweit (5). Von allen Baumnussallergien ist in Europa die Allergie gegen Haselnüsse am häufigsten, in den USA dominieren Walnuss und Cashew, in Großbritannien Walnuss und Paranuss (3, 4, 39, 43). Der Konsum von Erdnüssen ist in den USA, England und Australien sehr hoch, in Ländern wie Italien und Spanien eher niedrig (44). Dies spiegelt sich in der Prävalenz der Erdnussallergie wieder, die in den letztgenannten Ländern geringer ist.

Auch die Zubereitungsweise hat einen Einfluss, da die Verarbeitung und das Erhitzen der rohen Nüsse verschiedene chemische und physikalische Prozesse induziert, die die Struktur und damit das allergene Potential der einzelnen Proteine beeinflussen können (28, 45): In den USA werden Erdnüsse bei 150°C geröstet, in China bei 100°C gekocht oder bei 120°C frittiert (4). Während das Kochen von Erdnüssen deren allergenes Potential vermindert, führen die hohen Temperaturen beim Rösten zur Bildung neuer Epitope, wodurch sich das allergene Potential erhöht (3, 5). So hat China einen ähnlich hohen pro-Kopf-Konsum von Erdnüssen wie die USA, allerdings eine geringere Prävalenz der Erdnussallergie (4).

Im sIgE-Sensibilisierungsmuster lassen sich ebenfalls regionale Unterschiede erkennen (14, 46). Während im Mittelmeergebiet Sensibilisierungen gegenüber sog. Lipid-Transfer-Proteinen (LTPs) vorherrschen, sind in Nord- und Mitteleuropa eher Sensibilisierungen gegenüber PR10- und Speicherproteinen relevant (46).

### 1.3.3 Kreuzreaktionen zwischen Nüssen

Eine Monosensibilisierung gegenüber einer einzelnen Nuss kann vorkommen, ist aber selten. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Patient, der auf eine Baumnuss allergisch ist, auch auf mindestens eine weitere reagiert, liegt bei 30-40% (3, 4, 40). Dies kann an Ko- oder Kreuzsensibilisierungen liegen. Mit steigendem Lebensalter steigt bei Nussallergikern auch die Rate an klinisch relevanten Kreuzreaktionen (47).

Ein Grund für Kreuzsensibilisierungen zwischen Nüssen kann die botanische Verwandtschaft sein. So leiden z.B. 1/3 der Cashew-Allergiker auch an einer Allergie gegenüber der verwandten Pistazie (4, 48). Des Weiteren führt die Homologie von allergenen Proteinen zu Kreuzreaktionen, z.B. zwischen Haselnüssen und Mandeln (47, 49, 50).

Erd- und Baumnüsse gehören entwicklungsgeschichtlich zwar unterschiedlichen Pflanzenfamilien an, Kosensibilisierungen sind dennoch häufig (51). Von Personen mit einer Allergie gegenüber Erdnüssen sind 20-30% auch mindestens gegenüber einer Baumnuss allergisch (40), wobei die Wahrscheinlichkeit hierfür bei Atopikern deutlich höher ist, als bei Nicht-Atopikern (4).

## 1.4 Erd- und Baumnüsse in der Nahrungsmittelindustrie

### 1.4.1 Botanische Grundlagen

Nüsse im botanischen Sinne sind die Haselnuss, die Walnuss und die Macadamianuss (47). Eine Sonderform stellt die Erdnuss dar, die zur Familie der Leguminosen zählt (3). Sie war ursprünglich eine Hülsenfrucht, hat sich aber entwicklungsgeschichtlich zur Nuss gewandelt, da ihre Schale im Gegensatz zu echten Hülsenfrüchten im Laufe des



Abb. 3: Die im Rahmen der Testungen verwendeten Erd- und Baumnüsse; für die Beschriftungen s. Tab. 4

Reifungsprozesses geschlossen bleibt (52). Cashew, Pekannuss, Mandel und Pistazie sind Steinkerne einer Steinfrucht, die Paranuss der Samen einer Kapsel Frucht (47). Die in der vorliegenden Untersuchung verwendeten Sorten sind in Abb. 3 und Tab. 4 dargestellt.

Tab. 4: Informationen zu den verwendeten Erd- und Baumnüssen (5, 52, 53)

Nuss	lateinische Bezeichnung	Herkunft	Besonderheiten	Verwendung in der Naturheilkunde
<b>Erdnuss</b> (1)	<i>Arachis hypogaea</i>	Westafrika China Indien Amerika	Im Handel nur geröstet erhältlich, da sonst die Gefahr einer Schimmelpilzvergiftung besteht	-
<b>Haselnuss</b> (2)	<i>Corylus avellana</i>	Weltweite Verbreitung	Reich an Fett, Proteinen und Stärke Enthalten Flavonoide	Adstringens Antipyretikum Senkung des Cholesterinspiegels



<b>Walnuss</b> (3)	<i>Juglans regia</i>	Ost- und Mittel- europa  Asien	Reich an Proteinen, Mineralsalzen und Vit. A/B1/B2/B5  Enthalten Linolensäure und Tocopherole	Adstringens Antiseptikum Antidiabetikum Senkung des Cholesterinspiegels
<b>Pekannuss</b> (4)	<i>Carya illinoensis</i>	Nord- amerika	Gehören zur Familie der Walnussgewächse	-
<b>Macadamia</b> (5)	<i>Macadamia integrifolia</i>	Australien  Süd- amerika	Hoher Fettgehalt (~73%)  Reich an Calcium, Eisen, Phosphat und Vit. B	-
<b>Paranuss</b> (6)	<i>Bertholletia excelsa</i>	Süd- amerika	Reich an Fett, Proteinen und Mineralstoffen  Der lange, fleischige Fruchtstiel („Cashew_ - Apfel“) ist ebenfalls essbar	-
<b>Cashew</b> (7)	<i>Anacardium occidentale</i>	Tropische Klimazonen	Müssen vor der Weiterverarbeitung geröstet werden, da die Schale ein toxisches Öl enthält  Reich an Magnesium und Tryptophan	-
<b>Pistazie</b> (8)	<i>Pistacia vera</i>	Südeuropa Türkei Iran USA	Gehören zur gleichen botanischen Familie wie die Cashew-Nüsse	-
<b>Mandel</b> (9)	<i>Prunus dulcis</i>	v.a. Asien	Reich an Proteinen und Folsäure	Senkung des Cholesterinspiegels

#### 1.4.2 Die Verwendung von Erd- und Baumnüssen

Nüsse gelten aufgrund ihres hohen Anteils von ungesättigten Fettsäuren, essenziellen Aminosäuren, Spurenelementen und Vitaminen als gesunde Nahrungsmittel, die sich positiv auf Blutdruck, Cholesterinwerte und Muskelaufbau auswirken können (5, 53). 100 g Nuss haben je nach Sorte einen Brennwert zwischen 2000 und 3000 kJ (53). Nüsse können -entweder roh oder geröstet und gewürzt- im Ganzen verzehrt werden. Sie kommen auch in zerkleinerter oder gemahlener Form in diversen Süßspeisen oder als Würzmittel für Salziges vor (53). Kaltgepresstes Nussöl wird in der Speise-, aber auch in der Kosmetik- und Handwerksindustrie (z.B. als Basis für Farben) angewandt (52). Da in großen Produktionswerken verschiedenste Nahrungsmittel verarbeitet werden, enthalten prozessierte Nahrungsmittel (z.B. Schokolade, Kekse, Müsli, etc.) nicht selten

Spuren von Nüssen (5). Aufgrund der LMIV gehören Erd- und Baumnüsse zu den gesetzlich deklarationspflichtigen Nahrungsmitteln (7, 32). Die Angabe von möglichen Spuren auf dem Nahrungsmittletikett ist allerdings freiwillig (54).

### 1.5 Spezifisches IgE als diagnostisches Hilfsmittel

#### 1.5.1 Relevante Proteinfamilien

Innerhalb der letzten 40 Jahre wurden zahlreiche Typ I-Allergene identifiziert (49, 55).

Diese Allergene sind fast ausschließlich Proteine und können anhand ihrer Tertiärstruktur einer begrenzten Anzahl von Familien zugeordnet werden (55, 56).

Für NMA wurden bisher 27 relevante Proteinfamilien beschrieben (2), den größten Anteil machen hierbei die Samenspeicherproteine aus (5, 7). Allgemein werden die Proteine in Major- und Minor-

Die ersten drei Buchstaben des ersten Wortes der lateinischen Gattung  
+  
die ersten ein bis zwei Buchstaben des zweiten Wortes der lateinischen Gattung  
+  
Nummerierung nach Reihenfolge der Entdeckung

Z.B. heißen die Allergene der Haselnuss (lateinischer Name: „Corylus avellana“) Cor a 1, Cor a 2, etc.

**Kasten 1:** Das Prinzip der Namensgebung für potentiell allergene Proteine [55]

Allergene eingeteilt. Erstere sind dadurch definiert, dass sie bei >50% der betroffenen Allergiker eine Sensibilisierung auslösen (55). Die Benennung von Allergenen erfolgt nach dem im Kasten 1 beschriebenen Prinzip. Zwischen Proteinen der gleichen Molekülfamilie kann es aufgrund ihrer strukturellen und sequenziellen Ähnlichkeit zu Kreuzreaktionen kommen (56). Da viele Allergene Glykoproteine sind, kann die strukturelle Ähnlichkeit auch über die Familienangehörigkeit hinausgehen und auf sog. kreuzreaktiven Kohlenhydrat-Epitopen (cross-reactive carbohydrate determinants, CCDs) beruhen (57). Diese Kreuzreaktionen sind klinisch nicht relevant, führen aber zu falsch-positiven Ergebnissen und erschweren somit die korrekte Interpretation der Testung (7, 56).

In Tab. 5 sind die Proteinfamilien der bisher identifizierten und diagnostisch relevanten Allergene der Erdnuss („Ara h x“), der Haselnuss („Cor a x“) und der Walnuss („Jug r x“) und ihre Grundeigenschaften aufgeführt.

## 1. Einleitung

Tab. 5: Die Allergene von Haselnuss, Erdnuss und Walnuss und ihre Proteinfamilien (46, 49, 55, 57-60)

Familie	Eigenschaften	Reaktion	Allergene
<b>PR-10-Proteine</b>	Homologe des Birkenpollenmajorallergens Bet v 1	Symptomatik meist auf OAS beschränkt	Ara h 8
	Thermo- und säurelabil	Systemische Reaktionen selten	Cor a 1
<b>PR-14-Proteine (nsLTPs)</b>	Thermo- und säurestabil		Ara h 9
	Kreuzreaktionen untereinander sind häufig	Erhöhtes Risiko für systemische Reaktionen	Ara h 16
	Hauptallergen: Pfirsichprotein Pru p 3	Häufigste Auslöser von anaphylaktischen Reaktionen	Ara h 17
	Oft liegen Monosensibilisierungen vor V.a. in Südeuropa relevant Gastrointestinale Sensibilisierung		Cor a 8 Jug r 3
<b>Speicherproteine: - 11S-Globuline (Legumine) - 7S-Globuline (Viciline) - 2S-Albumine</b>	Höchster prozentualer Anteil am Gesamtprotein		Ara h 1 Ara h 2 Ara h 3 Ara h 5 Ara h 6
	Thermo- und säurestabil	Erhöhtes Risiko für systemische Reaktionen	Ara h 7
	Eine Sensibilisierung auf Speicherproteine spricht meist für eine primäre Sensibilisierung auf das Nahrungsmittel		Cor a 9 Cor a 11 Cor a 14
			Jug r 1 Jug r 2 Jug r 4
	Geringster prozentualer Anteil am Gesamtprotein		
	Thermo- und säurelabil	Selten klinisch relevant	Ara h 5
	Panallergene: ubiquitäres Vorkommen in Pollen und Nahrungsmitteln, oft verantwortlich für Kreuzreaktionen	Systemische Reaktionen nur in Einzelfällen	Cor a 2 Jug r 5
<b>Oleosine</b>	Lipophilie	Unklare klinische Relevanz	Ara h 10 Ara h 11 Ara h 14 Ara h 15
	In wässrigen Extrakten nicht vorhanden		Cor a 12 Cor a 13
<b>Defensine</b>	Proteine der unspezifischen Immunabwehr	Unklare klinische Relevanz	Ara h 12 Ara h 13

### **1.5.2 Der Einsatz von rekombinant hergestellten Einzelallergenen**

Das Wissen über die Molekülfamilien und die rasant wachsende Anzahl an verfügbaren Einzelallergenen bilden die Basis der molekularen Allergologie. Im Laufe der letzten 20 Jahre entwickelt, ermöglicht sie heute durch den Einsatz von rekombinant hergestellten Allergenen und ihren zugehörigen monoklonalen Antikörpern eine spezifische Diagnostik (55, 57). Durch die sog. „Komponenten-basierte Diagnostik“ (engl.: component-resolved diagnostic, CRD) kann eine Serumprobe von ca. 30 µl im Microarray auf >100 Einzelallergene getestet werden, um individuelle IgE-Profile und Sensibilisierungsmuster zu erstellen (2, 56, 57, 61). Es können Ein- oder Mehrfachtestungen vorgenommen werden. Außerdem werden Allergenmischungen als Ersatz von kommerziellen Extrakten eingesetzt (56). Eine weitere Anwendungsmöglichkeit ist das sog. „Spiken“, die Anreicherung von kommerziellen Extrakten mit relevanten Einzelallergenen. Die beiden letztgenannten Varianten erhöhen im Vergleich zum reinen Extrakt die Testempfindlichkeit (14, 62). Allerdings steigt hierdurch auch die falsch-positiv-Rate durch den vermehrten Nachweis irrelevanter Sensibilisierungen (6, 56).

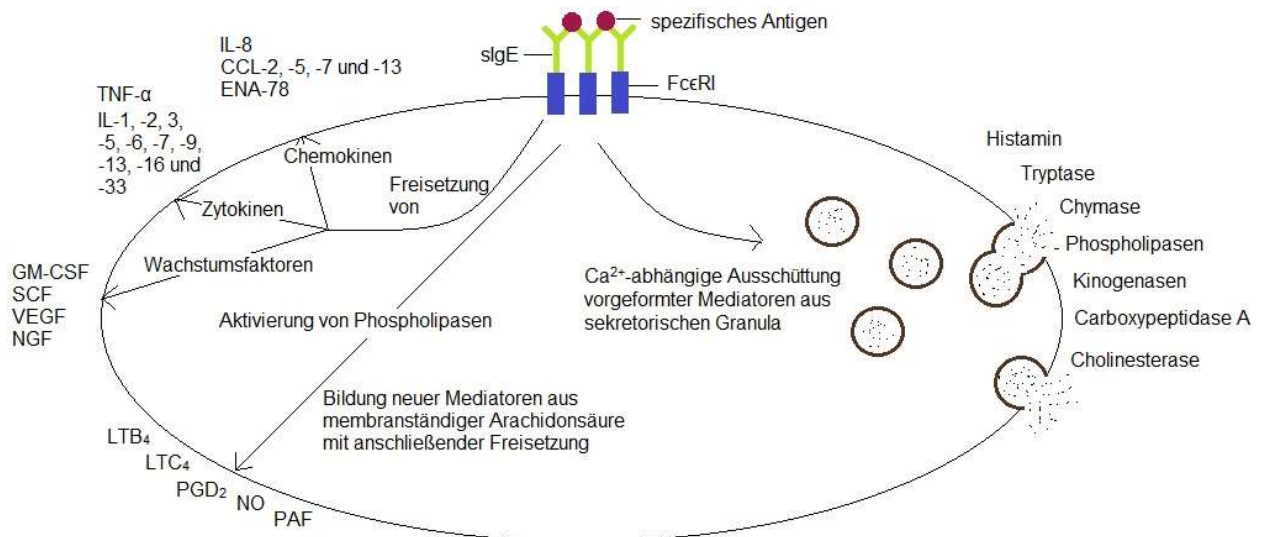
### **1.6 Biomarker allergischer Reaktionen**

Ein weiteres in der Diagnostik der NMA einsetzbares in-vitro-Verfahren ist die Bestimmung von Mediatoren, die im Zuge einer allergischen Reaktion im Körper freigesetzt werden. Dies wird zum heutigen Zeitpunkt vor allem im Rahmen von Forschungsprojekten und (noch) nicht im klinischen Alltag durchgeführt.

Durch die Bestimmung dieser Mediatoren und ihren Veränderungen im Laufe einer allergischen Reaktion erhofft man sich, die Art und den Schweregrad der Reaktion zu objektivieren und somit z.B. eine DBPCFC unabhängig von den Einschätzungen von Patient und Untersucher zu bewerten.

Die Symptome einer allergischen Reaktion beruhen auf dem Zusammenspiel zahlreicher Botenstoffe(63, 64). Es handelt sich vor allem um Mediatoren der Mastzell-Degranulation wie Prostaglandine (PGs), Leukotriene (LTs), Interleukine und andere proinflammatorische Zytokine (s. Abb. 4) (65). Neben Mastzellen sind auch basophile und eosinophile Granulozyten, dendritische Zellen, T-Zellen u.a. an der Symptomentstehung beteiligt (25). Die verschiedenen Mediatoren werden zu unterschiedlichen Zeitpunkten aus den Mastzellen freigesetzt. Einige Botenstoffe (z.B. Histamin und Tryptase) liegen in

## 1. Einleitung



**Abb. 4:** Vereinfachte Darstellung der Mastzell-Aktivierung: sIgE bindet an seinen spezifischen Rezeptor FcεRI. In Anwesenheit des spezifischen Antigens aggregieren diese Komplexe und setzen diverse Signalkaskaden in Gang, die sowohl zur Degranulation und zur Ausschüttung präformierter Mediatoren, als auch zur Neubildung und konsekutiven Freisetzung anderer Mediatoren (nähere Ausführungen s. Text) führt ( $Ca^{2+}$  = Kalzium, PAF = Plättchen aktivierender Faktor, NO = Stickstoffmonoxid, NGF = Nerven-Wachstumsfaktor, VEGF = vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor, SCF = Stammzellfaktor, GM-CSF = Granulozyten-Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor, IL = Interleukin, TNF = Tumor Nekrose Faktor, ENA = epitheliales aktiviertes Peptid, CCL = CC-Chemokin-Ligand)

den ruhenden Mastzellen in Vesikeln gespeichert vor und werden bei Aktivierung direkt ausgeschüttet (2). Andere werden neu gebildet (63): Z.B. nach 5-30 min, wie PGs und LTs oder nach 2-6 h wie TNF- $\alpha$  und Chemokine (25). Aufgrund der unterschiedlichen Halbwertszeiten (HWZ) variiert die Zirkulationsdauer der einzelnen Botenstoffe im peripheren Blut.

Nicht alle Botenstoffe kommen als Biomarker allergischer Reaktionen infrage. Folgende Bedingungen müssen erfüllt sein:

- Abgabe des Mediators in die periphere Blutbahn: Man geht z.B. bei TNF- $\alpha$  davon aus, dass es bei der allergischen Reaktion nur lokal an seinem Wirkungsort dem Respirationstrakt freigesetzt wird, was eine Bestimmung in Serum oder Urin unmöglich macht (63).
- Langsamer Metabolismus: Mediatoren mit einer sehr kurzen HWZ sind für den klinischen Alltag ungünstig.
- Ein etabliertes Verfahren zur in-vitro-Messung sollte vorhanden sein.

### 1.7 Die differenzierte Betrachtung der gemessenen Marker

Es wurde gezeigt, dass beinahe jeder IgE-abhängigen immunologischen Reaktion eine Aktivierung von Mastzellen zugrunde liegt (66-68). Daher ist es naheliegend, die

## 1. Einleitung

Produkte dieser Zellen als mögliche Biomarker einer allergischen Reaktion zu testen. Im Folgenden werden die in der Arbeit bestimmten Botenstoffe Histamin, Tryptase, cys-LTs und  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> genauer betrachtet. Tab. 6 bietet eine Übersicht über ihre wichtigsten Eigenschaften.

Tab. 6: Die Grundeigenschaften der gemessenen Biomarker (25, 69-75)

Biomarker	sezernierende Zelltypen	Nachweisbarkeit im Serum nach Reaktion	vermittelte Symptome
<b>Histamin</b>	Mastzellen Basophile	bis 60min	periphere Vasodilatation erhöhte Gefäßpermeabilität Bronchokonstriktion koronare Vasokonstriktion Erhöhung der Herzfrequenz gesteigerte Sekretion der peripheren Drüsen
<b>Tryptase</b>	Mastzellen (Basophile) Mastzellen	bis 2,5h	unklar
<b>Cys-LTs</b>	Eosinophile Leukozyten Makrophagen Thrombozyten	bis 2h	erhöhte Gefäßpermeabilität Bronchokonstriktion koronare Vasokonstriktion
<b>PGD<sub>2</sub></b>	Mastzellen Alveolarmakrophagen	wenige Minuten	Bronchokonstriktion koronare Vasokonstriktion pulmonale Vasokonstriktion, periphere Vasodilatation, Hemmung der Thrombozytenaggregation Hemmung der Fettgewebsdifferenzierung
<b><math>9\alpha,11\beta</math>-PGF<sub>2</sub></b>	Stoffwechselprodukt von PGD <sub>2</sub>	bis 2h	Bronchokonstriktion koronare Vasokonstriktion Hemmung der Thrombozytenaggregation

### 1.7.1 Histamin

Histamin gilt seit Anfang des 20. Jahrhunderts als wichtiger Botenstoff einer IgE-vermittelten allergischen Reaktion (63). Die über die H1-Rezeptoren vermittelten Effekte sind für einen Großteil der typischen Symptome (s. Tab. 6) verantwortlich.

Der Nachteil von Histamin als Biomarker ist seine kurze HWZ. Der maximale Plasmaspiegel wird ca. 10-15 min nach Auftreten der Reaktion erreicht (25). In den meisten Fällen ist er nach spätestens 60 min wieder auf den Basalwert abgesunken (76). In der Regel dauert es in der Akutsituation länger als 15 min, bis der Patient sich in einem klinischen Umfeld befindet. Umstritten ist, ob die Werte auch durch den Verzehr von histaminhaltigen Nahrungsmitteln (z.B. Rotwein oder Schokolade) oder histaminbildenden Bakterien verfälscht sein können (2).

### 1.7.2 Tryptase

Tryptase gilt als ein verlässlicher Biomarker für die Mastzelldegranulation (77). Von erhöhten Tryptase-Werten spricht man ab einem Blutplasmalevel von  $\geq 11,4 \mu\text{g/l}$  (73). Eine ruhende Mastzelle hat ca. 10-35 pg Tryptase gespeichert. Tryptase wird in zwei Formen sezerniert. Während  $\alpha$ -Tryptase kontinuierlich in geringen Mengen freigesetzt wird und somit immer nachweisbar ist, ist  $\beta$ -Tryptase im Komplex mit einem Proteoglykan (z.B. Heparin) in intrazellulären Granula gespeichert und wird nur bei Mastzellaktivierung ausgeschüttet (74, 76, 78). Ob die Tryptase eine eigene Aktivität aufweist und für bestimmte Symptome verantwortlich ist, ist bis heute nicht hinreichend geklärt. Es wird ein Zusammenhang mit Antikoagulation, Fibrinolyse, Gefäßpermeabilität, Angiogenese und inflammatorischen Prozessen vermutet (74).

Tryptase diffundiert langsamer durch das Gewebe als Histamin, hat somit eine längere HWZ und erreicht seinen Maximalwert später (ca. 15-20 min nach einer allergischen Reaktion) (2, 74). Man geht davon aus, dass die Serumtryptase bei den meisten anaphylaktischen Reaktionen erhöht ist. Dennoch können schwere allergische Reaktionen auch mit normalen Tryptasewerten einhergehen (74, 77). Dies scheint bei NMA etwas häufiger der Fall zu sein als bei anderen allergischen Reaktionen (76, 77). Daher sind Serumtryptasewerte im Normbereich kein Ausschlusskriterium für eine Allergie (77). Es gilt außerdem zu beachten, dass Erhöhungen auch bei anderen Erkrankungen mit Mastzellbeteiligung (z.B. Mastozytose oder hämatogene Erkrankungen) vorkommen (2, 76).

### 1.7.3 Cys-LTs

Die Botenstoffe aus der Gruppe der Leukotriene wurden in den späten 70er Jahren entdeckt (79). Sie werden folgendermaßen gebildet: In den zuständigen Zellen (s. Tab. 6) wird nach deren Aktivierung Arachidonsäure durch das Enzym 5-Lipoxygenase (5-LO) zu LTA<sub>4</sub> umgesetzt (70). 5-LO ist ein Ca<sup>2+</sup>-abhängiges, zytosolisches Enzym (80) und wird durch das five-lipoxygenase activating protein (FLAP) aktiviert (81). LTA<sub>4</sub> hat eine kurze HWZ (<3 s) und wird entweder durch die LTA<sub>4</sub>-Hydrolase zu LTB<sub>4</sub>, oder durch das Enzym LTC<sub>4</sub>-Synthase bzw. andere Enzyme der MAPEG („membran-associated proteins in the eicosanoid and glutathione metabolism“) – Familie über die Konjugation mit Glutathion zu LTC<sub>4</sub> weiter verstoffwechselt (80, 81) (s. Abb. 5).

Welcher Leukotrien-Typ hierbei vorherrscht, scheint von der Art der aktivierten Zelle abzuhängen: Periphere neutrophile Granulozyten generieren vorzugsweise LTB<sub>4</sub>, eosinophile dahingegen mehr LTC<sub>4</sub> (80).

LTC<sub>4</sub> wird durch das membranassoziierte Enzym  $\gamma$ -Glutamyl-transpeptidase über einen Austausch von

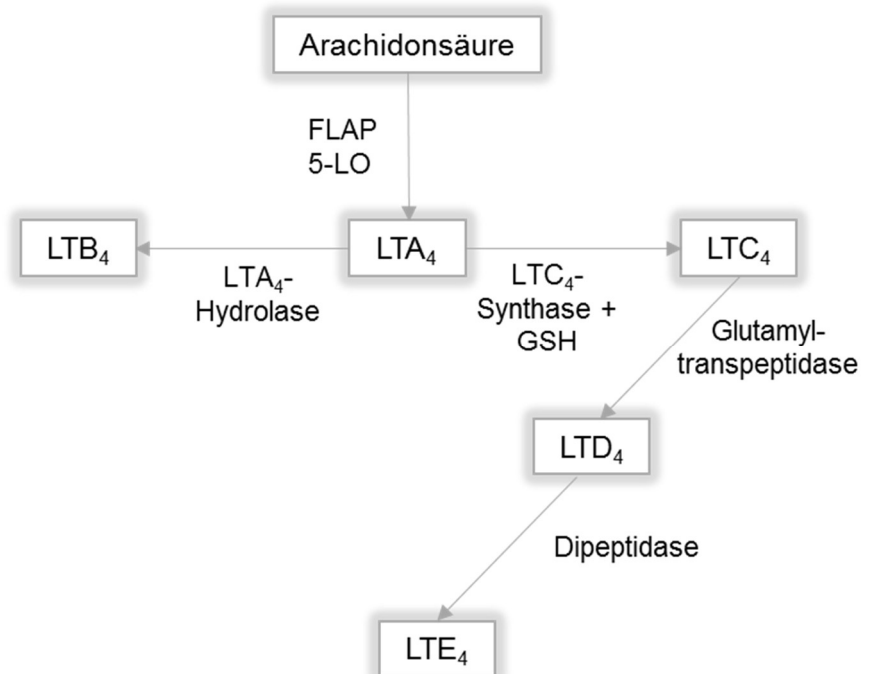


Abb. 5: Vereinfachte Darstellung des Leukotrien-Stoffwechsels [80, 81]

L-Cystein mit D-Cystein zu LTD<sub>4</sub> und weiter durch Dipeptidasen (teils aus dem Blutplasma, teils aus zellulären Granula) zu LTE<sub>4</sub> verstoffwechselt (80-82). Dieser Prozess dauert ca. zehn Minuten. Anschließend werden die LTs durch spezifische Carrier-Proteine in den Extrazellularraum geschleust (81). LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> und LTE<sub>4</sub> werden aufgrund des Cystein-Anteils in ihren Seitenketten als „Cysteinyl-Leukotriene“ (Cys-LTs) bezeichnet (70, 81). Sie gelten als „slow reacting substance of anaphylaxis“ (SRS-A) (82), da sie als stark wirksame endogene Bronchokonstriktoren bei der Entstehung von (allergischem) Asthma bronchiale eine wichtige Rolle spielen (80, 81, 83). Außerdem sind



sie an einer Vielzahl von anderen Pathologien (z.B. Karzinome, Myokardinfarkt, Vaskulitiden) beteiligt (66).

Biologisch aktiv sind hauptsächlich LTC<sub>4</sub> und LTD<sub>4</sub>. Sie induzieren Symptome (s. Tab. 6) in gleicher Potenz, allerdings findet die Reaktion auf LTD<sub>4</sub> schneller statt (80). Die biologische Aktivität von LTE<sub>4</sub> ist geringer. Es ist primär diagnostisch bedeutsam, da es den prozentual größten Anteil an den mit dem Urin ausgeschiedenen cys-LTs hat und dort gut bestimmt werden kann (80, 81).

Die cys-LTs entfalten ihre Wirkung über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, von denen zwei Subtypen bekannt sind: CysLT<sub>1</sub> und CysLT<sub>2</sub>. Für die bronchokonstriktorischen Effekte ist vor allem der Cys-LT<sub>1</sub>-Rezeptor verantwortlich, der von Monozyten, Makrophagen, Granulozyten, Mastzellen, T- und B-Lymphozyten, CD34-positiven Stammzellen, bronchialen glatten Muskelzellen und Fibroblasten sowie Endothelzellen exprimiert wird (81). Auch der Cys-LT<sub>2</sub>-Rezeptor scheint allergische Symptome zu induzieren, da er u.a. in nasalen eosinophilen Granulozyten und Mastzellen bei Patienten mit allergischer Rhinitis vorkommt (84), seine genaue Rolle ist aber noch weitestgehend unklar (85).

Die Cys-LTs steigen bis zu zwei Stunden nach Auftreten einer allergischen Reaktion systemisch und sind im Urin und im Blutplasma messbar (70). Bei Patienten mit Asthma bronchiale können sie auch im Sputum, im bronchialen Sekret und im Atemkondensat nachgewiesen werden (86). Der Abbau der Cys-LTs findet extrazellulär und in der Präsenz von hypochloriger Säure statt (80).

Die Stoffwechselforgänge der LTs sind Gegenstand aktueller Forschung zur medikamentösen Behandlung des allergischen Asthmas. Erste therapeutische Erfolge konnten mit 5-LO-Hemmern (z.B. Zileuton) und LT-Rezeptor-Hemmern (z.B. Montelukast) bereits erzielt werden (78). Beide Medikamententypen werden als Begleitmedikation zur Behandlung des Asthma bronchiale eingesetzt (87). Jedoch sind sie bezüglich ihrer Effizienz den inhalativen Glukokortikoiden unterlegen (88).

### **1.7.4 9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -PGF<sub>2</sub>**

9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -PGF<sub>2</sub> ist ein Stoffwechselprodukt von PGD<sub>2</sub> (69), welches als Modulator von Zellfunktionen unter verschiedenen physiologischen und pathologischen Bedingungen gilt. Es wird durch das Enzym Cyclooxygenase (COX) aus Arachidonsäure gebildet (65, 71, 78, 89). PGD<sub>2</sub> spielt als potenter Bronchokonstriktor eine wichtige Rolle bei der

Entstehung von asthmatischen Anfällen. Es ist erwiesenermaßen bei allergischen Reaktionen und hierbei vor allem für die respiratorische Symptomatik relevant (65, 71). Da  $\text{PGD}_2$  nur eine HWZ von wenigen Minuten hat, ist es als diagnostischer Biomarker nicht geeignet (71). Es wird in der Leber und in der Lunge über  $\text{PGF}_{2\alpha}$  NADPH-abhängig über  $\beta$ -Oxidation zu  $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$  verstoffwechselt (s. Abb. 6) (72, 78). Die HWZ von  $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$  beträgt ca. 120 min, anschließend wird es intakt im Urin ausgeschieden (71). Darum lässt es sich gut im peripheren Blut oder im Urin bestimmen.

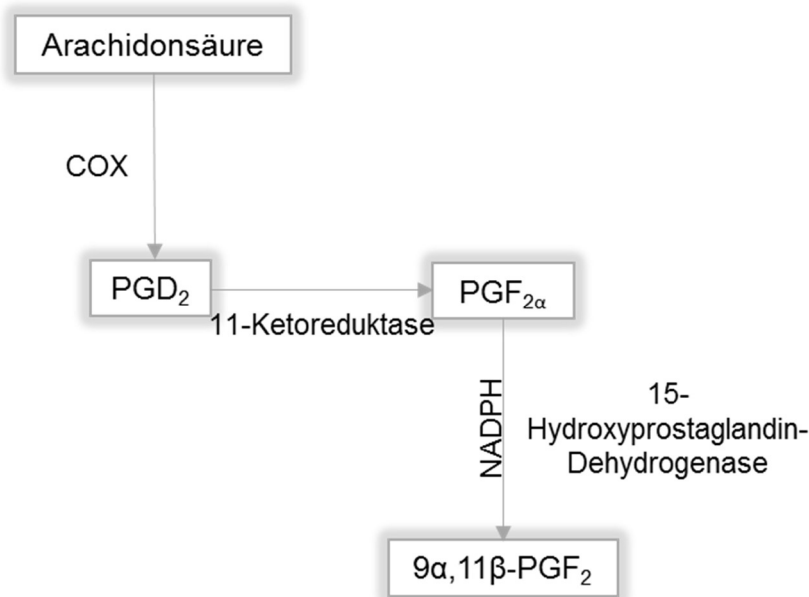


Abb. 6: Vereinfachte Darstellung des Prostaglandin  $\text{D}_2$ -Stoffwechsels [72, 78]

Im Gegensatz zu vielen anderen Stoffwechselprodukten ist  $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$  auch selbst biologisch aktiv (s. Tab. 5) (89). Zu seiner Wirkstärke lassen sich unterschiedliche Angaben finden: In manchen Quellen wird es als equipotent zu  $\text{PGD}_2$  beschrieben (75, 90), in anderen als ca. 40x schwächer (72, 89).

### 1.8 Zielsetzung

Die DBPCFC ist der diagnostische Goldstandard einer NMA. Nachteile der Methode sind der zeitliche Aufwand, das Risiko für den Patienten und die Gefahr der subjektiven Fehlinterpretation von Untersucher und/oder Patienten. Für die Verbesserung der diagnostischen Standards bedarf es neuer, einfach messbarer, objektiver Parameter. Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die oben beschriebenen Mastzellmediatoren bei Patienten mit einer Erd- und/oder Baumnussallergie vor und im Verlauf einer DBPCFC zu untersuchen. Hierbei sollte geprüft werden, ob sie einerseits zur Bestätigung einer positiven DBPCFC und damit einer abgelaufenen Reaktion, andererseits zur Feststellung des Schweregrades der Reaktion tauglich sind. Durch die Bestimmung der  $\text{IgE}$ -Werte bei den gleichen Probanden sollten gleichzeitig die Sensibilität und die Spezifität dieser Erhebungsparameter im untersuchten Kollektiv bestimmt werden.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Probandenkollektiv

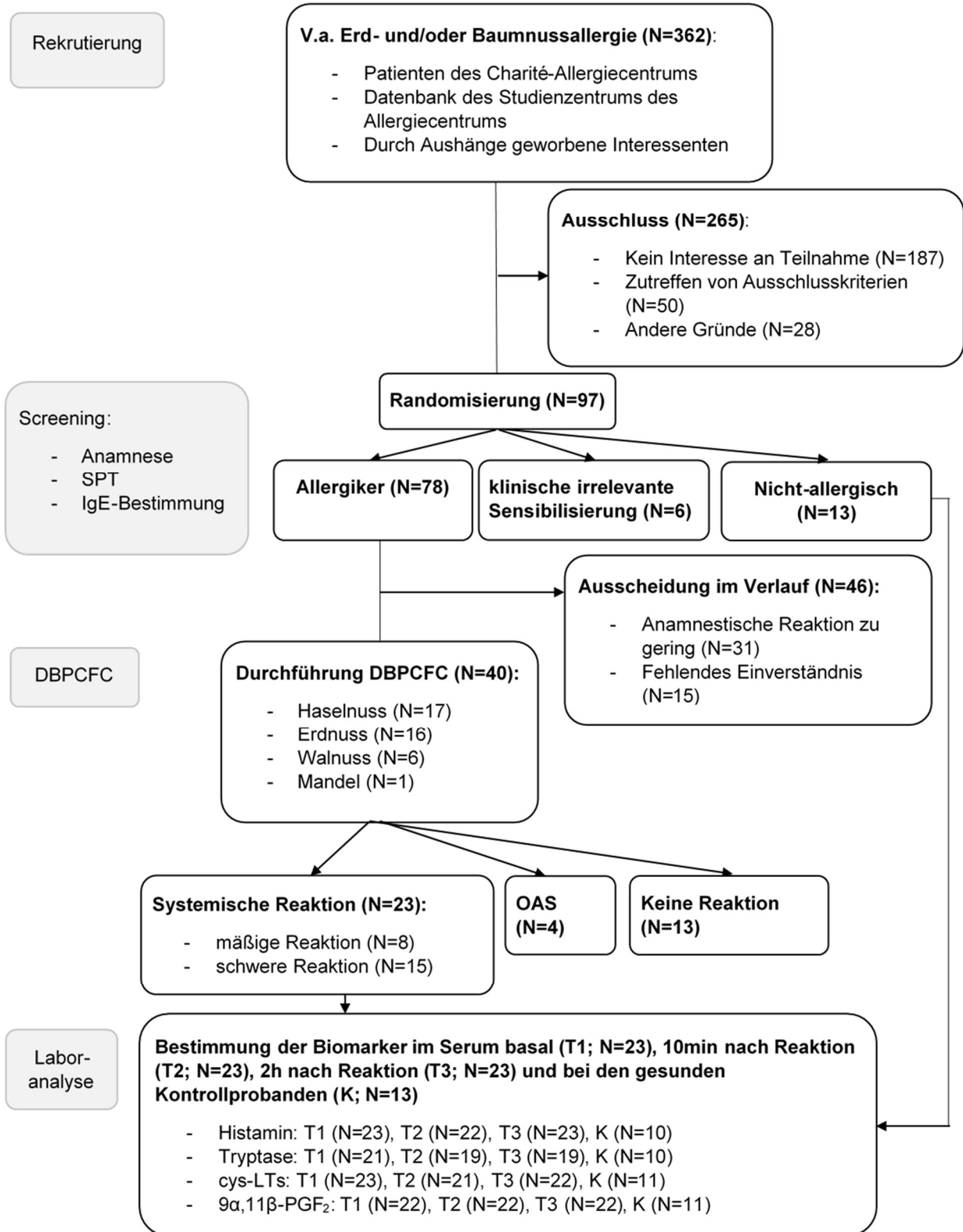


Abb. 7: Flussdiagramm der Datenerhebung

Die Rekrutierung der Probanden und die Datenerhebung erfolgten im Zeitraum Mai 2014 bis einschließlich Juni 2015. Sämtliche Testungen fanden im Allergiezentrum der Klinik für Dermatologie und Allergologie am Charité Campus Mitte, Luisenstr. 2, Ebene 2, Raum 67 statt. Die Untersuchung wurde im Rahmen des Ethik-Antrags EA 2/143/11 von der Ethik-Kommission der Charité genehmigt.

Gesucht wurden Probanden mit Verdacht auf oder bereits bestätigter Allergie gegenüber Erd- und/oder Baumnüssen, Probanden mit einer klinisch nicht relevanten Sensibilisierung gegenüber den genannten und nicht-allergische Kontrollprobanden. Um die Personen zu identifizieren nutzten wir das Patientenverzeichnis des Allergiecentrums und das Probandenverzeichnis des zugehörigen Studiencentrums.

Außerdem wurde mit Aushängen und Flyern für die Studienteilnahme geworben. Diese hingen oder lagen für die Dauer der Datenerhebung in Universitäten, Arztpraxen und Bio-Supermärkten in Berlin aus und wurden online über den Charité-Semesterverteiler und das Charité-Intranet verschickt. Die in Frage kommenden Personen wurden telefonisch kontaktiert und bei bestehendem Interesse und dem Fehlen von Ausschlusskriterien (s. Kasten 2) zur Screening-Untersuchung in das Allergiezentrum eingeladen.

- Schwangerschaft und Stillzeit
- laufende spezifische Immuntherapie
- regelmäßige Einnahme von  $\beta$ -Blockern oder ACE-Hemmern
- Antihistaminika bis 5 d vor der Testung
- systemische Immunsuppression
- schlecht eingestelltes Asthma
- parallele Teilnahme an einer anderen Interventionsstudie

**Kasten 2:** Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme

Von 362 potentiell als Probanden in Frage kommenden Personen wurden 78 anamnestisch als Allergiker eingestufte Probanden, sowie sechs sensibilisierte und 13 nicht-allergische Kontrollprobanden eingeschlossen (s. Abb. 7).

Als allergisch galten Personen mit positivem SPT und korrespondierender Anamnese mit Allergie auf eine oder mehrere Baumnüsse und/oder Erdnuss. Als nicht-allergisch wurden Probanden mit negativer Anamnese und negativem SPT klassifiziert. Als sensibilisiert ohne klinische Relevanz galten Probanden mit positivem SPT, jedoch ohne Symptomatik beim Verzehr von Erd- oder Baumnüssen.

Angelehnt an die Klassifikation von *Ring&Messmer* (dargestellt in Tab. 7) (91) wurde die Gruppe der Allergiker, ausgehend von den beschriebenen Symptomen, unterteilt in:

- Grad 1: OAS (orales Allergiesyndrom: Juckreiz und „Kribbelgefühl“ an Gaumen, Zunge und Rachen)
- Grad 2: systemische Reaktion (ein oder mehrere Organsysteme betroffen)
- Grad 3: anaphylaktische Reaktion (systemische Reaktion mit potentiell lebensbedrohlichen Folgen)

Die Patienten, deren Reaktion als Grad 1 eingestuft wurden, litten unter nur subjektiv wahrgenommenen Symptomen, während bei Grad 2 und 3 objektive Symptome sichtbar waren.

Tab. 7: Schweregradskala zur Klassifizierung allergischer Reaktionen, modifiziert nach Ring&Messmer (91)

Grad	Haut	Gastrointestinaltrakt	Respirationstrakt	Herz-Kreislauf-System
I	Pruritus			
	Flush/Erythem			
	Urtikaria			
	Angioödem			
II	Pruritus		Rhinitis/ Konjunktivitis	Blutdruckabfall/Kollaps
	Flush/Erythem	Übelkeit		Schwindel
	Urtikaria	Bauchschmerzen/ -krämpfe	Heiserkeit/Husten	Herzklopfen/ Tachykardie
	Angioödem		Kloßgefühl Dyspnoe	Brustschmerz
III	Pruritus		Giemen	
	Flush/Erythem	Diarrhoe		
	Urtikaria	Erbrechen	Stridor	Bewusstlosigkeit
	Angioödem	Inkontinenz	Bronchospasmus	
IV	Pruritus			
	Flush/Erythem	Diarrhoe		
	Urtikaria	Erbrechen	Atemstillstand	Kreislaufstillstand
	Angioödem	Inkontinenz		

Diejenigen Allergiker, die in der Anamnese eine systemische oder anaphylaktische Reaktion auf mindestens eine Erd- oder Baumnuss angegeben hatten und bei denen eine entsprechende Sensibilisierung im SPT nachgewiesen werden konnte, wurden zur Teilnahme an einer DBPCFC eingeladen. Die finale Einteilung jeweiligen Schweregrades der Allergie erfolgte auf der Basis der Ergebnisse von Anamnese, SPT und -falls vorhanden- DBPCFC.

## 2.2. Screening-Untersuchung

In der Screening-Untersuchung wurde die Anamnese erhoben, Blut abgenommen und ein SPT durchgeführt (CFR-Protokoll s. Anhang 3). Die Dauer des Termins betrug ca. eine Stunde. Hierfür erhielten die Probanden eine Aufwandsentschädigung.

### 2.2.1 Anamnese

Mithilfe eines standardisierten Anamnesebogens (s. Anhang 2) wurden die Ein- und Ausschlusskriterien überprüft, personenbezogene Daten erfasst, Grunderkrankungen und regelmäßige Medikamenteneinnahme abgefragt und eine detaillierte Auflistung der allergischen Vorgeschichte erstellt. Hierbei gaben die Probanden an, ob und wenn ja seit wann atopische Vorerkrankungen (atopische Dermatitis, allergische Rhinokonjunktivitis, allergisches Asthma) vorliegen und welche aktuellen Allergien bekannt sind. Dabei wurde insbesondere auf die Art (Zeitraum, Symptomatik, verstärkende Faktoren und die zum Auslösen einer Reaktion erforderliche Menge/Verarbeitungsart) der Erd-/Baumnussallergie(n) eingegangen. Außerdem wurde die Anzahl der durch die Allergie bedingte Krankenhausaufenthalte und der Anwendungen eines Notfallsets (falls vorhanden) dokumentiert. Die angegebenen Symptome wurden in sieben Symptomkomplexe unterteilt (s. Tab. 8).

Tab. 8: Symptome allergischer Reaktionen

Organsystem	Symptome
<b>Haut</b>	Juckreiz, Gefühl der trockenen Haut, Flush, Erythem, Urtikaria, Angioödem, Ekzemverschlechterung
<b>Mucosal</b>	OAS (Kribbeln, Brennen, Juckreiz, Pelzgefühl), Rötung, Papeln, Bläschen, Blasen, Schwellung
<b>Oberer Respirationstrakt/ Augen</b>	Juckreiz, Rhinitis, Niesen, Gefühl der verstopften Nase, Konjunktivitis, tränende Augen
<b>Unterer Respirationstrakt</b>	thorakales Engegefühl, Heiserkeit, Husten, Dyspnoe, Giemen, Stridor, Atemstillstand
<b>Gastrointestinaltrakt</b>	Aufstoßen, Dysphagie, Globusgefühl, Übelkeit, Krämpfe, Blähbauch, Flatulenz, Obstipation, Durchfall, Erbrechen, Inkontinenz
<b>Herz-Kreislauf-System</b>	Kopfschmerzen, Schwindel, Müdigkeit, Tachykardie, Blässe, Kaltschweißigkeit, Vigilanzminderung, Kollaps, Bewusstlosigkeit, Atemstillstand

### 2.2.2 Blutentnahme

Jedem Probanden wurden zwei Serum-Röhrchen und ein Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)-Röhrchen Blut abgenommen. Die Serumröhrchen wurden nach einer Ruhezeit von 20 min bei 3000 g für 10 min zentrifugiert und das Serum in 500 µl Eppendorf-Gefäße umgefüllt. Diese wurden wie auch die EDTA-Röhrchen bei -20°C eingefroren gelagert. Das zentrifugierte Serum wurde für die Messung von IgE und den Biomarkern (s. Kap. 2.4.) verwendet. Die EDTA-Röhrchen wurden für die der Arbeit zugrundeliegenden Testungen nicht verwendet.

### 2.2.3 Skin Prick Test

Wir untersuchten im Hauttest 22 verschiedene Allergene sowie Histamin als Positiv- und

#### **Extrakte**

Histamin, NaCl, Erdnuss, Birke,  
Gräsermischung, Beifuß,  
Alternaria, Katze,  
Dermatophagoides pteronyssinus

#### **Nüsse nativ**

Haselnuss, Erdnuss, Walnuss,  
Pekannuss, Cashew, Pistazie,  
Macadamia, Paranuss, Mandel

#### **Andere Nahrungsmittel nativ**

Apfel, Karotte, Sellerie, Tomate,  
Soja, Weizen

Natrium-Chlorid (NaCl) als Negativkontrolle (s. Kasten 3). Die Atopene und ein Erdnuss-Extrakt (alle von ALK-Abello, Hørsholm, Dänemark) wurden in flüssiger Form auf die Haut aufgetragen, und mit einer sterilen Lanzette (Allergy Therapeutics, Worthing, UK) leicht eingeritzt. Für die Nativtestungen wurde die sog. prick-to-prick Technik angewandt, bei der mit der Lanzette zunächst das frische Nahrungsmittel und anschließend die obere Hautschicht des Probanden angestochen wird. Es wurden Erdnüsse, Haselnüsse, Pekannüsse und Paranüsse der Marke Rapunzel Naturkost (Legau, Deutschland), Macadamianüsse, Walnüsse, Cashewnüsse und

**Kasten 3:** Die im SPT getesteten Allergene

Mandeln der Marke Lihn Reformkontor (Zarrentin, Deutschland), sowie Pistazien der Marke Seeberger (Ulm, Deutschland) verwendet, da diese im Vergleich mit anderen Produkten den geringsten Grad an Kontamination (z.B. durch Konservierungsstoffe, Spuren anderer Nahrungsmittel o.ä.) aufwiesen.

Alle Baumnüsse wurden roh und ungewürzt verwendet. Die einzige Ausnahme hiervon bilden die Erdnüsse, die im kommerziellen Handel ausschließlich in in der Schale gerösteter Form erhältlich sind. Die übrigen Nahrungsmittel wurden dem

Standardbestand des Studiencentrums entnommen, der wöchentlich durch frische Produkte aus gängigen Supermärkten aufgefüllt wird.

Der SPT wurde nach 20 Minuten abgelesen und wie folgt ausgewertet:

$$\text{Quaddelgröße} = \frac{[\text{längster Längsdurchmesser}] + [\text{längster Querdurchmesser}]}{2}$$

**Kasten 4:** Formel zur Berechnung der Quaddelgröße im SPT

Ab einer Quaddelgröße von 3 mm galt der Test als positiv und somit eine Sensibilisierung als nachgewiesen. Voraussetzung für die Gültigkeit des Tests waren korrekte Ergebnisse der Positiv- und Negativkontrolle.

### 2.3. Die doppelt blinde Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation

#### 2.3.1 Ablauf

Die DBPCFCs wurden entsprechend der Leitlinie (7), adaptiert an Erwachsene, durchgeführt. Das bedeutet, dass die Probanden an zwei verschiedenen Terminen mehrere Portionen eines Breis zu essen erhielten. Dieser war an einem der beiden Tage nussaltig, am anderen nussfrei. Zwischen den beiden Terminen musste mindestens ein Tag Pause liegen. Der Verzehr fand unter der Aufsicht von geschultem medizinischem Personal statt. Sowohl der Proband als auch die Aufsichtsperson waren verblindet. Das bedeutet, dass beide nicht wussten, an welchem Termin welcher Brei verabreicht wurde. Der Geschmack des Breis und der Ablauf der Provokation waren an beiden Terminen identisch. Um die Verblindung zu gewährleisten wurde der Brei von einer dritten, am Ablauf der Provokation selbst nicht beteiligten Person, hergestellt. Für die Dauer der Provokation wurde den Probanden ein intravenöser Zugang gelegt.

Insgesamt wurden sieben Portionen des Breis verabreicht. Mit jeder Provokationsstufe stieg der Proteinanteil im Brei. Zwischen den einzelnen Portionen wurde jeweils eine halbe Stunde gewartet. Bei dem Auftreten von objektiven Symptomen wurde die Provokation abgebrochen und der Reaktion entsprechend ihrer Stärke medikamentös entgegengewirkt. Trat keine Reaktion auf, wurde der Proband 30 Minuten nach dem Verzehr der letzten Breiportion entlassen. Während der jeweiligen Provokation erfolgten mehrere Blutentnahmen (jeweils zwei Serumröhrchen):



- T1: vor dem Beginn der Provokation
- T2: ca. 5-10 min nach der zum Abbruch führenden Reaktion (falls vorhanden)
- T3: vor der Entlassung des Probanden (ca. 2 h nach der Reaktion bzw. 30 min nach der siebten Breiportion)

Wenn alle Portionen verzehrt wurden, betrug die Dauer eines Termins ca. 4 h. Für jeden Termin wurde eine Aufwandsentschädigung entrichtet.

### 2.3.2 Die Zusammensetzung der Provokationsmahlzeit

Die Verblindung erfolgte in einem Basisbrei (s. Kasten 5). Sämtliche Zutaten wurden in gängigen Supermärkten kommerziell erworben. Dem Basisbrei wurde am Tag der Verum-Testung die zu testende Nuss in Mehlform hinzugefügt. Wir verwendeten Haselnuss-Mehl der Marke Mühle Schlingemann (Waltrop, Deutschland), alle anderen Mehle wurden aus den rohen Nüssen (Hersteller

#### Basisbrei:

- Allergenarmer Babybrei
- Reisflocken
- Zucker
- Kakao
- Pfefferminzsirup
- Wasser

**Kasten 5:** Die Zusammensetzung des Basisbreis

s. Kap. 2.2.3) vor Ort hergestellt. Sowohl die Breimenge als auch der prozentuale Anteil von Nussprotein stieg mit jeder Portion. Mit der ersten Portion wurden 0,003 g Nussprotein verzehrt. Dies wurde gesteigert bis zu 1,8 g Nussprotein bei Haselnuss bzw. 3,0 g Protein bei Walnuss, Erdnuss und Mandel in der siebten Portion. Wurden sämtliche Portionen des Verums verzehrt, entsprach das dem Konsum von ungefähr einer Handvoll Nüssen. Falls hierbei keine Symptome auftraten, wurde die Provokation als negativ bewertet. Für den genauen Nussgehalt der einzelnen Breie s. Anhang 1.

### 2.3.3 Reaktionsmanagement

Während der Provokation wurden die Probanden von geschultem medizinischem Personal beaufsichtigt. Voraussetzung für den Start der Provokation war ein korrekt liegender intravenöser Zugang, um eine schnelle Volumen- und Medikamentenapplikation zu gewährleisten. Die verfügbaren Medikamente sind im Kasten 6 dargestellt.

Notfallmedikation:	
-	Dimentidenmaleat (4mg) <i>i.v.-Lösung</i>
-	Prednisolon (250mg) <i>i.v.-Lösung</i>
-	Cetirizin (10mg) <i>p.o. Tabletten</i>
-	Prednisolon (50mg) <i>p.o. Tabletten</i>
-	Salbutamol (0,1mg/Sprühstoß) <i>Spray zur Inhalation</i>
-	Adrenalin (300µg) <i>Pen zur Autoinjektion</i>

**Kasten 6:** Die während der Untersuchung verfügbaren Notfallmedikamente und ihre Darreichungsform

## 2.4. Laboranalysen

### 2.4.1 Messung des sIgE

Die IgE-Messungen wurden extern von Thermo Fisher Scientific (Freiburg, Deutschland) durchgeführt. Bei allen Probanden wurde das Gesamt-IgE bestimmt. Außerdem wurde bei den allergischen Probanden das sIgE und einige ausgewählte Einzelkomponenten für die Nüsse bestimmt, gegenüber welchen sie nach dem SPT-Ergebnis sensibilisiert waren (s. Tab. 9). Für die Bestimmungen wurde der ImmunoCAP-Assay verwendet.

**Tab. 9:** Panel der gemessenen IgE-Werte [Thermo Fisher Scientific (Freiburg, Deutschland)]

Nuss	gemessene IgE-Werte
<b>Haselnuss</b>	HN-IgE (f17), rCor a 1 (f428), rCor a 8 (f425), nCor a 9 (f440), rCor a 14 (f439)
<b>Erdnuss</b>	EN-IgE (f13), rAra h 1 (f422), rAra h 2 (f424), rAra h 3 (f424), rAra h 8 (f352), rAra h 9 (f427)
<b>Walnuss</b>	WN-IgE (f256), rJug r 1 (f441), rJug r 3 (f442)
<b>Cashew</b>	Cas-IgE (f202)
<b>Paranuss</b>	Para-IgE (f18), rBer e 1 (f354)
<b>Macadamia</b>	Mac-IgE (f345)
<b>Mandel</b>	MD-IgE (f20)
<b>Pekanuss</b>	Peka-IgE (f201)
<b>Pistazie</b>	Pist-IgE (f203)

Ab einem Schwellenwert von 0,35 kU/l galt der gemessene Wert als erhöht.

In den Analysen zur Korrelation mit dem Schweregrad und bei der Berechnung von Sensitivität und Spezifität wurden nur die Ergebnisse der Probanden berücksichtigt, deren Schweregrad entweder durch die DBPCFC oder im Allergiezentrum bekannte Vorgeschichte gesichert war. Die Probanden, bei denen die Einteilung nur auf Anamnese und SPT beruhte, wurden in diese Analysen nicht eingeschlossen.

### 2.4.2 Bestimmung der Biomarker

In den Seren von Probanden mit einer positiven DBPCFC haben wir die Biomarker Histamin, Tryptase, cys-LTs und  $9\alpha$ -, $11\beta$ -PGF<sub>2</sub> bestimmt. Das Substrat sämtlicher Messungen war das im Kapitel 2.2.2 beschriebene Blutserum.

Tryptase wurde extern von Thermo Fisher Scientific (Freiburg, Deutschland) gemessen. Die anderen drei Marker wurden im internen Labor bestimmt. Die Durchführung erfolgte nach den Angaben der Hersteller. Für Histamin wurde der ELISA BA E-1000 der Marke LDN (Nordhorn, Deutschland) eingesetzt. Die untere Detektionsgrenze beträgt hier 0 ng/ml, der höchste Standard liegt hier bei 50 ng/ml. Cys-LTs und  $9\alpha$ -, $11\beta$ -PGF<sub>2</sub> wurden mit ELISAS der Marke Cayman Chemical (Ann Arbor, Michigan, USA) gemessen. Die Detektionsgrenzen für cysLTs liegen hiermit bei 8,6 – 2500 pg/ml (70) und für  $9\alpha$ -, $11\beta$ -PGF<sub>2</sub> bei 1,6 – 1000 pg/ml (69).

Definitionsgemäß gilt Histamin ab einem Plasmalevel  $\geq 0,3$  ng/ml (24) und Tryptase ab einem Wert  $\geq 11,4$   $\mu$ g/l als erhöht (92).

### 2.5. Auswertung und Grafiken

Die für das Verfassen der Arbeit, der statistischen Analysen und der Erstellung von Graphen und Tabellen verwendeten Programme waren:

- Microsoft Office 2013 (Microsoft Cooperation, Redmond, USA)
- EndNote X7 (Thomson Reuters, New York City, USA)
- IBM SPSS Statistics 23.0 (SPSS Inc., Chicago, USA)
- GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, San Diego, USA)

Die statistischen Berechnungen wurden mit IBM SPSS Statistics 23.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) durchgeführt. Die folgenden statistischen Tests kamen zur Anwendung:

- Kolmogorov-Smirnov-Test zur Untersuchung der Verteilungskurve bei Alter und Geschlecht (s. Kap. 3.1.2).
- Korrelationskoeffizient nach Spearman bei dem Vergleich von SPT-Quaddelgrößen und der Korrelation der Messergebnisse mit dem Schweregrad und der Korrelation der Biomarker untereinander (s. Kap. 3.2.2, Kap. 3.3.2, Kap. 3.3.4, Kap. 3.4.2, Kap. 3.4.3, Kap. 3.5.2, Kap. 3.5.3, Kap. 3.5.4).
- Mann-Whitney-U-Test, um Unterschiede in den jeweiligen Messergebnissen zwischen den einzelnen Schweregraden festzustellen (s. Kap. 3.4.3, Kap. 3.5.1, Kap. 3.5.4).
- Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben zur Feststellung, ob signifikante Unterschiede in den Serumlevel der Biomarker zwischen den einzelnen Messzeitpunkten bestehen (s. Kap. 3.5.2).

Ergebnisse galten als signifikant, wenn  $p < 0,05$ . Die Receiver Operating Characteristic der Biomarker (S. Kap. 3.5.5) wurde mit GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, San Diego, USA) erstellt.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Anamnestische Angaben

##### 3.1.1 Identifikation der Probanden und Unterteilung in Gruppen

Insgesamt nahmen 97 Probanden an der klinischen Untersuchung teil. Anhand der in der Anamnese beschriebenen Symptomatik, früheren Befunden und dem SPT-Ergebnis wurden sie in fünf verschiedene Gruppen eingeteilt (s. Tab. 10).

Tab. 10: Einteilung der Probanden nach dem anamnestisch ermittelten Schweregrad ihrer Reaktion

Gruppe	Schweregrad	Symptome laut Anamnese	SPT	N
K	0	keine	neg.	13
S	0	keine	pos.	6
	1	ausschließlich OAS	pos.	30
A	2	moderate systemische Reaktion (eines oder mehrere Organsysteme sind betroffen)	pos.	25
	3	schwere systemische Reaktion mit potentiell lebensbedrohlichen Folgen	pos.	23

Die Gruppe der gesunden Kontrollprobanden (K) umfasste 13 Personen. Diese gaben keinerlei Symptome beim Verzehr von Erd- und Baumnüssen an und reagierten nicht im SPT. Sechs Probanden wiesen eine klinisch nicht relevante Sensibilisierung im SPT auf und wurden als „Sensibilisiert“ (S) klassifiziert. Der Gruppe der Allergiker (A) wurden insgesamt 78 Personen mit einer anamnestisch klinisch relevanten Erd- und/oder Baumnussallergie zugeteilt. Diese wurden anhand des Schweregrades der Reaktion noch einmal in drei Untergruppen unterteilt. Bei 30 Probanden war die Reaktion auf ein OAS beschränkt, was dem Schweregrad 1 entspricht (A1). 25 Personen gaben eine systemische, jedoch nicht lebensbedrohliche Reaktion (z.B. Flush, Urtikaria, Übelkeit, Schwindelgefühl u.a.) an und wurden somit als Grad 2 eingestuft (A2). Falls die systemische Reaktion mit potentiell lebensbedrohlichen Folgen (z.B. akute Dyspnoe, Blutdruckabfall, laryngeales Ödem) einherging und/oder bereits mindestens einmal eine notfallmedizinische Behandlung erfordert hatte, wurden die Probanden mit Schweregrad 3 klassifiziert (A3). Dies war bei 23 Probanden der Fall.

### 3.1.2 Alters- und Geschlechtsverteilung

Es nahmen 29 männliche und 68 weibliche Probanden an der Untersuchung teil (s. Tab. 11). Die Altersspanne der Probanden lag zwischen 18 und 71 Jahren mit einem durchschnittlichen Alter von

33 Jahren. Bezüglich der Altersverteilung konnte zwischen den einzelnen Gruppen kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

Laut dem Kolmogorov-Smirnov-Test entsprach die Altersverteilung in allen Gruppen außer A1 der Normalverteilung (s. Abb. 8).

Tab. 11: Die Geschlechtsverteilung innerhalb der Gruppen

Gruppe	N männlich	N weiblich	N gesamt
K	6	7	13
S	3	3	6
A1	8	22	30
A2	4	21	25
A3	8	15	23
gesamt	29	68	97

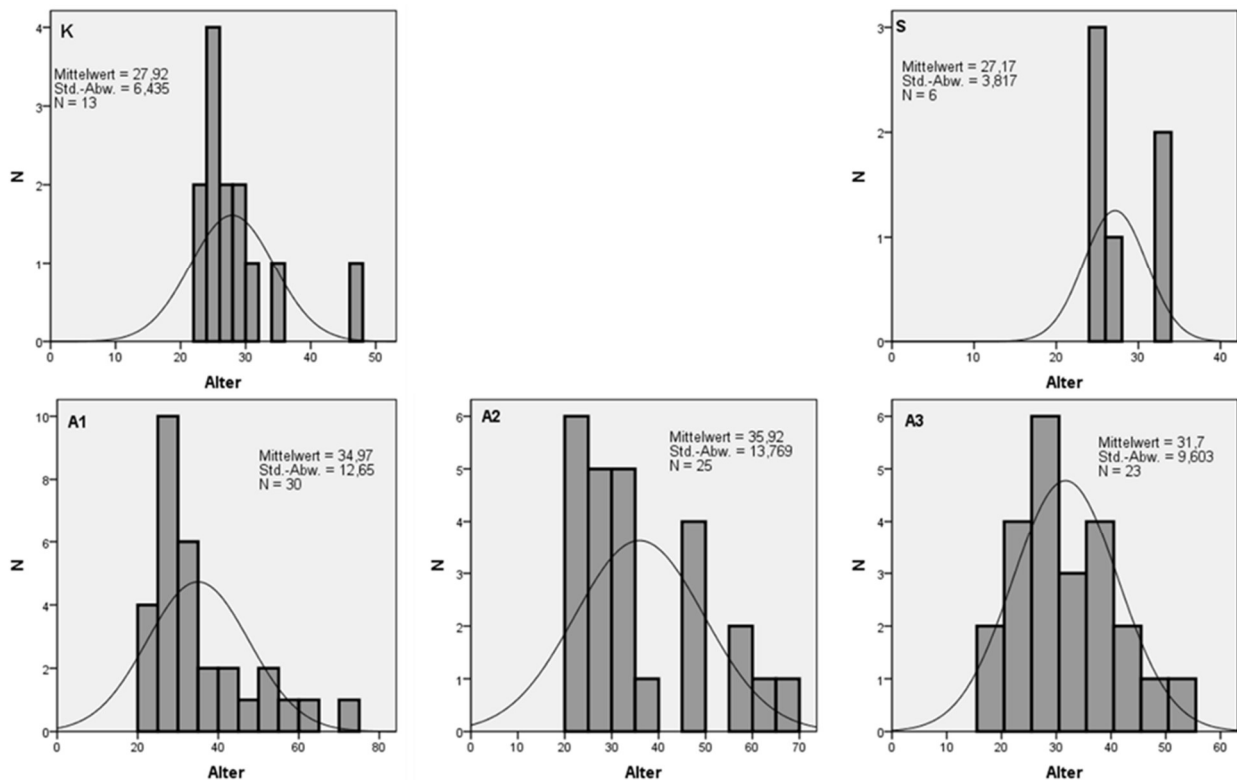


Abb. 8: Die Altersverteilung innerhalb der Gruppen

### 3.1.3 Atopische Begleiterkrankungen

Die von uns abgefragten atopischen Begleiterkrankungen waren Rhinokonjunktivitis, atopische Dermatitis und allergisches Asthma. In der Gruppe A1 litten alle Probanden unter mindestens einer atopischen Begleiterkrankung. Die sechs Probanden der Gruppe

S litten alle unter saisonaler RK mit Birkenpollenallergie. Auch unter den Nussallergikern war der Anteil an Birkenpollenallergikern sehr hoch (insg. 88,5%) - nur sieben Probanden litten an einer NMA ohne Atopie. All diese Probanden gaben bezüglich ihrer NMA Symptome der Stärke 2 (N=2) oder 3 (N=5) an. Den mit 73,9% geringsten Anteil an Birkenpollenallergikern findet man bei den stark systemisch reagierenden Nussallergikern der Gruppe A3. Von den Probanden der Gruppe K litten zwei Personen unter Pollen-bedingter Rhinokonjunktivitis (s. Tab. 12).

Tab. 12: Die atopischen Begleiterkrankungen innerhalb der Gruppen

Gruppe	Atopische Erkrankung	Rhino-konjunktivitis	Atopische Dermatitis	Asthma	SPT Birke positiv
<b>K (N=13)</b>	2 (15,4%)	2 (15,4%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (7,7%)
<b>S (N=6)</b>	6 (100%)	6 (100%)	2 (33,3%)	3 (50,0%)	6 (100%)
<b>A1 (N=30)</b>	30 (100%)	29 (96,7%)	15 (50,0%)	8 (26,7%)	28 (93,3%)
<b>A2 (N=25)</b>	23 (92,0%)	22 (88,0%)	9 (36,0%)	14 (56,0%)	24 (96,0%)
<b>A3 (N=23)</b>	18 (78,3%)	15 (65,2%)	11 (47,8%)	11 (47,8%)	17 (73,9%)
<b>gesamt (N=97)</b>	79 (81,4%)	74 (76,3%)	37 (38,1%)	36 (37,1%)	76 (78,4%)

### 3.1.4 Die anamnestisch geschilderte Symptomatik

Der mit 73,1% insgesamt am häufigsten angegebene Symptom-Komplex war „Mucosal“ und somit das OAS, gefolgt von Hauterscheinungen mit 60,3%. Sämtliche Angaben und ihre prozentuale Verteilung innerhalb der Gruppen sind in Tab. 13 dargestellt. Für die genaue Beschreibung der einzelnen Symptom-Komplexe s. Tab. 8 im Kapitel 2.2.1.

Tab. 13: Das Vorkommen der geschilderten Symptomkomplexe innerhalb der Gruppen

Symptom-Komplex	A1 (N=30)	A2 (N=25)	A3 (N=23)	A gesamt (N=78)
<b>Haut</b>	9 (30,0%)	16 (64,0%)	22 (95,7%)	47 (60,3%)
<b>Mucosal</b>	30 (100%)	10 (40,0%)	17 (73,9%)	57 (73,1%)
<b>Oberer Respirationstrakt/ Augen</b>	2 (6,7%)	3 (12,0%)	8 (34,8%)	13 (16,7%)
<b>Unterer Respirationstrakt</b>	0 (0,0%)	8 (32,0%)	17 (73,9%)	25 (32,1%)
<b>Gastrointestinaltrakt</b>	0 (0,0%)	7 (28,0%)	14 (60,9%)	21 (26,9%)
<b>Herz-Kreislauf-System</b>	0 (0,0%)	3 (12,0%)	14 (60,9%)	17 (21,8%)

### 3.2. Skin Prick Test

#### 3.2.1 Anzahl an positiven Testergebnissen

Die Häufigkeiten von positiven Reaktionen im SPT auf Erd- und Baumnüsse sowie die Atopene sind in Tab. 14 und Tab. 15 dargestellt. Die weiteren im SPT getesteten, nicht-nusshaltigen Nahrungsmittel wurden hier nicht weiter berücksichtigt, da sie für die in der Arbeit behandelten Fragestellung keine Rolle spielen.

Tab. 14: Die Anzahl an positiven Ergebnisse im SPT mit Erd- und Baumnüssen

Erd- / Baumnuss	N (%) mit positivem SPT aus [A] (N=78)	N (%) mit positivem SPT aus [S] (N=6)
Haselnuss (nat.)	67 (85,9%)	6 (100%)
Erdnuss (nat.)	27 (34,6%)	0 (0,0%)
Erdnuss (Extr.)	42 (53,8%)	3 (50,0%)
Walnuss (nat.)	24 (30,8%)	0 (0,0%)
Pekannuss (nat.)	23 (29,5%)	0 (0,0%)
Cashew (nat.)	13 (16,7%)	1 (16,7%)
Pistazie (nat.)	13 (16,7%)	0 (0,0%)
Macadamia (nat.)	41 (52,6%)	3 (50,0%)
Paranuss (nat.)	8 (10,3%)	0 (0,0%)
Mandel (nat.)	48 (61,5%)	2 (33,3%)

Tab. 15: Die Anzahl an positiven Ergebnisse im SPT mit Atopenen

Atopen	N (%) mit positivem SPT aus [A] (N=78)	N (%) mit positivem SPT aus [S] (N=6)
Birke	69 (88,5%)	6 (100%)
Gräsermix	64 (82,1%)	6 (100%)
Beifuß	34 (43,6%)	1 (16,7%)
Alternaria	21 (26,9%)	0 (0,0%)
Katze	43 (55,1%)	3 (50,0%)
Derm. pteron.	50 (64,1%)	3 (50,0%)



Von den 78 Probanden der Allergiker-Gruppen waren 12 Probanden gegenüber nur einer Nuss (siebenmal Haselnuss und fünfmal Erdnuss) sensibilisiert. Nur ein Proband wies eine reine Erdnuss-Allergie (Schweregrad 2) ohne eine Sensibilisierung gegenüber Pollen auf. Bei allen anderen Erd- und Baumnussallergikern war die Testung auf mindestens ein oder mehrere Pollen-Atopen(e) positiv.

### 3.2.2 Vergleich von nativer Erdnuss und Erdnuss-Extrakt als Allergenquelle

Eine Sensibilisierung gegenüber Erdnuss wurde im SPT sowohl mit nativer Erdnuss (N=97) als auch mit einem kommerziellen Erdnuss-Extrakt (N=94) getestet.

Es reagierten mehr Probanden auf den Extrakt als auf die native Nuss (s. Abb. 9). Das könnte daran liegen, dass man beim Prick-to-Prick Test mit der nativen Nuss nicht sicher alle potentiellen Allergene mit der Nadel erfasst, während der Extrakt sämtliche herstellbaren Erdnuss-Allergene enthält. Von den 24 Probanden, die im SPT auf beide Tests reagiert hatten, gaben 23 (95,8%) eine klinisch relevante Allergie an. Von den 46 auf den Extrakt sensibilisierten Probanden hatten 37 (80,4%) eine klinisch relevante Erdnuss-Allergie, von den 27 auf native Erdnuss sensibilisierten waren es 25 (92,6%).

Für den Extrakt betrug die Sensitivität 92,5% und die Spezifität 83,3%. Für die Testung mit der nativen Nuss lag die Sensitivität bei 62,5% und die Spezifität bei 96,3%. Insgesamt kann also die Testung mit der nativen Erdnuss als genauer bewertet werden, da es im SPT mit dem kommerziellen Extrakt zu einer hohen Rate an falsch-positiven Ergebnissen kommt. Der Vergleich der Quaddelgrößen miteinander ergab eine signifikante Korrelation ( $p < 0,01$ ) mit einem Korrelationskoeffizienten nach Spearman ( $r_s$ ) von 0,589 (s. Abb. 10).

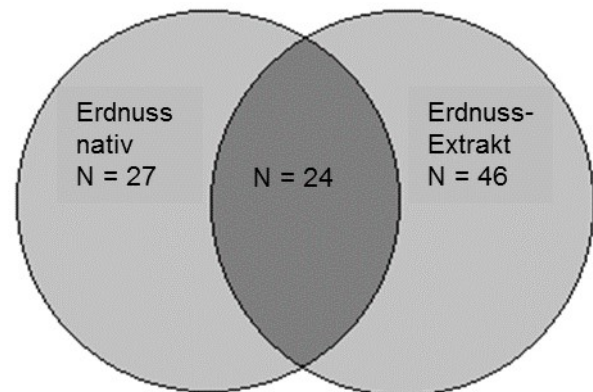


Abb. 9: Anzahl an positiven Ergebnissen im SPT mit nativer Erdnuss und mit Erdnuss-Extrakt

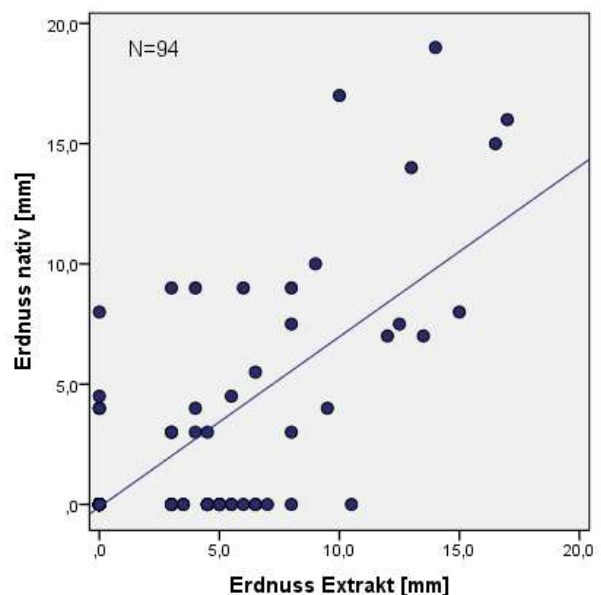


Abb. 10: Korrelation der Quaddel-Durchmesser aus dem SPT mit der nativen Erdnuss und dem Erdnuss-Extrakt

### 3.3. Identifikation und Klassifikation der Nahrungsmittelallergiker mittels DBPCFC

#### 3.3.1 Ergebnisse der durchgeführten Provokationen

Insgesamt willigten 32 Probanden mit einer gemäß der Anamnese und des SPT klinisch relevanten Sensibilisierung zur Durchführung einer DBPCFC ein. Sechs Probanden wurden auf zwei und ein Proband auf drei verschiedene Nüsse provoziert, sodass sich eine Gesamtzahl von 40 Provokationen ergab. Eine Übersicht über die Provokationen liefert Tab. 16.

Tab. 16: DBPCFCs – Aufteilung nach Testergebnis und getesteter Nuss

Nuss	N (insgesamt)	N (negativ)	N (Grad 1)	N (Grad 2)	N (Grad 3)
Haselnuss	17	6	4	5	2
Erdnuss	16	5	0	3	8
Walnuss	6	1	0	2	3
Mandel	1	1	0	0	0
gesamt	40	13	4	10	13

13 Testungen (32,5%) waren negativ und vier Probanden (10%) reagierten nur mit einem Schweregrad 1. Zehn Probanden wurden mit Schweregrad 2 und 13 Probanden mit Schweregrad 3 klassifiziert. Somit ergibt sich eine Gesamtzahl von 27 (67,5%) positiven Provokationen, davon 23 (57,5%) mit einer systemischen Reaktion (Grad 2 oder 3). In einem Fall (DBPCFC mit Erdnuss, Schweregrad 2) wurde ein undulierender Verlauf der Reaktion beobachtet. In einem Fall konnten wir eine Reaktion mit Schweregrad 2 in der Placebo-Testung beobachten.

#### 3.3.2 Vergleich des bei der DBPCFC beobachteten mit dem anamnestisch geschilderten Schweregrad

Von den 13 negativen Testungen hatten 12 Probanden anamnestisch Schweregrad 2 und ein Proband Schweregrad 1 angegeben. Drei der vier Probanden, die mit Schweregrad 1 eingestuft wurden, hatten zuvor eine Reaktion entsprechend Schweregrad 2 geschildert. Drei Probanden, die nach ihren Angaben als Grad 2 klassifiziert wurden, wurden aufgrund des Ergebnisses in der DBPCFC auf Grad 3 hochgestuft. In den anderen Fällen stimmten die anamnestisch geschilderten mit den bei

### 3. Ergebnisse

der DBPCFC beobachteten Schweregraden überein und es ergab sich eine signifikante Korrelation ( $p < 0,01$ ) mit  $r_s = 0,734$  (s. Abb. 11 und Tab. 17).

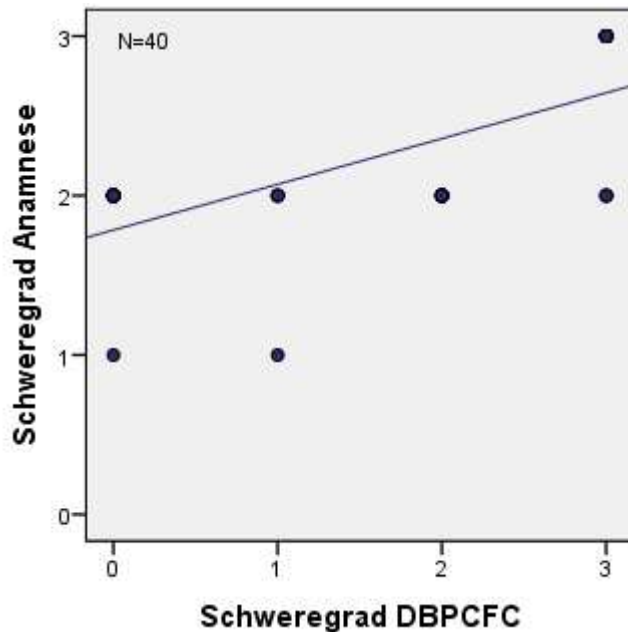


Abb. 11: Korrelation des anamnestisch angegebenen mit dem bei der DBPCFC festgestellten Schweregrad

Tab. 17: Vergleich der Schweregrade aus Anamnese und DBPCFC

Schweregrad laut Anamnese (A) vs. Schweregrad laut Provokation (P)	N	[%]
A < P	3	7,5
A = P	21	52,5
A > P	16	40
gesamt	40	100

### 3.3.3 Vergleich der bei der DBPCFC beobachteten mit der anamnestisch geschilderten Symptomatik

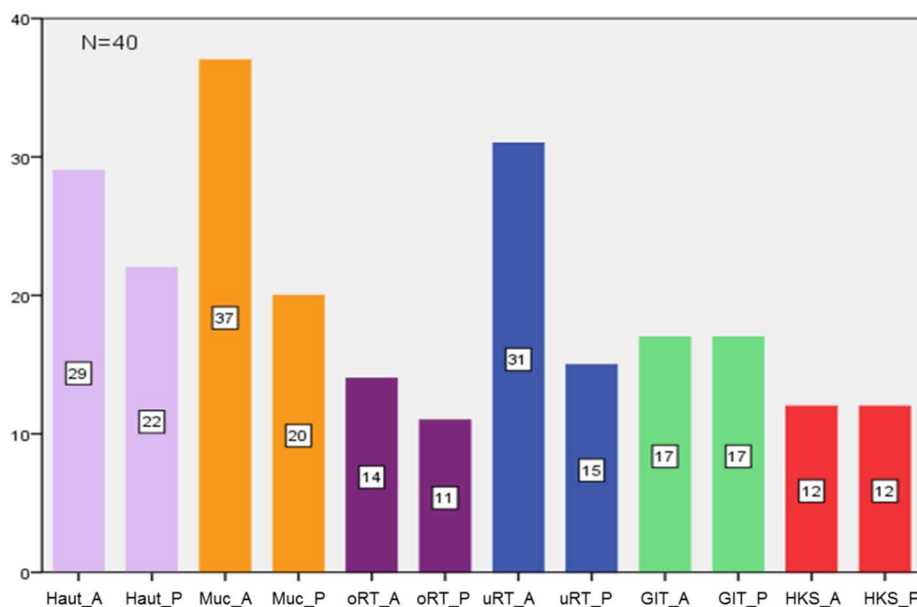


Abb. 12: Vergleich der Symptomkomplexe aus Anamnese ("A", erste Säule) und DBPCFC ("P", zweite Säule). Muc=Mucosal, oRT=oberer Respirationstrakt, uRT= unterer Respirationstrakt, GIT=Gastrointestinaltrakt, HKS=Herz-Kreislauf-System. Die Symptomkomplexe sind in Tab. 8 im Kapitel 2.2.1 beschrieben

Bei dem Vergleich der Symptome aus Anamnese und DBPCFC ergab sich die größte Diskrepanz zwischen anamnestisch angegebener und bei DBPCFC beobachteter Symptomatik bei den Symptomkomplexen

„Mucosal“ und „unterer Respirationstrakt“.

Hier konnten nur 54,1% bzw. 48,4% der beschriebenen Ereignisse tatsächlich während der Provokation beobachtet werden. Bei „Haut“ stimmten 75,9% und bei „Rhinokonjunktivitis“ 78,6% der Angaben überein. Die Angaben von „Herz-Kreislauf-System“ und „Gastrointestinaltrakt“ deckten sich interessanterweise zu 100% mit den Beobachtungen (s. Abb. 12).

#### 3.3.4 Korrelation des bei der DBPCFC festgestellten Schweregrades mit dem SPT-Ergebnis

Bei dem Vergleich des klinisch ermittelten Schweregrades mit dem SPT-Quaddeldurchmesser konnten wir keinen signifikanten Zusammenhang feststellen. Zwar reagierten die sechs Probanden aus unserem Datensatz, die eine Quaddelgröße >10 mm hatten, auch in der Provokation mit Schweregrad 3 (s. Abb. 13). Allerdings ließ sich bezüglich einer Quaddelgröße <10 mm keine Tendenz feststellen.

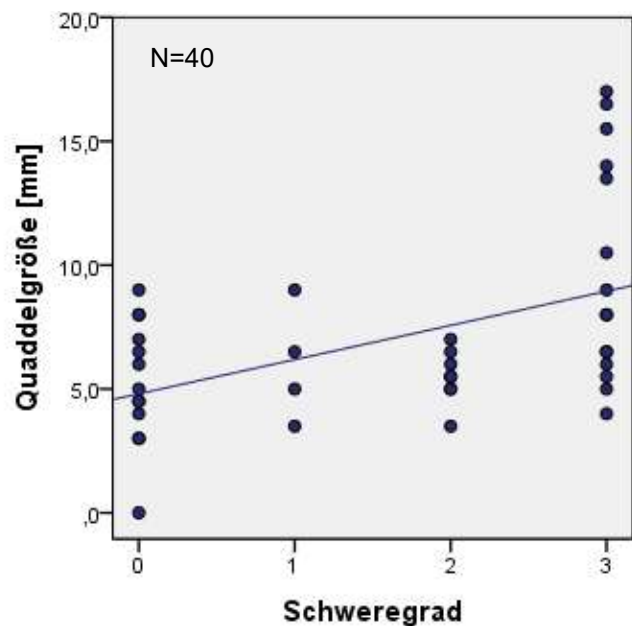


Abb. 13: Korrelation von SPT-Quaddelgröße und dem bei der DBPCFC festgestelltem Schweregrad

### 3.4. Analyse der spezifischen IgE-Werte

#### 3.4.1 Deskriptive Statistik

Das Gesamt-IgE wurde bei allen 97 Probanden bestimmt. Die sIgE-Werte wurden bei allen auf die jeweilige Erd-/Baumnuss sensibilisierten Probanden, die Einzelkomponenten bei den Probanden mit klinisch relevanter Sensibilisierung bestimmt.

##### *Haselnuss*

Die deskriptive Statistik der sIgE-Messungen gegenüber Haselnuss-Extrakt und - Einzelkomponenten sind in Tab. 18 dargestellt.

### 3. Ergebnisse

**Tab. 18:** Anzahl der gemessenen erhöhten Werte beim slgE gegenüber Haselnuss-Extrakt und –Einzelkomponenten (A = Einteilung nach Anamnese, D = Einteilung nach DBPCFC bzw. gesicherter klinischer Vorgeschichte, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung).

slgE	Nachweisbar in N (%) Fällen	Grad 0 [A / D]	Grad 1 [A / D]	Grad 2 [A / D]	Grad 3 [A / D]	MW der erhöhten Werte [kU/l]	SD
<b>Extrakt</b> (N=70)	63 (90,0%)	10 / 7	26 / 6	17 / 6	10 / 3	13,78	18,38
<b>Cor a 1</b> (N=55)	49 (89,0%)	2 / 1	26 / 6	14 / 5	7 / 3	13,88	17,12
<b>Cor a 8</b> (N=55)	6 (10,9%)	-	2 / 1	3 / 1	1 / 0	0,5	0,05
<b>Cor a 9</b> (N=55)	7 (12,7%)	-	2 / 1	4 / 2	2 / 2	4,63	6,77
<b>Cor a 14</b> (N=55)	4 (7,3%)	-	-	2 / 0	2 / 2	5,29	8,90

Das slgE gegenüber dem Haselnuss-Extrakt und dem Bet v 1-Homologen Cor a 1 war bei der Mehrzahl der getesteten Probanden positiv. Bei 47 der 49 Patienten mit erhöhten Werten für slgE gegenüber dem Cor a 1 konnte im SPT ebenfalls eine Sensibilisierung gegenüber Birkenpollen beobachtet werden. Interessanterweise war bei zwei Probanden mit einer systemischen Reaktion (einmal Grad 2, einmmal Grad 3) keine Reaktivität gegenüber dem Haselnuss-Extrakt nachweisbar. Es scheint also noch weitere, im Extrakt nicht enthaltene, relevante Allergene zu geben.

Alle Probanden mit Cor a 14-Reaktivität litten unter einer NMA mit Schweregrad 2 oder 3. Allerdings zeigten 21 der 23 Probanden, die in der Haselnuss-DBPCFC systemisch reagierten, keine Erhöhung von Cor a 14.

#### *Erdnuss*

In Tab. 19 sind die Werte der deskriptiven Statistik der Messungen des Erdnuss-slgEs abgebildet.

### 3. Ergebnisse

**Tab. 19:** Anzahl der gemessenen erhöhten Werte beim slgE gegenüber Erdnuss-Extrakt und –Einzelkomponenten (A = Einteilung nach Anamnese, D= Einteilung nach DBPCFC bzw. gesicherter klinischer Vorgeschichte, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung).

slgE	Nachweisbar in N (%) Fällen	Grad 0 [A / D]	Grad 1 [A / D]	Grad 2 [A / D]	Grad 3 [A / D]	MW der erhöhten Werte [kU/l]	SD
<b>Extrakt</b> (N=43)	29 (60,4%)	4 / 4	5 / 2	7 / 4	13 / 8	25,82	39,06
<b>Ara h 1</b> (N=24)	13 (54,2%)	-	-	2 / 1	11 / 8	35,40	39,79
<b>Ara h 2</b> (N=24)	13 (54,2%)	-	-	2 / 1	11 / 7	36,65	37,35
<b>Ara h 3</b> (N=24)	11 (45,8%)	-	-	2 / 1	9 / 6	18,79	24,94
<b>Ara h 8</b> (N=23)	16 (69,6%)	2 / 2	1 / 1	4 / 1	9 / 5	9,27	11,35
<b>Ara h 9</b> (N=23)	3 (13,0%)	-	-	1 / 0	2 / 1	0,94	0,43

Mit N=16 war das PR-10 Protein Ara h 8 das am häufigsten nachgewiesene Erdnuss-Einzelallergen. Alle 16 Probanden hatten im SPT eine Sensibilisierung gegenüber Birkenpollen. Auffällig ist, dass die Speicherproteine Ara h 1, 2 und 3 ausschließlich bei Probanden mit systemischen Reaktionen nachweisbar waren, was für eine hohe klinische Relevanz der Sensibilisierung spricht. Es gab allerdings auch drei Fälle mit schweren systemischen Reaktionen in der Erdnuss-DBPCFC, bei denen keine Reaktivität gegenüber den Speicherproteinen nachweisbar war.

#### Walnuss

Die deskriptive Statistik des Walnuss-slgE ist in Tab. 20 zu finden.

**Tab. 20:** Anzahl der gemessenen erhöhten Werte beim slgE gegenüber Walnuss-Extrakt und –Einzelkomponenten (A = Einteilung nach Anamnese, D= Einteilung nach DBPCFC bzw. gesicherter klinischer Vorgeschichte, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung).

slgE	Nachweisbar in N (%) Fällen	Grad 0 [A / D]	Grad 1 [A / D]	Grad 2 [A / D]	Grad 3 [A / D]	MW der erhöhten Werte [kU/l]	SD
<b>Extrakt</b> (N=18)	9 (50,0%)	-	1 / 0	4 / 3	4 / 3	10,92	23,90
<b>Jug r 1</b> (N=8)	3 (37,5%)	-	-	-	3 / 3	11,23	18,33
<b>Jug r 3</b> (N=8)	2 (25,0%)	-	-	1 / 1	1 / 1	3,05	3,61

Sensibilisierungen gegenüber den Speicherproteine Jug r 1 und Jug r 3 waren ausschließlich bei objektiv systemisch reagierenden Probanden nachweisbar. Ein

### 3. Ergebnisse

Proband mit bestätigter Anaphylaxie in der Vorgeschichte wies mit IgE gegenüber Walnuss-Extrakt = 74,4 kU/l und Jug r 1 = 32,4 kU/l im Vergleich zu den anderen sehr hohe Werte auf. IgE gegenüber Jug r 3 lag bei diesem Probanden allerdings unterhalb der Nachweisgrenze.

#### Andere Baumnüsse

Zusätzlich zu den Nuss-spezifischen IgE-Werten wurde das Paranuss-Speicherprotein Ber e 3 bei drei Probanden mit Paranuss-Anaphylaxie in der Vorgeschichte bestimmt. In allen drei Fällen ließ sich IgE nachweisen. Dies und die Ergebnisse der anderen Nuss-spezifischen IgE-Messungen sind in Tab. 21 dargestellt.

**Tab. 21:** Anzahl der gemessenen erhöhten Werte beim IgE gegenüber den anderen Baumnüssen (A = Einteilung nach Anamnese, D = Einteilung nach DBPCFC bzw. gesicherter klinischer Vorgeschichte), MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung).

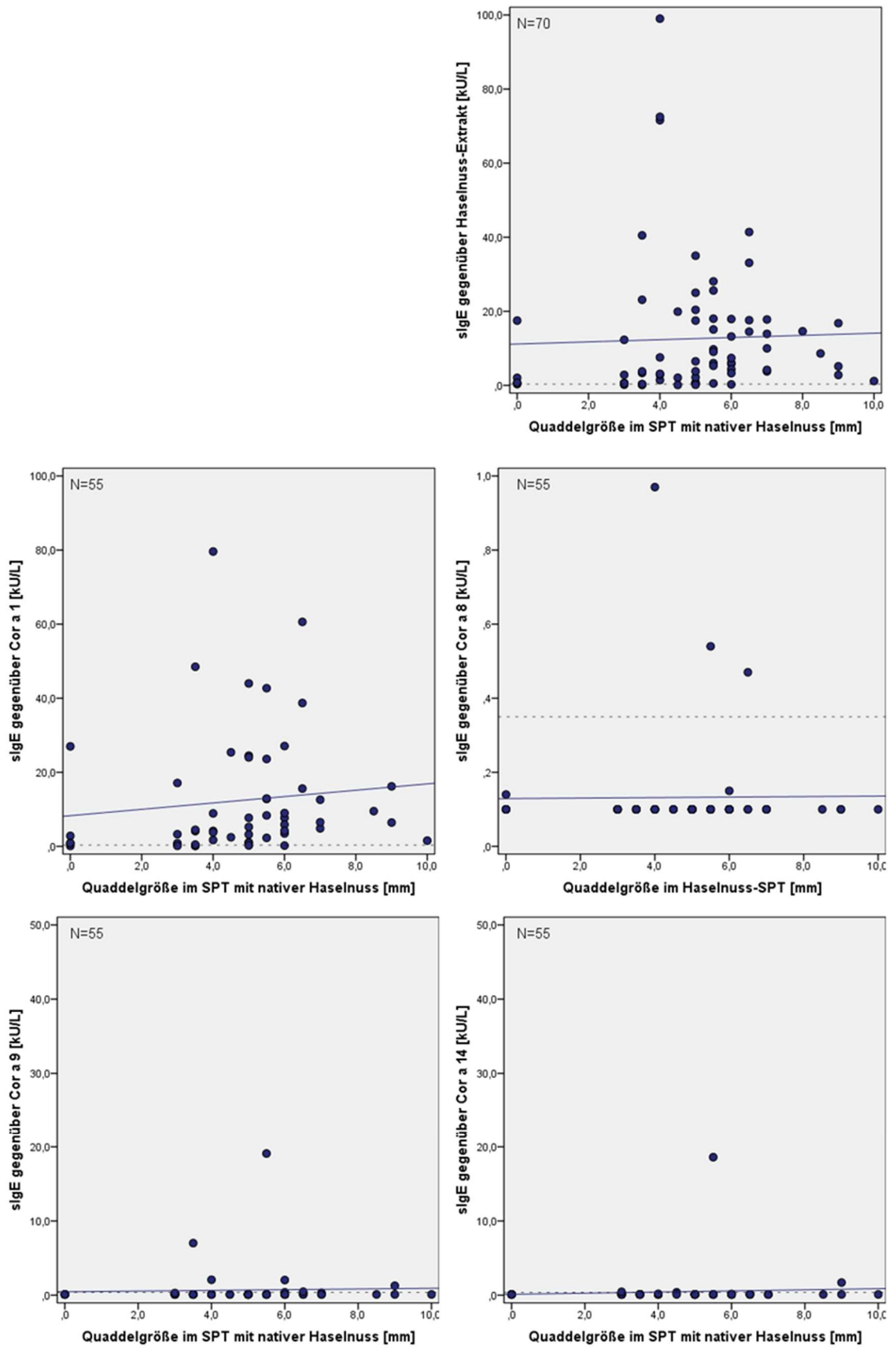
slgE	Nachweisbar in N (%) Fällen	Grad 0 [A / D]	Grad 1 [A / D]	Grad 2 [A / D]	Grad 3 [A / D]	MW der erhöhten Werte [kU/l]	SD
<b>Paranuss-Extrakt (N=5)</b>	4 (80,0%)	-	-	-	4 / 3	8,75	5,85
<b>Bere 1 (N=3)</b>	3 (100%)	-	-	-	3 / 3	12,47	4,96
<b>Cashew-Extrakt (N=7)</b>	2 (28,6%)	-	-	-	2 / 0	20,44	26,11
<b>Macadamia-Extrakt (N=29)</b>	9 (31,0%)	-	2 / 0	4 / 0	3 / 0	1,66	2,29
<b>Mandel-Extrakt (N=28)</b>	18 (64,3%)	2 / 1	6 / 0	6 / 0	4 / 0	1,80	2,00
<b>Pekanuss-Extrakt (N=16)</b>	8 (50,0%)	-	-	3 / 1	5 / 2	5,08	9,62
<b>Pistazie-Extrakt (N=7)</b>	4 (57,1%)	-	-	2 / 1	2 / 1	12,40	20,81

#### 3.4.2 Korrelation der IgE-Werte mit der Quaddelgröße im SPT

##### Haselnuss

Der Vergleich des IgE gegenüber dem Extrakt und den Einzelkomponenten der Haselnuss mit der SPT-Quaddelgröße ergab die in Abb. 14 dargestellten Ergebnisse. Signifikante Korrelationen mit der Quaddelgröße konnten für das IgE gegenüber Haselnuss-Extrakt ( $r_s=0,307$ ) und Cor a 1 ( $r_s=0,375$ ) festgestellt werden. Der p-Wert betrug in beiden Fällen 0,01.

### 3. Ergebnisse



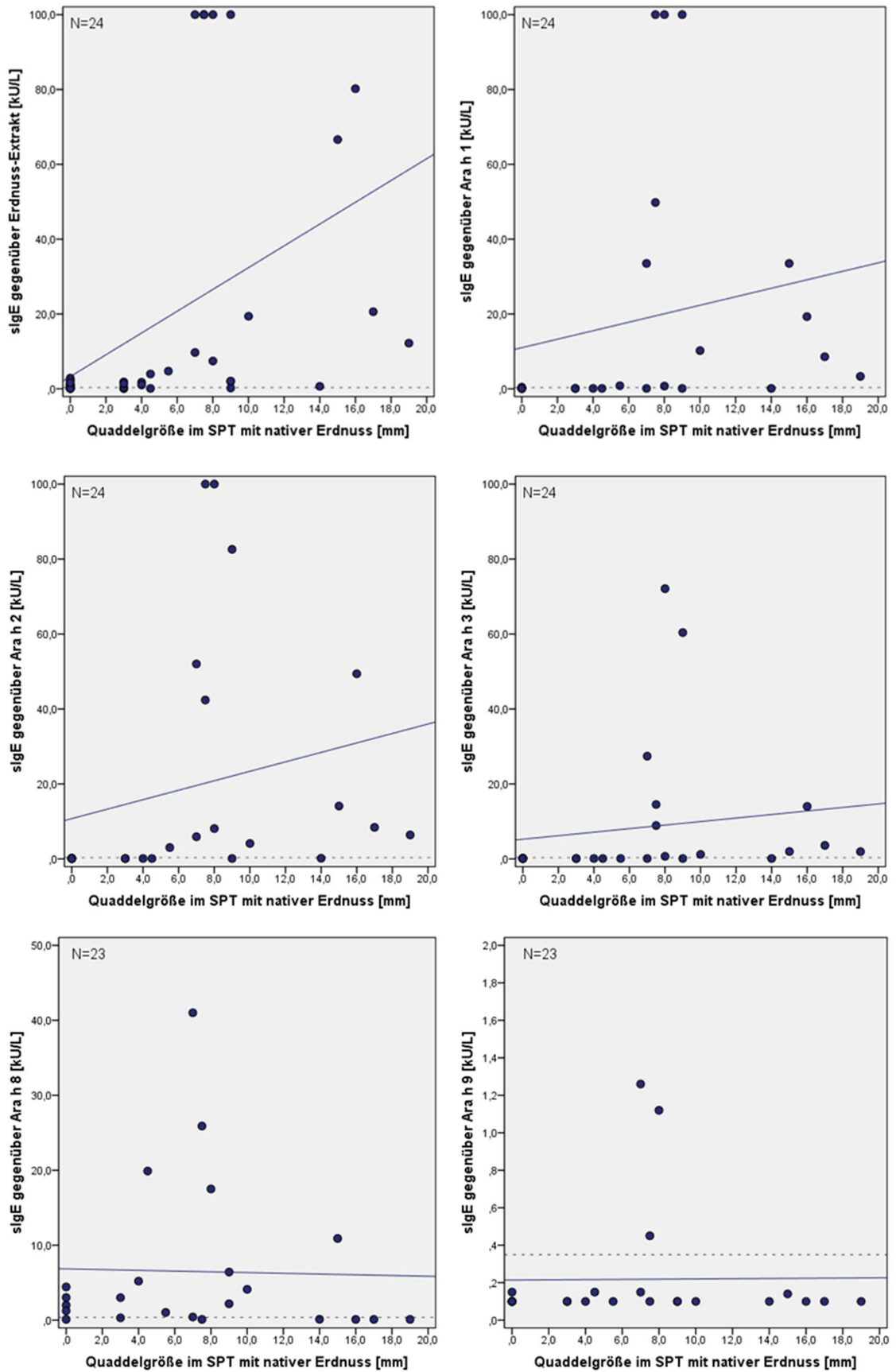
**Abb. 14:** Korrelationen der Haselnuss-sigE-Werte mit den Quaddelgrößen im SPT mit nativer Haselnuss (die blaue durchgezogene Linie ist die lineare Anpassungslinie der Gleichung, die gestrichelte Linie zeigt den Schwellenwert von 0,35 kU/L an)



#### *Erdnuss*

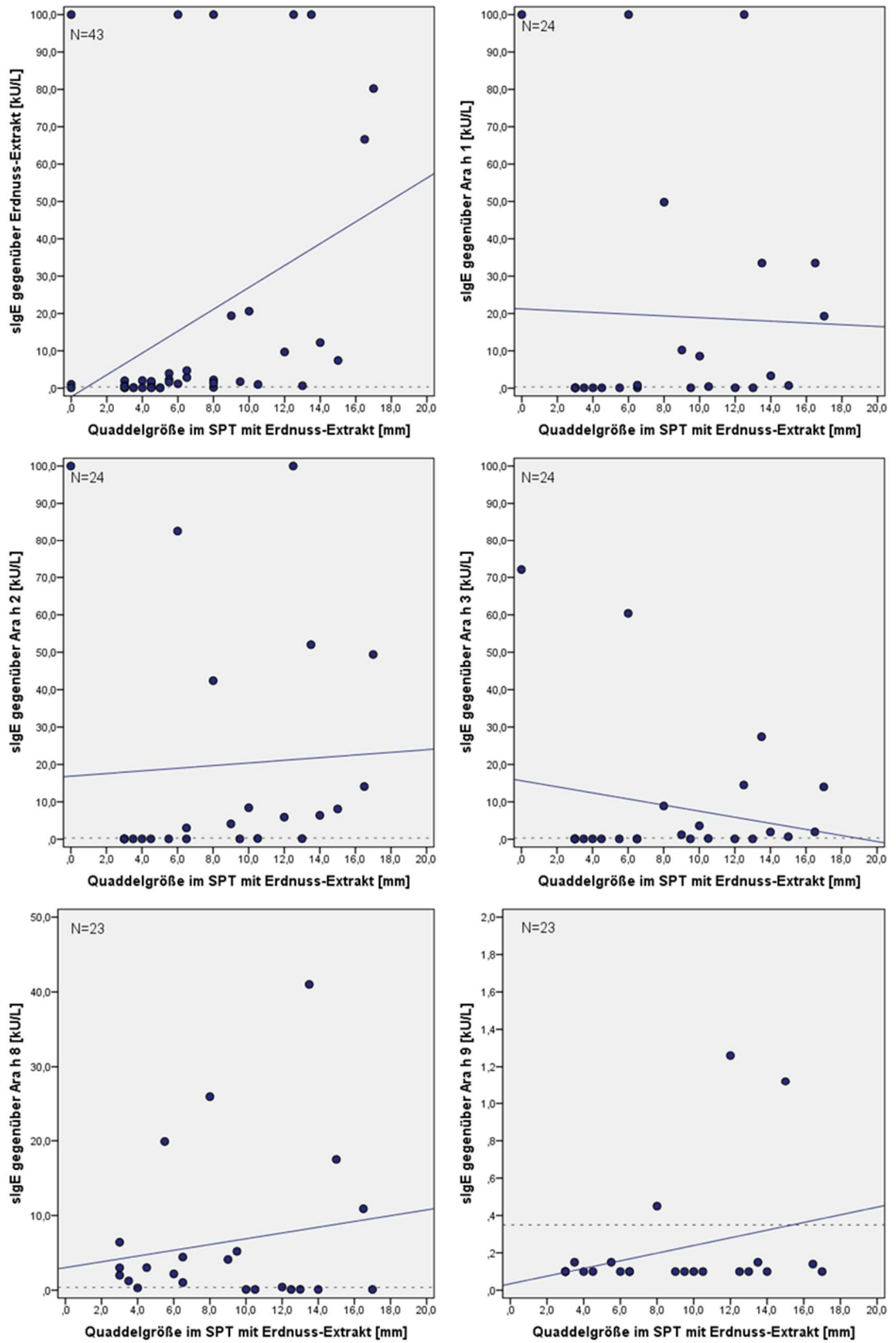
Im Vergleich des slgE gegenüber dem Erdnuss-Extrakt und den -Einzelkomponenten mit den Quaddelgrößen des SPT mit der nativen Erdnuss korrelierten das slgE gegenüber dem Erdnuss-Extrakt mit  $r_s=0,625$  ( $p<0,01$ ), gegenüber Ara h 1 mit  $r_s=0,559$  ( $p=0,05$ ), gegenüber Ara h 2 mit  $r_s=0,620$  ( $p=0,01$ ), gegenüber Ara h 3 mit  $r_s=0,570$  ( $p=0,04$ ) auf signifikantem Niveau. Bei dem Vergleich mit den SPT-Quaddelgrößen des Erdnuss-Extrakts konnten signifikante Korrelationen für das slgE gegenüber Erdnuss-Extrakt ( $r_s=0,588$ ,  $p<0,01$ ) und Ara h 2 ( $r_s=0,496$ ,  $p=0,014$ ) festgestellt werden. Die Ergebnisse sind in Abb. 15 für den SPT mit nativer Erdnuss und Abb. 16 für den SPT mit Erdnuss-Extrakt dargestellt.

### 3. Ergebnisse



**Abb. 15:** Korrelationen der Erdnuss-sIgE-Werte mit den Quaddelgrößen im SPT mit nativer Erdnuss (die blaue durchgezogene Linie ist die lineare Anpassungslinie der Gleichung, die gestrichelte Linie zeigt den Schwellenwert von 0,35 kU/L an)

### 3. Ergebnisse



**Abb. 16:** Korrelationen der Erdnuss-sIgE-Werte mit den Quaddelgrößen im SPT mit nativer Erdnuss (die blaue durchgezogene Linie ist die lineare Anpassungslinie der Gleichung, die gestrichelte Linie zeigt den Schwellenwert von 0,35 kU/L an)

#### *Walnuss*

Bei den Vergleichen des sIgE gegenüber Walnuss-Extrakt und den Einzelkomponenten mit der SPT-Quaddelgröße handelt es sich in der vorliegenden Untersuchung um eine explorative Analyse. Zwar korrelierte das sIgE gegenüber dem Walnuss-Extrakt signifikant mit dem Schweregrad, dies ist jedoch aufgrund der geringen Fallzahl (N=18) nicht aussagekräftig.

#### *Paranuss*

Auch die Analyse der Paranuss-sIgE-Werte in Bezug auf ihre Korrelation mit der Quaddelgröße ist explorativ. Bei der Fallzahl von N=5 lassen sich keine allgemein gültigen Aussagen treffen.

#### *Anderer Baumnüsse*

Bei dem Vergleich der sIgE-Werte der anderen Nüsse mit der jeweiligen Quaddelgröße im SPT ergaben sich keinerlei signifikante Korrelationen. Auch bei diesen Testungen gilt, dass die Fallzahlen insgesamt zu gering sind, um eine klinisch relevante Aussage zu treffen. Erwähnenswert ist, dass die sIgE-Werte gegenüber Cashew- und Pistazie-Extrakt mit einem  $r_s$  von 1,0 signifikant miteinander korrelierten, was durch die beschriebene botanische Verwandtschaft (s. Kap. 1.1.3.) erklärbar ist.

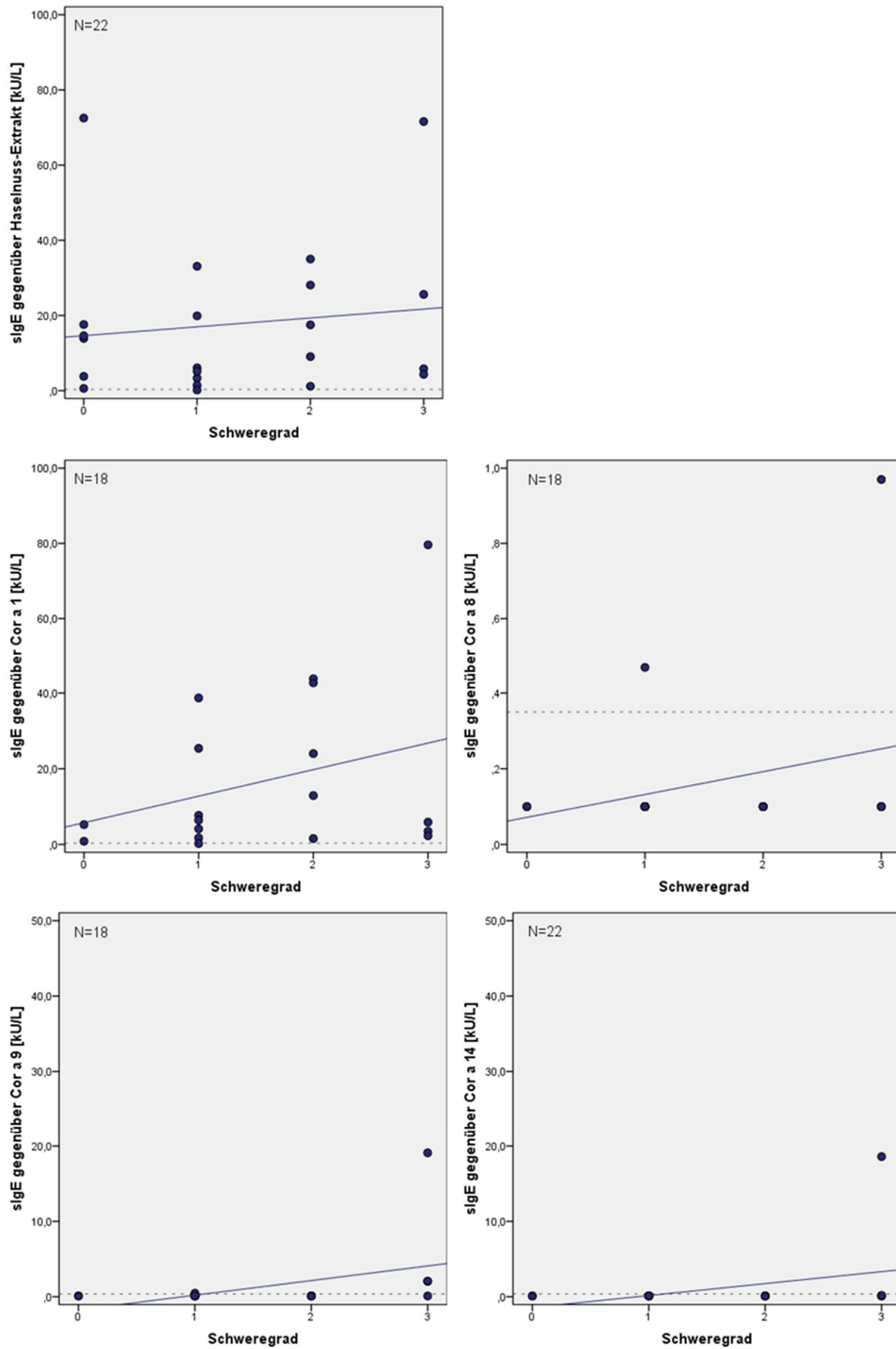
### **3.4.3 Korrelation der sIgE-Werte mit dem bei der DBPCFC festgestellten Schweregrad**

In 40 Fällen wurde der Schweregrad der Reaktion durch die im Rahmen der Untersuchung durchgeführten DBPCFC festgelegt. In fünf weiteren Fällen, bei denen zwar keine DBPCFC durchgeführt wurde, konnte der Schweregrad jedoch durch die klinische Vorgeschichte im Allergiezentrum als bewiesen angesehen werden. Für diese 45 Fälle wurde ein Vergleich des Schweregrades mit den jeweiligen sIgE-Werten erstellt.

#### *Haselnuss*

Bei den beschriebenen Probanden wurde das sIgE gegenüber dem Extrakt 22-mal und gegenüber den Einzelkomponenten 18-mal bestimmt. Die Aufstellung im Vergleich mit dem Schweregrad ist in Abb. 17 dargestellt. Signifikante positive Korrelationen ergaben sich für Cor a 9 ( $r_s=0,515$ ,  $p=0,029$ ) und Cor a 14 ( $r_s=0,499$ ,  $p=0,035$ ). Mit dem Mann-Whitney-U-Test konnten zwischen den einzelnen Schweregraden erwartungsgemäß keine signifikanten Unterschiede der sIgE-Werte festgestellt werden.

### 3. Ergebnisse



**Abb. 17:** Korrelation des sigE gegenüber Haselnuss mit dem bei der DBPCFC festgestellten Schweregrad (die durchgezogene Linie ist die lineare Anpassungslinie der Gleichung, die gestrichelte Linie zeigt den Schwellenwert von 0,35 kU/L an)

### 3. Ergebnisse

Die Sensitivität und Spezifität für einen Schwellenwert von 0,35 kU/L sind in Tab. 22 dargestellt. Die besten Ergebnisse erzielten wir mit einer Sensitivität von 88,8% bei einer Spezifität von 50% mit Cor a 9. Eine

**Tab. 22:** Sensitivität und Spezifität des slgE gegenüber Haselnuss bei einem Schwellenwert von 0,35 kU/L

slgE gegenüber	N	Sensitivität [%]	Spezifität [%]
<b>HN-Extrakt</b>	22	100	15,3
<b>Cor a 1</b>	18	100	11,1
<b>Cor a 8</b>	18	11,1	88,8
<b>Cor a 9</b>	18	50,0	88,8
<b>Cor a 14</b>	18	11,1	100
<b>Cor a 9 + Cor a 14</b>	18	50	88,8

Kombination der Messungen des slgE gegenüber Cor a 9 und Cor a 14 ergab die gleichen Ergebnisse wie die Messung des slgE gegenüber Cor a 9 alleine.

#### *Erdnuss*

Das slgE gegenüber dem Erdnuss-Extrakt wurde bei den oben beschriebenen Probanden in 18 Fällen bestimmt. Das slgE gegenüber Ara h 1, 2 und 3 bei jeweils 13 Probanden und gegenüber Ara h 8 und 9 bei je 12. Eine signifikante Korrelation mit dem Schweregrad ergab sich beim Erdnuss-slgE ( $r_s=0,699$ ,  $p=0,01$ ) und den Speicherproteinen Ara h 1 ( $r_s=0,665$ ,  $p=0,013$ ), Ara h 2 ( $r_s=0,730$ ,  $p=0,05$ ) und Ara h 3 ( $r_s=0,598$ ,  $p=0,031$ ) (s. Abb. 18). Für das slgE gegenüber dem Erdnuss-Extrakt konnte mit dem Mann-Whitney-U-

Test ein signifikanter Unterschied zwischen den Schweregraden 0 und 3 ermittelt werden.

Andere Unterschiede wurden nicht festgestellt.

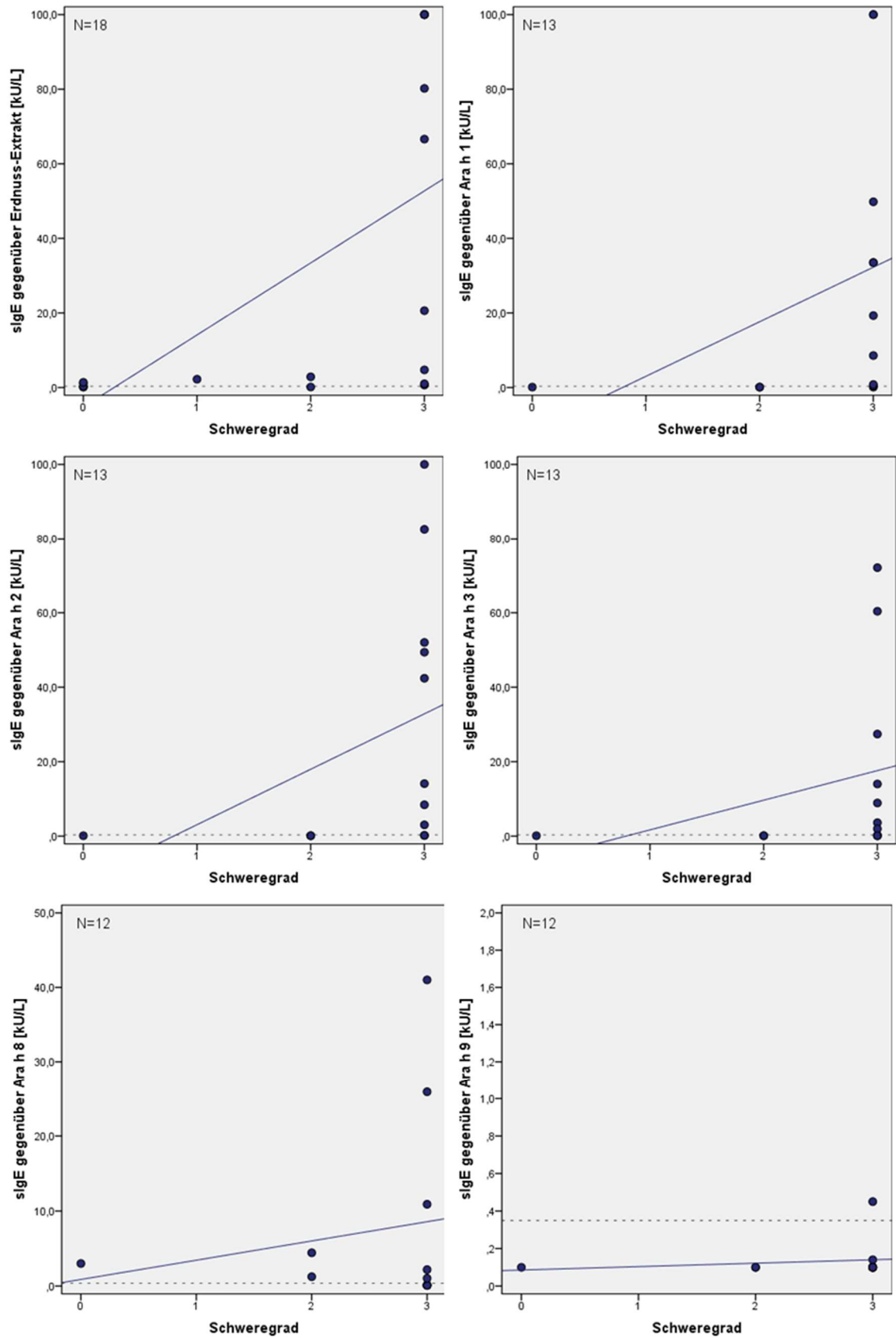
Die Werte für Sensitivität und Spezifität bei einem Schwellenwert von 0,35 kU/L sind in Tab. 23 zu finden. In den

**Tab. 23:** Sensitivität und Spezifität des slgE gegenüber Erdnuss bei einem Schwellenwert von 0,35 kU/L

slgE gegenüber	N	Sensitivität [%]	Spezifität [%]
<b>EN-Extrakt</b>	18	91,6	50,0
<b>Ara h 1</b>	13	75,0	100
<b>Ara h 2</b>	13	66,6	100
<b>Ara h 3</b>	13	58,3	100
<b>Ara h 8</b>	12	63,6	-
<b>Ara h 9</b>	12	9,1	100
<b>Ara h 1 + Ara h 2 + Ara h 3</b>	13	75	100

Einzelmessungen ergab sich mit einer Spezifität von 100% bei einer Sensitivität von 66,6% das besten Ergebnisse für das slgE gegenüber Ara h 2. Durch die kombinierte Messung von Ara h 1, Ara h 2 und Ara h 3 erhöhte sich die Sensitivität auf 75,0%.

### 3. Ergebnisse



**Abb. 18:** Korrelation des sigE gegenüber Erdnuss mit dem bei der DBPCFC festgestellten Schweregrad (die durchgezogene Linie ist die lineare Anpassungslinie der Gleichung, die gestrichelte Linie zeigt den Schwellenwert von 0,35 kU/L an)

#### *Walnuss*

Das sIgE gegenüber Walnuss-Extrakt wurde in sechs, gegenüber Jug r 1 und 3 in fünf Fällen mit dem Schweregrad verglichen werden. Jug r 1 korrelierte signifikant mit dem Schweregrad ( $r_s=0,889$ ,  $p=0,044$ ), jedoch sind auch hier die durchgeführten Analysen aufgrund der geringen Fallzahl nur explorativ. Mit dem Mann-Whitney-U-Test konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Schweregraden festgestellt werden.

### **3.5. Biomarker**

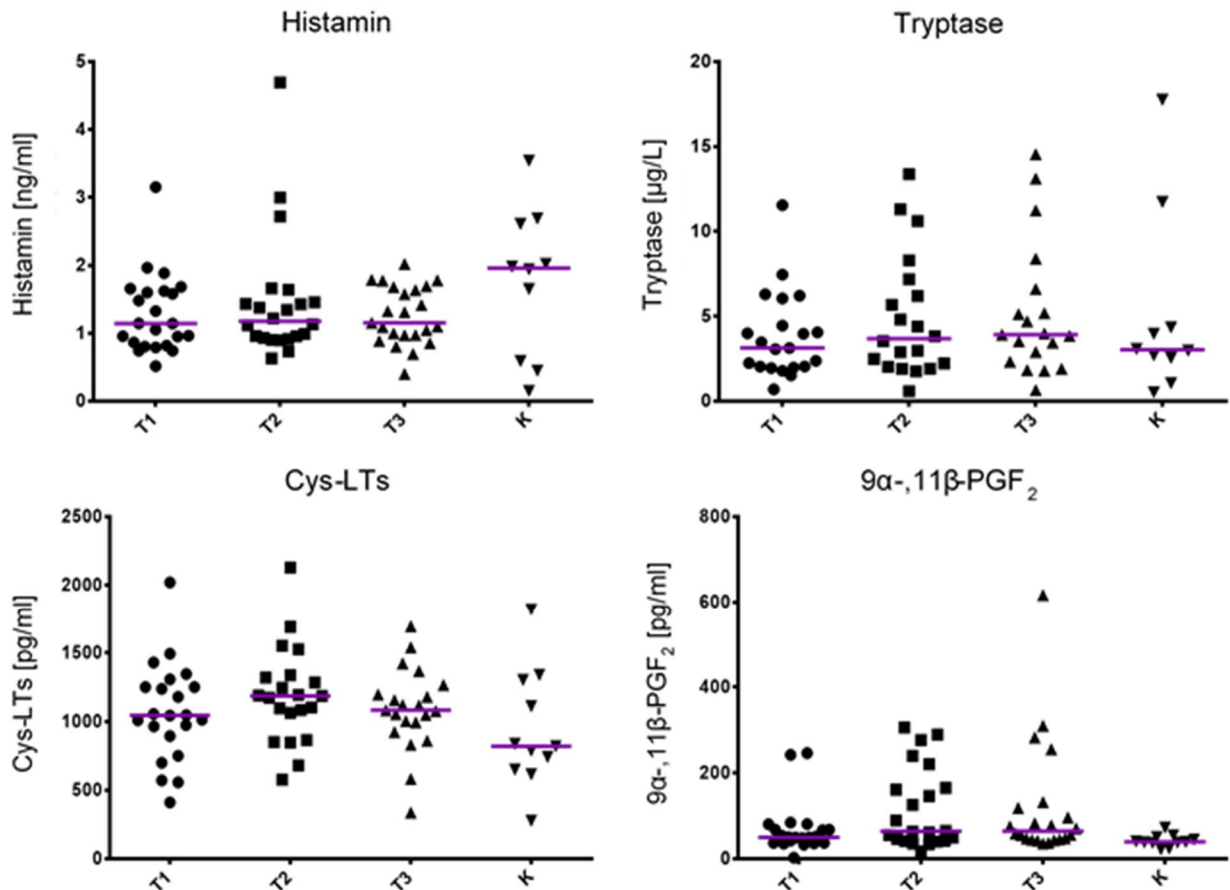
#### **3.5.1 Deskriptive Statistik**

Die Mastzellmediatoren bzw. deren Abbauprodukt Histamin, Tryptase, cys-LTs und  $9\alpha$ -, $11\beta$ -PGF<sub>2</sub> wurden bei den 23 positiven DBPCFCs mit Schweregrad 2 (N=8) und 3 (N=15) jeweils zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3, sowie bei elf der 13 gesunden Kontrollprobanden (K) bestimmt. Verwertbare Ergebnisse konnten wir für Histamin zu den Zeitpunkten T1 und T3 von 23 und zum Zeitpunkt T2 von 22 Probanden messen. Tryptase-Werte lagen bei 21 Probanden zu T1 und bei jeweils 19 Probanden zu T2 und T3 vor. Cys-LTs konnten zu T1 bei 23, zu T2 bei 21 und zu T3 bei 22 Probanden und  $9\alpha$ -, $11\beta$ -PGF<sub>2</sub> zu allen Zeitpunkten bei je 22 Probanden bestimmt werden. Eine Übersicht über die ermittelten Werte liefern Abb. 19 und Tab. 24. Die fehlenden Messergebnisse beruhten auf einem zu geringen Serum-Volumen oder Ergebnissen, die sich außerhalb der ELISA – Detektionsgrenzen befanden.

Mit dem Mann-Whitney-U-Test konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Allergikergruppen und der Kontrollgruppe festgestellt werden. Der einzige Marker, bei dem bei keinem Probanden der Kontrollgruppe erhöhte Werte gemessen wurden, war  $9\alpha$ -, $11\beta$ -PGF<sub>2</sub>. Bei den Histamin-Messungen liegen Mittelwert und Median in der Kontrollgruppe sogar oberhalb der Messwerte in den Allergikergruppen. In sechs Fällen konnte ein Anstieg aller vier Marker bei der Reaktion beobachtet werden. In allen Fällen reagierten die Probanden mit einem Schweregrad 3. Bei den meisten Probanden, die in der DBPCFC mit Schweregrad 3 reagierten, stiegen mindestens drei der vier Biomarker. Interessanterweise gab es aber einen Probanden mit einem Schweregrad 3, bei dem keiner der Marker anstieg.



### 3. Ergebnisse



**Abb. 19:** Messwerte der Biomarker in den positiven Provokationen zu den einzelnen Messzeitpunkten im Vergleich mit der Kontrollgruppe (die lilafarbene Linie stellt den Median dar)

Tab. 24: Mittelwert (MW), Median und Standardabweichung SD der Serumlevel der Biomarker zu den einzelnen Messpunkten

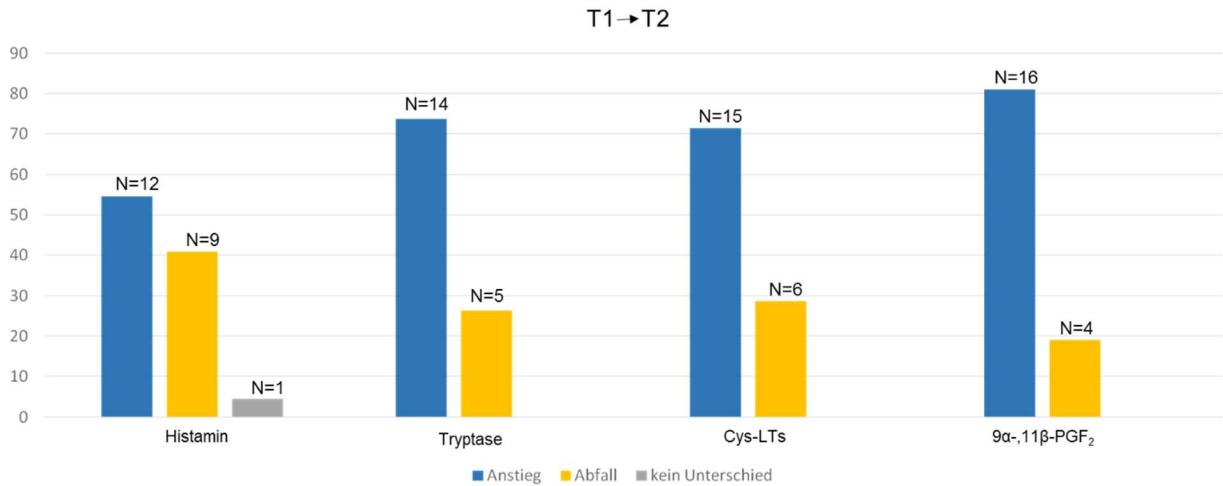
Biomarker	Messpunkt	Median	MW	SD
Histamin [ng/ml]	T1	1,14	1,28	0,58
	T2	1,18	1,46	0,92
	T3	1,15	1,26	0,42
	K	1,96	1,76	1,08
Tryptase [µg/L]	T1	3,12	3,82	2,53
	T2	3,81	4,99	3,65
	T3	3,91	5,21	3,93
	K	3,02	5,02	5,42
cys-LTs [pg/ml]	T1	1042,8	1015,2	419,7
	T2	1185,7	1201,2	340,2
	T3	1079,5	1052,9	336,0
	K	819,2	936,7	425,5

<b>9<math>\alpha</math>-,11<math>\beta</math>-PGF<sub>2</sub> [pg/ml]</b>	<b>T1</b>	48,5	65,9	60,6
	<b>T2</b>	64,4	117,2	93,7
	<b>T3</b>	72,1	121,0	136,5
	<b>K</b>	39,3	41,9	14,0

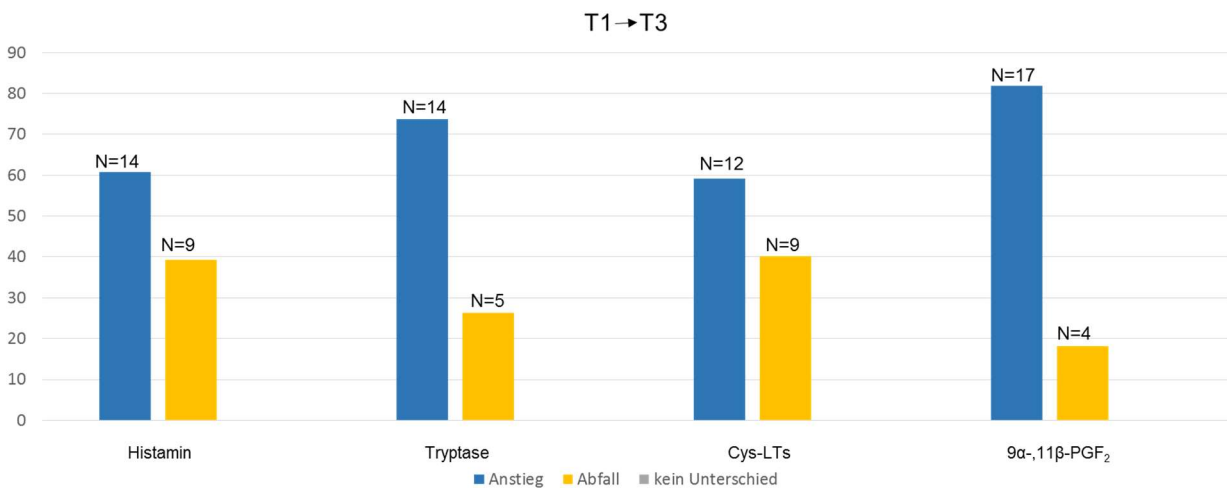
### 3.5.2 Die Entwicklung der Plasmaspiegel der Biomarker im Verlauf der DBPCFC

Bei der Betrachtung der Serumwerte im Verlauf der Provokationen wird deutlich, dass die Serumspiegel aller vier Marker während einer allergischen Reaktion nicht immer ansteigen (s. Abb. 20 und 21). Vor allem bei Histamin entspricht der zeitliche Verlauf oftmals nicht der erwarteten Kurve: Zum Zeitpunkt T2 konnte man im Vergleich zu T1 nur bei 12 Probanden einen Anstieg beobachten, bei einem Probanden blieb der Wert gleich, bei neun fiel er im Vergleich zum Basalwert sogar ab. Am zuverlässigsten bezüglich des Anstiegens war zu beiden Zeitpunkten 9 $\alpha$ -,11 $\beta$ -PGF<sub>2</sub>. Aber auch hier konnte bei drei Probanden ein Abfall der Werte von T1 auf T2 beobachtet werden. Einzig bei den Tryptase-Werten konnten signifikante Korrelationen des prozentualen Anstiegs/Abfalls mit dem Schweregrad der Reaktion festgestellt werden: Der Korrelationskoeffizient betrug hierbei  $r_s=0,742$  ( $p<0,01$ ) für T1-T2 bzw.  $r_s=0,703$  ( $p=0,01$ ) für T1-T3.

### 3. Ergebnisse



**Abb. 20:** Der prozentuale Vergleich der Entwicklung (Anstieg bzw. Abfall) der Serumspiegel der Biomarker von T1 bis T2



**Abb. 21:** Der prozentuale Vergleich der Entwicklung (Anstieg bzw. Abfall) der Serumspiegel der Biomarker von T1 bis T3

Die Zeitkurve der einzelnen Marker ist in Abb. 22 dargestellt. Signifikante Unterschiede wurden für Tryptase zwischen T1/T2 ( $p=0,004$ ) und T1/T3 ( $p=0,002$ ), für  $9\alpha-,11\beta\text{-PGF}_2$  zwischen T1/T2 ( $p=0,002$ ) und T1/T3 ( $p=0,007$ ) und für cys-LTs zwischen T1/T2 ( $p=0,017$ ) festgestellt. Diese wurden mit dem Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben berechnet. Bemerkenswert ist, dass zwischen den Zeitpunkten T2 und T3 keiner der Marker mehr signifikant anstieg.

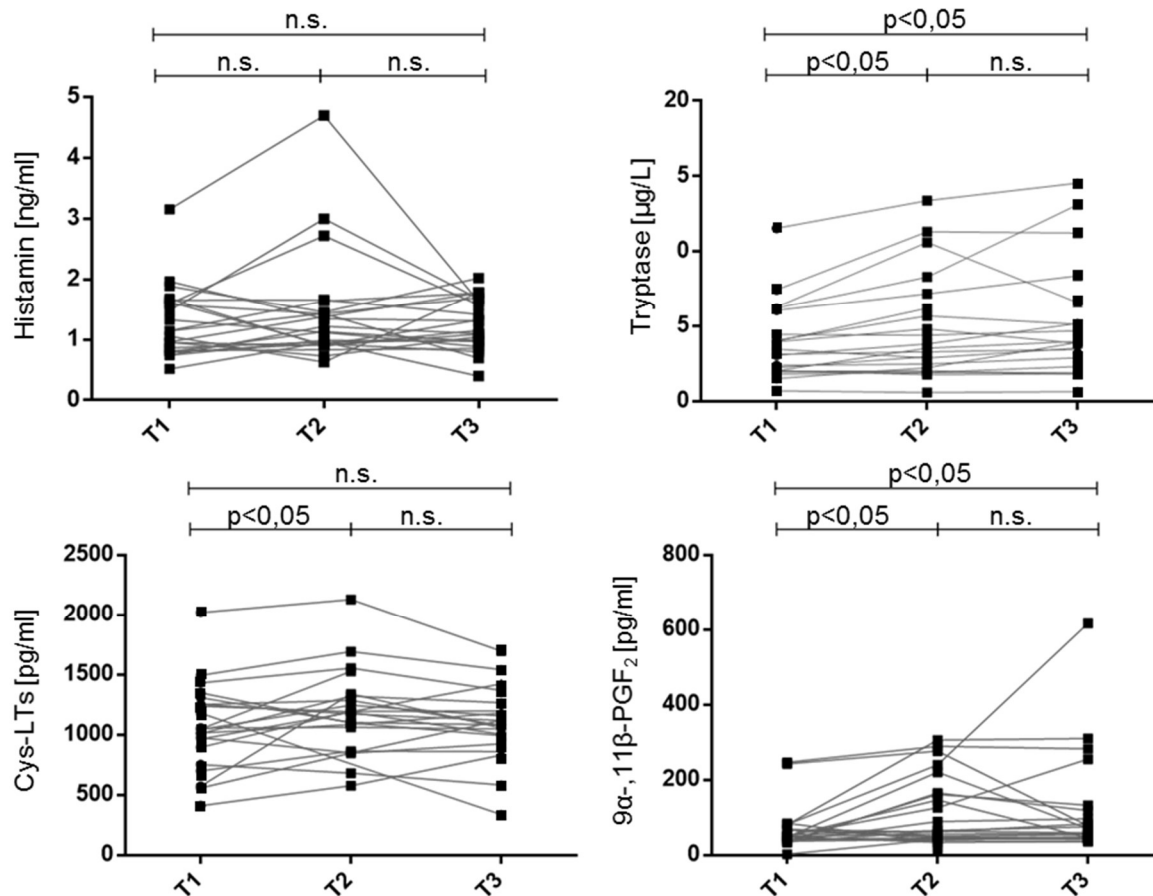


Abb. 22: Die Zeitkurven der Serumwerte im Verlauf der DBPCFC (n.s. = nicht signifikant)

### 3.5.3 Korrelation der Biomarker untereinander

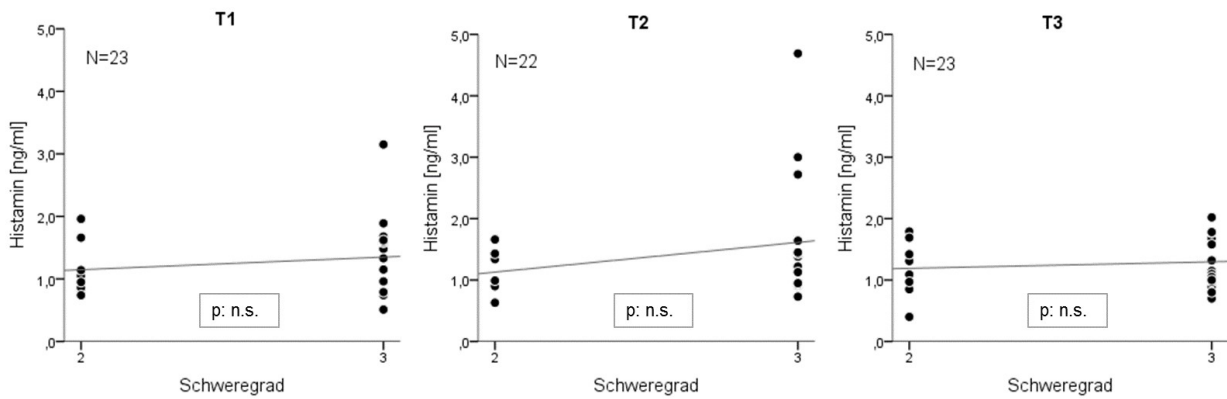
Weder zwischen den Absolutwerten der Marker zu den einzelnen Messzeitpunkten, noch zwischen dem prozentualen Anstieg/Abfall von T1 auf T2 bzw. T3 konnten signifikante Korrelationen eines Biomarkers mit einem oder der anderen Markern festgestellt werden.

### 3.5.4 Korrelation der Biomarker mit dem bei der DBPCFC festgestellten Schweregrad

#### Histamin

Bezüglich der Histamin-Werte konnten zu keinem Mess-Zeitpunkt signifikante Korrelationen der Serumwerte mit dem Schweregrad der Reaktion in der DBPCFC festgestellt werden (s. Abb. 23). Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Histaminwerten mit dem Mann-Whitney-U-Test ermittelt, wenn die Gruppen nach dem Schweregrad der Reaktion differenziert wurden.

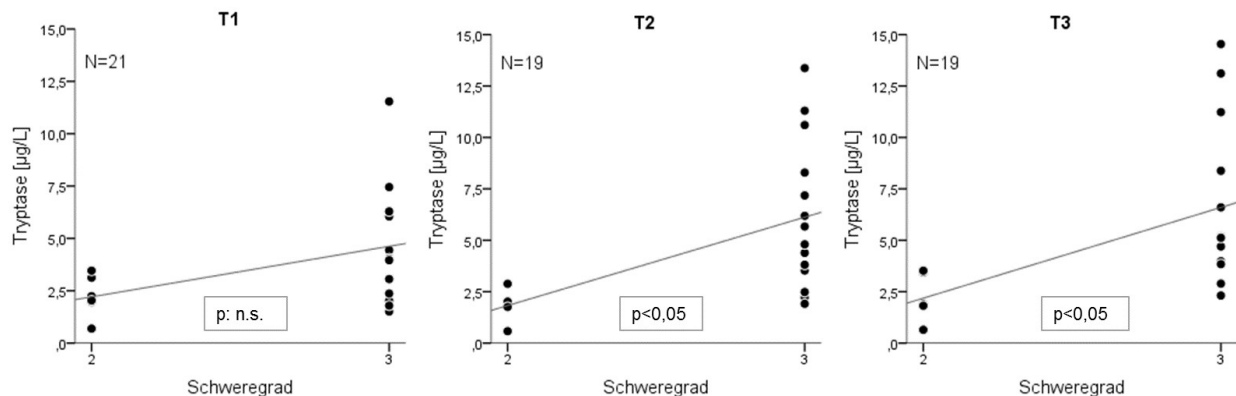
### 3. Ergebnisse



**Abb. 23:** Histamin-Werte zu den Mess-Zeitpunkten T1, T2 und T3 in Relation zum Schweregrad der Reaktion in der DBPCFC (n.s. = nicht signifikant)

#### Tryptase

Die Vergleiche der Tryptase-Werte mit dem durch die DBPCFC ermittelten Schweregrad sind in Abb. 24 dargestellt. Es zeigten sich signifikante Korrelationen zu den Zeitpunkten T2 ( $r_s=0,676$ ,  $p=0,001$ ) und T3 ( $r_s=0,724$ ,  $p<0,001$ ), wenn die Gruppen nach dem Schweregrad differenziert wurden. Signifikante Unterschiede zwischen den Schweregrad-Gruppen konnten mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet werden.

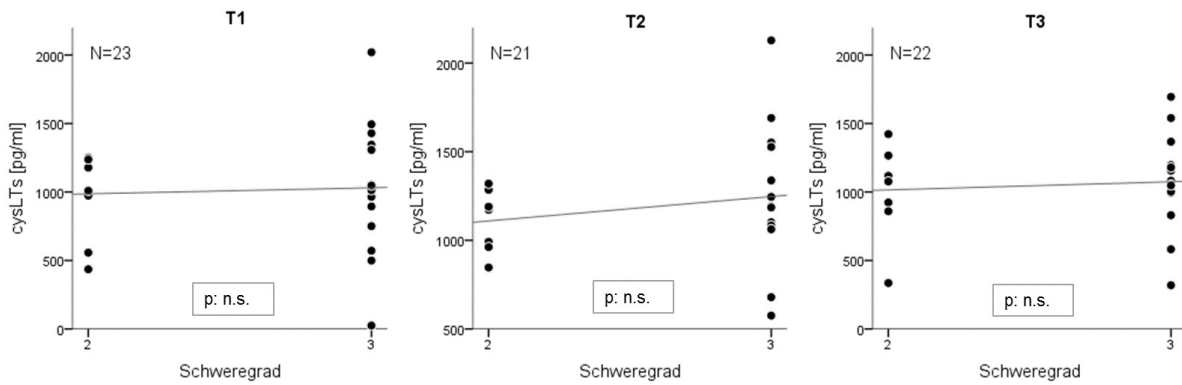


**Abb. 24:** Tryptase-Werte zu den Mess-Zeitpunkten T1, T2 und T3 in Relation zum Schweregrad der Reaktion in der DBPCFC (n.s. = nicht signifikant)

#### Cys-LTs

Für die Werte der cys-LTs konnten keine signifikanten Korrelationen mit dem Schweregrad oder signifikante Unterschiede in den Serumwerten zwischen den Schweregraden ermittelt werden (s. Abb. 25).

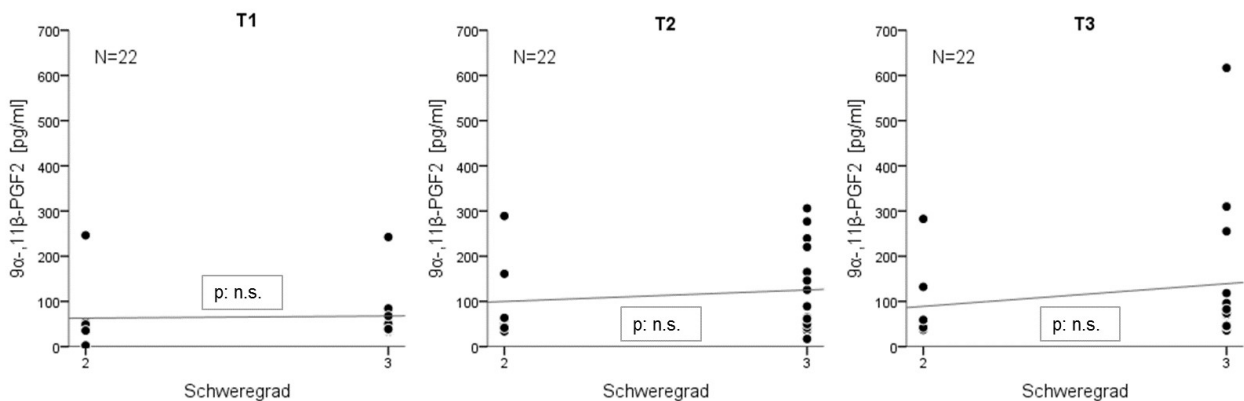
### 3. Ergebnisse



**Abb. 25:** Cys-LTs-Werte zu den Mess-Zeitpunkten T1, T2 und T3 in Relation zum Schweregrad der Reaktion in der DBPCFC (n.s. = nicht signifikant)

#### $9\alpha$ -, $11\beta$ -PGF<sub>2</sub>

Auch für  $9\alpha$ -, $11\beta$ -PGF<sub>2</sub> waren in keiner der angewandten Analysen signifikante Korrelationen oder Unterschiede bzgl. der Schweregrade nachweisbar (s. Abb. 26).

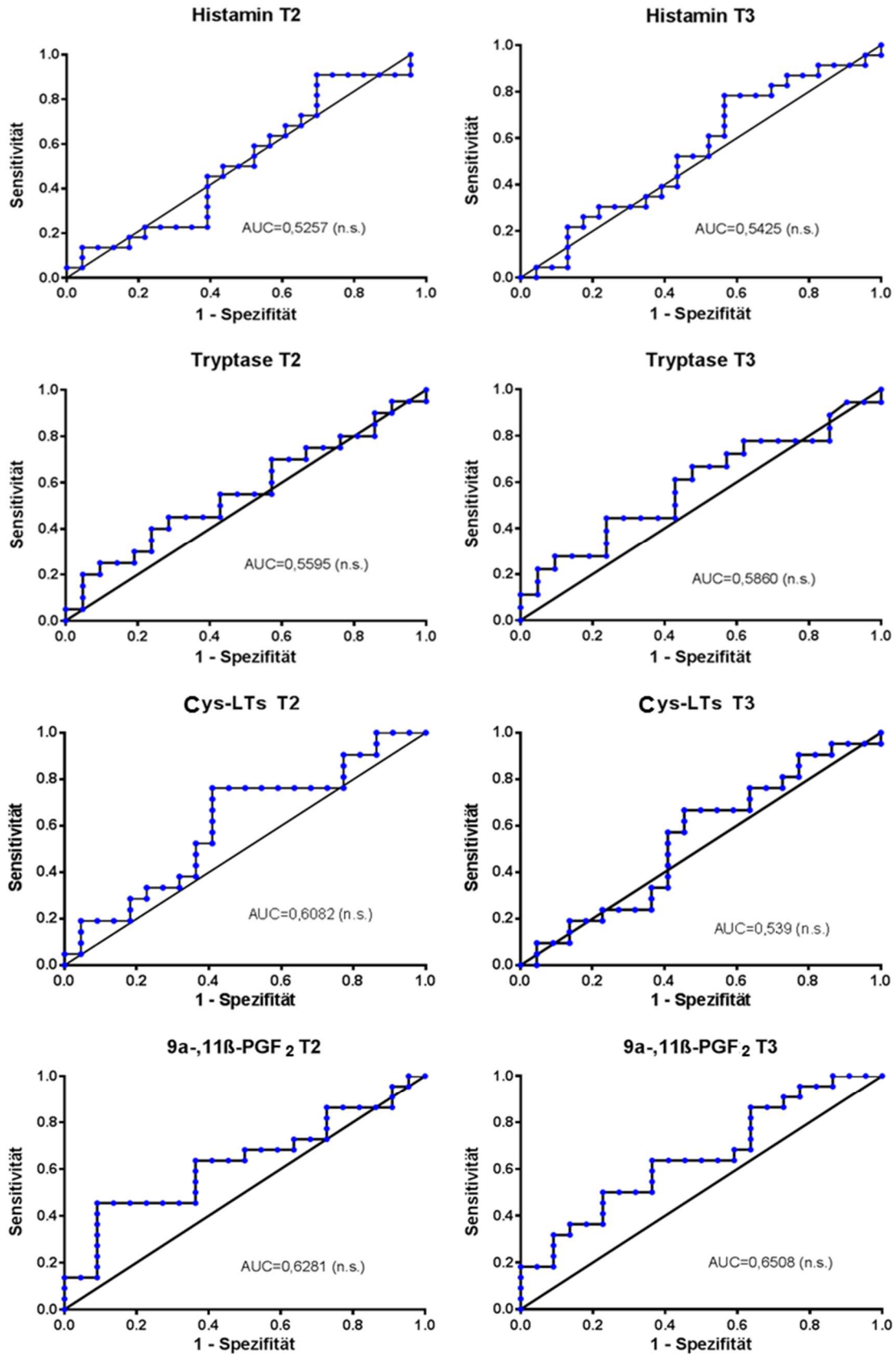


**Abb. 26:**  $9\alpha$ -, $11\beta$ -PGF<sub>2</sub>-Werte zu den Mess-Zeitpunkten T1, T2 und T3 in Relation zum Schweregrad der Reaktion in der DBPCFC (n.s. = nicht signifikant)

#### 3.5.5. Receiver Operating Characteristic

Die Receiver Operating Characteristic (ROC)-Kurven zur Analyse der diagnostischen Testsicherheit sind in Abb. 27 dargestellt. Die Analyse wurde für die Biomarker-Messungen zu den Zeitpunkten T2 und T3 jeweils im Vergleich zum Basalwert (T1) durchgeführt. Die höchsten AUC-Werte ergaben sich mit 0,6281 (T2) und 0,6508 (T3) für  $9\alpha$ -, $11\beta$ -PGF<sub>2</sub>, allerdings nicht auf signifikantem Niveau.

### 3. Ergebnisse



**Abb. 27:** Receiver Operating Characteristics mit Darstellung der Area under the curve der einzelnen Marker zu den Messzeitpunkten T2 und T3 im Vergleich zum Basalwert T1

## **4. Diskussion**

In der vorliegenden Arbeit wurden die Mediatoren Histamin, Tryptase, cys-LTs und  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> im peripheren Blut bei Erd- und Baumnussallergikern vor und nach einer DBPCFC untersucht. Es wurde zum einen geprüft, ob die Marker mit dem Ausgang einer DBPCFC assoziiert sind und zum anderen, ob eine Korrelation mit dem Schweregrad der Reaktion vorliegt. Zusätzlich wurde bei den Probanden spezifisches IgE untersucht, um unter Berücksichtigung der klinischen Daten festzustellen, ob und in welchem Ausmaß eine nachgewiesene Sensibilisierung mit der klinischen Relevanz korreliert.

### **4.1. Die doppelt blinde Placebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation – Die kritische Betrachtung von Durchführung und Auswertung**

Der Vergleich verschiedener Studien, die auf einer DBPCFC basieren, ist nicht immer einfach. Auch wenn über die letzten Jahre versucht wurde die Protokolle für die DBPCFC zu standardisieren -nicht zuletzt mit der aktuell geltenden Leitlinie (7)- sind die publizierten Studienergebnisse schwer zu vergleichen (18). Parameter wie Patientenkollektiv, Anzahl und Allergengehalt der einzelnen Portionen, Art der Verblindung, Definition von Symptomatik und Schweregrad, Stoppkriterien und die Form der statistischen Auswertung sind oft unterschiedlich.

Die bisher größte standardisierte Untersuchung von Nahrungsmittelallergikern erfolgte innerhalb des EuroPrevall-Projekts. Hier wurden Nahrungsmittelallergiker aus 12 verschiedenen europäischen Ländern eingeschlossen (9). Das dort verwendete DBPCFC-Protokoll sieht vor die Portionen während der Provokation in einem Intervall von 20 min zu verabreichen, während in der vorliegenden Untersuchung gemäß der Leitlinie 30 min als Expositionsintervall verwendet wurden. Zusätzlich waren die Gesamtzahl der verabreichten Portionen und die maximale Dosis des Haselnuss-Proteins mit 3,0 g höher als bei uns. Die in der vorliegenden Untersuchung verwendete Maximalmenge von 1,8 g wurde gewählt, weil es einer üblichen Portion Haselnüsse (ca. eine Hand voll) entspricht.

Auch im Vergleich mit anderen DBPCFC-basierten Studien finden sich häufig gering- bis mittelgradige Unterschiede zu unserem Protokoll (14, 93, 94). Jedoch ist hierbei zu berücksichtigen, dass einige der Vergleichsstudien mit Kindern durchgeführt wurden und



nicht wie im vorliegenden Fall mit Erwachsenen (14, 93-95). Dies kann bei den auslösenden Mengen, aber auch bei der Analyse von sIgE-Profilen zu unterschiedlichen Ergebnissen führen (34).

Unterschiede im Ablauf und der Interpretation von DBPCFCs beeinflussen die Ergebnisse (93, 96). Die Einhaltung eines standardisierten Protokolls ist somit von besonderer Bedeutung, um einen sinnvollen Datenvergleich zu gewährleisten.

In der vorliegenden Untersuchung wurde eine DBPCFC positiv bewertet und beendet bei dem Auftreten von objektiven Symptomen. Bei sämtlichen positiven oralen Provokationen gingen der objektiven Symptomatik bereits subjektive Symptome (z.B. OAS) bei einer vorhergehenden Stufe voraus. Dies erschwert die Definition des „Startpunktes“ der Reaktion. Möglicherweise begann die immunologische Reaktion und damit die Mastzell-Aktivierung schon mit dem Beginn der subjektiven Symptomatik. Dies wäre eine mögliche Erklärung für die teilweise ungewöhnlich niedrigen Histamin-Werte zum Zeitpunkt T2 (s. Kap. 4.3.1). Um diese Theorie zu überprüfen könnte in einer ähnlich aufgebauten Studie im Verlauf der DBPCFC standardmäßig und unabhängig von der Symptomatik nach jeder Provokationsstufe Blut abgenommen werden und somit eine detaillierte Verlaufskurve über den Anstieg und ggf. Abfall der Biomarker-Serumwerte erfolgen.

Eine andere Herangehensweise wäre die Durchführung einer sog. „single-shot“ Provokation. Dies wird bereits in einer in Irland, Australien und den USA durchgeführten Erdnuss-Provokationsstudie (peanut allergy threshold study „PATs“) getestet (97). Hier erfolgen Erdnuss-Provokationen mit einer einfachen Gabe der ED<sub>05</sub> (engl. „Eliciting Dose“ = die Dosis, bei der 5% der entsprechenden Allergiker eine Reaktion haben). Allerdings ist diese Form der Provokation zum einen mit einem erhöhten Risiko für die Patienten assoziiert und zum anderen nur beschränkt auf die Allgemeinheit anwendbar, da Reaktionsschwellen individuell sehr unterschiedlich sind (98).

Die im Rahmen der vorliegenden Untersuchung durchgeführten DBPCFCs waren in 40% negativ bzw. waren bezüglich der klinischen Reaktion schwächer als aufgrund der Anamnese erwartet. Dies konnte auch in anderen Studien beobachtet werden (94). Nicht selten übersteigt der subjektiv wahrgenommene Leidensdruck den klinisch nachweisbaren Schweregrad (29, 99). Gemäß einer aktuellen Metaanalyse ist die Prävalenz der selbsteingeschätzten NMA etwa sechsmal so hoch wie die der durch eine DBPCFC bestätigten NMA (22). Dadurch, dass Nahrungsmittel und Nahrungsmittelunverträglichkeiten heutzutage mehr im Fokus der Öffentlichkeit stehen denn je, überschätzen manche Personen ihre Beschwerden im Sinne einer Allergie.

Neuere Analysen bzgl. der Epidemiologie der NMA schlagen vor, dass die in den letzten Jahren gestiegene Prävalenz der NMA nicht nur einem tatsächlichen Anstieg der Erkrankung geschuldet ist, sondern auch ein Resultat des stärkeren Bewusstseins in der Bevölkerung und der veränderten Diagnosestandards sein könnte (13, 100). Eine psychologische Komponente ist bei der DBPCFC nie ganz auszuschließen. Die subjektiven Wahrnehmungen von Patient und Untersucher sind potentielle Fehlerquellen. In der vorliegenden Untersuchung wurde in einem Fall eine Reaktion während der Placebo-Testung beobachtet. Auch Ahrens et al. und Vlieg-Boerstra et al. konnten bei Testungen mit Kindern positive Placebo-Reaktionen beobachten (101, 102).

Alle oben angesprochenen Aspekte verdeutlichen den Bedarf nach einer zusätzlichen Methode zur Validierung des Ausgangs der DBPCFC und zur Einschätzung der Schwere der NMA. Somit könnte die Genauigkeit der epidemiologischen Daten verbessert und den Betroffenen eindeutige Hinweise über die Art ihrer Unverträglichkeit und die damit eventuell einhergehenden Einschränkungen im Alltag gegeben werden.

### **4.2. Die Bedeutung des spezifischen IgE**

Es gibt bereits zahlreiche klinische Studien, bei denen die sIgE-Messung als diagnostisches Hilfsmittel zur Bestätigung einer NMA eingesetzt wurde. Im Folgenden werden unsere Ergebnisse bezüglich ihrer diagnostischen Zuverlässigkeit diskutiert und mit den Ergebnissen anderer Studien verglichen. Der Datenvergleich ist nicht immer ganz einfach, da die Studien teilweise sehr unterschiedlich aufgebaut sind. Bei vielen größer angelegten Studien beruht die Einteilung des Schweregrads auf Selbstangaben und/oder dem Nachweis einer Sensibilisierung im SPT. Eine Sicherung durch die DBPCFC wurde nicht immer durchgeführt. Daher ist die Unterscheidung zwischen klinisch relevanten Allergien und stummen Sensibilisierungen manchmal nicht eindeutig.

#### **4.2.1 Überblick und Datenvergleich**

In der vorliegenden Untersuchung wurden das sIgE gegenüber den Erd-/Baumnuss-spezifischen Extrakten, sowie gegenüber den rekombinanten Einzelkomponenten der Haselnuss (Cor a 1, Cor a 8, Cor a 9, Cor a 14), der Erdnuss (Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 8, Ara h 9), der Walnuss (Jug r 1, Jug r 3) und der Paranuss (Ber e 1) bestimmt.

Ein positives sIgE gegenüber den Extrakten weist eine immunologische Sensibilisierung gegen die jeweilige Nuss nach. Über die Art der Sensibilisierung und die klinische Relevanz lässt sich jedoch in der Regel keine Aussage ableiten. In unserer Untersuchung korrelierten nur die Werte des sIgE gegenüber dem Erdnuss-Extrakt signifikant mit dem Schweregrad, bei dem sIgE gegenüber den Baumnuss-Extrakten war dies nie der Fall. Insgesamt sind die sIgE-Werte gegenüber den Einzelkomponenten mit ihren teilweise bereits bekannten spezifischen Eigenschaften besser geeignet, um eine Allergie zu bewerten (94, 103).

Die Sensibilisierung gegenüber den PR10-Proteinen Cor a 1 und Ara h 8 sind klassisch für die pollenassoziierte NMA und häufig positiv bei erwachsenen Birkenpollen-Allergikern in Nord- und Mitteleuropa (34, 104). Auch in der vorliegenden Untersuchung waren es die prozentual am häufigsten nachweisbaren sIgE-Reaktivitäten.

Während die Sensibilisierung gegenüber Ara h 8 im vorliegenden Kollektiv immer mit einer Sensibilisierung gegenüber Birkenpollen assoziiert war, gab es Probanden mit erhöhtem sIgE gegenüber Cor a 1 ohne eine Birkenpollen-Sensibilisierung im SPT. Dieses Phänomen wurde auch in anderen Studien beobachtet (8, 105). Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass eine andere Pollenart als die Birke für diese Kreuzreaktion verantwortlich ist (8). Wie in anderen Analysen (8, 14, 46, 104-107) sind sIgE-Reaktivitäten gegenüber Cor a 1 und Ara h 8 auch in unserer Population bzgl. des Schweregrades unspezifische Marker. Die Messung kann wertvoll sein um Kreuzallergien aufzudecken (12), der klinische Nutzen zur Einschätzung von Art und Schwere der Allergie ist aber beschränkt.

Eine Sensibilisierung gegenüber den LTPs Cor a 8, Ara h 9 und Jug r 3 findet sich vor allem in Südeuropa (60, 106, 108). Als primäre Sensibilisierungsquelle ist hierbei das Pfirsich-Majorallergen Pru p 3 zu nennen (60). Insgesamt ist die Haselnuss-Allergie in Südeuropa seltener als in den mittel- und nordeuropäischen Birkenpollen-endemischen Gebieten (8, 106, 109). In der vorliegenden Untersuchung war LTP-Reaktivität nur bei wenigen Probanden nachweisbar. Die Assoziation einer Sensibilisierung gegenüber LTPs mit schweren Reaktionen wurde in einigen früheren Analysen beschrieben (34, 94, 105, 106). In unserem, eher kleinem, Kollektiv konnten wir eine solche Tendenz nicht feststellen, weshalb sich eine Aussage bzgl. der klinischen Relevanz der Sensibilisierung auf der Basis der vorliegenden Daten nicht treffen lässt.

Die Messung der LTP-Reaktivität ist nützlich, um regionale Sensibilisierungsmuster zu

erkennen, ist aber in Nord- und Mitteleuropa aufgrund ihrer Seltenheit zur Interpretation der klinischen Erscheinungsform einer Allergie eher nicht geeignet.

Die vielversprechendsten Ergebnisse bzgl. der diagnostischen Aussagekraft wurden bisher mit dem sIgE gegenüber Speicherproteinen gefunden (14, 94, 95, 106).

Das sIgE gegenüber dem 2S Albumin Cor a 14 war in der vorliegenden Untersuchung nur bei 7,3% der Haselnuss-Allergiker nachweisbar, aber in allen Fällen klinisch relevant und signifikant mit dem Schweregrad assoziiert. Aufgrund der geringen Fallzahl sind diese Befunde allerdings kritisch zu bewerten. Kattan et al., deren Probandenkollektiv aus 42 pädiatrischen Patienten bestand, gaben -basierend auf offenen Nahrungsmittelprovokationen- für Cor a 14  $\geq 1,0$  kU/l eine Sensitivität von 92% und eine Spezifität von 93% an (110).

Auch in anderen Studien konnte bei Testungen mit Kindern eine gute diagnostische Treffsicherheit für das sIgE gegenüber Cor a 14 ermittelt werden. Die berechneten optimalen Schwellenwerte unterscheiden sich allerdings stark:

Bei Beyer et al. wurde eine 90%-Wahrscheinlichkeit für eine positive Provokation bei einem Schwellenwert von Cor a 14  $\geq 47,8$  kU/l angegeben (14), bei Masthoff et al. mit  $\geq 5,0$  kU/l (Kinder) bzw.  $\geq 1,0$  kU/l (Erwachsene) (104).

Die bisher publizierten Daten in Zusammenhang mit den hier vorliegenden Ergebnissen weisen darauf hin, dass aktuell Kinder häufiger als Erwachsene gegenüber Cor a 14 sensibilisiert sind.

Es wurde mehrfach in der Literatur beschrieben, dass eine Sensibilisierung gegenüber dem 11S Globulin Cor a 9 ebenfalls mit systemischen Reaktionen einhergehen kann (104). Auch in der vorliegenden Untersuchung war eine Sensibilisierung gegenüber Cor a 9 zumeist mit einer systemischen Reaktion assoziiert.

Bezüglich der Qualität als diagnostischer Marker wird das sIgE gegenüber Cor a 9 von einigen Autoren als vergleichbar oder besser als das sIgE gegenüber Cor a 14 bezeichnet (104, 106, 110), in anderen Studien wurde letzteres als überlegen beschrieben (14, 95, 111). Für das hier getestete Probandenkollektiv ergab sich eine signifikante Korrelation mit dem Schweregrad und einer höheren Sensitivität für sIgE gegenüber Cor a 9 als für sIgE gegenüber Cor a 14.

Das 2S Albumin Ara h 2 gilt als das Erdnuss-sIgE mit der vielversprechendsten diagnostischen Aussagekraft (94, 106). Auch bei uns lag die Spezifität für sIgE gegenüber Ara h 2 bei 100%. Ein Serumwert  $\geq 0,16$  kU/l ging mit einer 100% Wahrscheinlichkeit für

eine positive DBPCFC einher. Solche hohen Spezifitäten von IgE gegenüber Ara h 2 konnten in fast allen vergleichbaren Studien festgestellt werden, was für die hohe klinische Relevanz der Sensibilisierung spricht. Die publizierten optimalen Schwellenwerte unterscheiden sich jedoch. Eine Auswahl aus Publikationen der letzten Jahre und den jeweiligen ermittelten Werten für Sensitivität, Spezifität und den optimalen Schwellenwert ist als Übersicht in Tab. 25 zu finden.

**Tab. 25:** Der Vergleich von Sensitivität, Spezifität und Schwellenwert des IgE gegenüber Ara h 2 in verschiedenen Publikationen

<b>Autor</b>	<b>Jahr der Publikation</b>	<b>Probandenalter [Jahre]</b>	<b>Sensitivität [%]</b>	<b>Spezifität [%]</b>	<b>Schwellenwert [kU/l]</b>
Martinet et al. (12)	2016	3-13	94,4	100	> 0,35
Ballmer-Weber et al. (34)	2015	16-40	n.a.	97,0	≥ 1,0
Beyer et al. (14)	2015	<18	86,0	86,0	≥ 0,35
Eller et al. (107)	2013	1-26	70,0	100	> 1,63
Codreanu et al. (103)	2011	1-18	96,0	85,0	> 0,1
Nicolaou et al. (112)	2011	7-14	93,1	100	> 0,55

Die überwiegende Anzahl der in Tab. 24 aufgeführten Studien wurden mit pädiatrischen Patienten durchgeführt. Auffällig ist die bei uns die im Vergleich mit den dargestellten Studien niedrige Sensitivität von 66,6%. Auch Eller et al., die neben Kindern auch junge Erwachsene einschlossen, beobachteten eine niedrigere Sensitivität für IgE gegenüber Ara h 2 als die Arbeitsgruppen, die ausschließlich mit Kindern arbeiteten (107). Das lässt sich durch die Annahme erklären, dass mit steigendem Lebensalter der prozentuale Anteil von Sensibilisierungen gegenüber PR10-Proteinen steigt und gegenüber Speicherproteinen sinkt (34). In unsere Analyse korrelierten die Werte des IgE gegenüber Ara h 2 signifikant mit dem Schweregrad. Das war auch bei Eller et al. der Fall (107). Blümchen et al. fanden zwar eine negative Korrelation von Ara h 2 und der Höhe der auslösenden Proteindosis, aber keine Korrelation mit dem Schweregrad (93).

Aufgrund der Datenlage kann man davon ausgehen, dass hohe IgE-Werte gegenüber Ara h 2 mit einem großen Risiko für eine schwere Reaktion einhergehen und die Sensibilisierung so gut wie immer klinisch relevant ist. In Kombination mit der entsprechenden Anamnese kann somit in Einzelfällen auf eine DBPCFC verzichtet

werden. Allerdings kamen sowohl in unserer Analyse als auch in einigen Vergleichsstudien (14, 107) positive DBPCFCs bei negativem Ara h 2-sIgE vor. Eine geringe Ara h 2-Reaktivität schließt also eine schwere Erdnuss-Allergie nicht aus.

Für das sIgE gegenüber dem 7S Globulin Ara h 1 und dem 2S Albumin Ara h 3 konnte im vorliegenden Kollektiv ebenfalls häufig eine klinische Relevanz der Sensibilisierung und eine signifikante Korrelation mit dem Schweregrad nachgewiesen werden. Dies wurde auch in anderen Studien beobachtet (106). Es konnte gezeigt werden, dass die Messung dieser Parameter zusätzlich zu Ara h 2 die Testsensitivität (34) bzw. -spezifität (94, 106) erhöht. Diese Ergebnisse konnten aber nicht immer reproduziert werden (107). Bei uns wurde die Spezifität durch die kombinierte Messung ebenfalls von 66,6% auf 75,0% erhöht, die Sensitivität blieb mit 100% gleich. Die Datenlage zu diesen beiden Proteinen ist bisher noch nicht so umfangreich wie zu Ara h 2.

Das 2S Albumin Jug r 1 gilt zusammen mit dem Vicilin Jug r 2 und dem 11S Globulin Jug r 4 als Majorallergen der Walnuss (113-115). Wir konnten in unserem – jedoch sehr kleinem – Kollektiv häufig eine klinische Relevanz der Sensibilisierung sowie eine signifikante Korrelation mit dem Schweregrad feststellen. Auch Teuber et al. konnten mit Jug r 1 gute Ergebnisse erzielen (115). In einer retrospektiven Analyse von Mew et al. war es im Vergleich mit den anderen Einzelkomponenten und dem Extrakt der Marker mit der höchsten Spezifität (116). Das sIgE gegenüber Jug r 1 scheint somit ein vielversprechender Marker für das Vorliegen einer schweren Walnuss-Allergie zu sein. Seine genaue Bedeutung muss allerdings noch in weiteren Studien mit höheren Probandenzahlen analysiert werden.

Bei allen Paranuss-Anaphylaktikern war das sIgE gegenüber dem 2S Albumin Ber e 1 signifikant erhöht. Auch in einer neueren Studie von Rayes et al. konnten bei der Messung von sIgE gegenüber Ber e 1 vielversprechende Ergebnisse mit einer hohen klinischen Relevanz und mit einer höheren Sensitivität als gegenüber dem Paranuss-Extrakt gefunden werden (117). Eine retrospektive Analyse von Alcocer et al. (118) liefert einen guten Überblick über die aktuelle Datenlage zu Paranuss-Allergenen.

#### **4.2.2 Möglichkeiten und Limitationen im klinischen Alltag**

Die Messung von sIgE im Rahmen der Diagnostik allergischer Erkrankungen liefert Informationen über das individuelle Sensibilisierungsmuster und kann zur Prognose des Schweregrades beitragen (14). Außerdem unterstützen sIgE-Reaktivitäten als

Verlaufparameter die Dokumentation der zeitlichen Entwicklung einer Allergie (55). Vor allem die CRD-Methode erhöht die Testsensitivität und –spezifität (46, 57, 119). Durch die Zuordnung von Einzelallergenen zu Proteinfamilien lassen sich regionale Sensibilisierungsmuster erkennen und Kreuzallergien identifizieren (57).

Es wurden noch nicht alle relevanten Nahrungsmittel-Allergene identifiziert (119). Jedes Jahr werden neue Allergene rekombinant hergestellt und in die Testsysteme aufgenommen. Einen aktuellen Überblick liefern detaillierte Allergen-Datenbanken im Internet (50, 58, 120).

Die gewonnenen Ergebnisse müssen immer im Zusammenhang mit der Anamnese und der klinischen Relevanz für den Patienten betrachtet werden (55, 59). Bis zu  $\frac{2}{3}$  der nachgewiesenen Sensibilisierungen bleiben klinisch stumm. Die Überbewertung einer Sensibilisierung im Sinne einer Allergie ist einer der häufigsten Fehler, die in der Interpretation von Befunden gemacht werden (22). Risikofaktoren für Fehlinterpretationen sind außerdem die unterschiedliche Qualität der Extrakte (7) und der Einfluss der CCDs (s. Kap. 1.5.1), die zu falsch-positiven Ergebnissen bei der Messung mit Extrakten (nicht aber mit den Einzelkomponenten) führen können (119).

Laut der aktuellen Leitlinie (7) wird eine routinemäßige und alleinige Messung des  $\text{slgE}$  nicht empfohlen. Ein Grund hierfür sind auch die hohen Kosten der Testung (119). Die Bestimmung kommt im klinischen Alltag vor allem bei besonderen Fragestellungen sowie bei Patienten mit Kontraindikationen für den SPT (s. Kap. 1.2.3) infrage.

### **4.3. Die Bedeutung der gemessenen Biomarker**

#### **4.3.1 Histamin**

Histamin war in unseren Messungen der Mediator mit der geringsten diagnostischen Aussagekraft im Vergleich zu den anderen. Nur bei ca. 50% der Probanden konnte bei T2 ein Anstieg des Histamin-Serumwertes im Vergleich zu T1 festgestellt werden. Dies ist insofern erstaunlich, da Histamin seinen Maximalwert ca. zehn Minuten nach einer Reaktion erreichen sollte (64, 76, 121). Diese Eigenschaft der kurzen Halbwertszeit macht eine zeitgerechte Bestimmung im klinischen Alltag kaum möglich, sollte jedoch im Rahmen der bei der DBPCFC hergestellten kontrollierten Bedingungen kein Hindernis darstellen. Eine mögliche Erklärung für den dennoch ausbleibenden Anstieg der Histamin-Werte im peripheren Blut hängt eventuell mit dem bereits angesprochenen

Zeitintervall zwischen subjektiver und objektiver Symptomatik zusammen (s. Kap. 4.1.): Es kann sein, dass die Histamin-Freisetzung zum Teil mit den ersten subjektiven bzw. nicht-objektiv ersichtlichen Symptomen begann und die Serum-Konzentration zum Messzeitpunkt T2 bereits wieder gesunken war. Um diese Theorie zu überprüfen, sollte in einer ähnlich aufgebauten Untersuchung der Serumspiegel nach jeder Stufe und nicht erst bei einer objektiven Reaktion gemessen werden. Eine andere Möglichkeit einen Histamin-Anstieg darzustellen könnte die Messung von den Abbauprodukten des Histamins im Urin sein.

Bei einigen der gesunden Kontrollprobanden konnten wir ebenfalls erhöhte Histamin-Werte feststellen. Eine Erhöhung des Serumwertes ist also nicht zwangsläufig die Folge einer allergischen Reaktion, sondern kann auch noch von anderen Faktoren (z.B. die Aufnahme bestimmter Histamin-haltiger Nahrungsmittel oder einer unspezifischen Mastzell-Aktivierung) beeinflusst werden (122).

Bei dem Vergleich verschiedener Datensätze stößt man hier auf ähnliche Probleme wie beim IgE (s. Kap. 4.2.), da sich die zugrunde liegenden Studien teilweise stark in ihrem Aufbau und ihren Ergebnissen unterscheiden.

In der vorliegenden Untersuchung war Histamin nicht geeignet, um als Biomarker eine allergische Reaktion zu bestätigen. Auch eine Korrelation mit der Symptomatik oder dem Schweregrad konnten wir nicht feststellen. Zu diesen Erkenntnissen kamen auch Nassiri et al., Laroche et al. und Vadas et al. (73, 123, 124).

Lin et al. hingegen beschreiben eine Assoziation von erhöhten Histamin-Werten mit dem Auftreten von Urtikaria und/oder gastrointestinaler Symptomatik (76). Brown et al. und Halmerbauer et al. konnten eine Korrelation mit dem Schweregrad (64, 125) feststellen. In Tab. 26 ist eine Auswahl von Publikationen der letzten drei Jahrzehnte, wo Histaminmessungen bei Allergikern durchgeführt wurden, dargestellt.



#### 4. Diskussion

**Tab. 26:** Eine Auswahl an Publikationen, bei denen Histaminwerte im Rahmen einer allergischen Reaktion gemessen wurden.  
MW = Mittelwert.

Autor	Erscheinungs-jahr	Land	Probanden-kollektiv	Ergebnisse	MW nach Allergen-exposition [ng/ml]
Eigene Messung	2017	Deutsch-land	Nahrungsmittelallergiker nach DBPCFC	Kein signifikanter Anstieg bei der Reaktion, keine Korrelation mit dem Schweregrad	1,46
Nassiri et al. (73)	2015	Deutsch-land	Anaphylaktiker mit akuten Reaktionen in der Notaufnahme	Keine signifikant höheren Werte nach der anaphylaktischen Reaktion, keine Korrelation mit dem Schweregrad	2,33
Laroche et al.(121)	2014	Frank-reich	Patienten mit perioperativer Anaphylaxie	Signifikante Erhöhung der Serumwerte im Vergleich zur Kontrollgruppe (optimaler Schwellenwert 6,35 nmol/l), aber keine Korrelation mit dem Schweregrad	0,48
Brown et al. (64)	2013	Aus-tralien	Patienten mit akuten allergischen Reaktionen in der Notaufnahme	Korrelation mit dem Schweregrad, sowie eine Assoziation mit der Wahrscheinlichkeit von Spätreaktionen	0,74 (Median)
Vadas et al. (124)	2013	Kanada	Patienten mit akuten allergischen Reaktionen in der Notaufnahme	Keine Korrelation mit dem Schweregrad	keine Angabe
Mayer et al. (24)	2011	Deutsch-land	Post mortem Analyse von drei fatalen Anaphylaxie-Fällen	Signifikant erhöhte Werte post mortem	23,07
Lin et al. (76)	2000	USA	Patienten mit akuten allergischen Reaktionen in der Notaufnahme	Erhöhte Werte bei ca. 50% der Probanden und eine Korrelation mit der Symptomatik	keine Angabe

Halmerbauer et al. (125)	1999	Österreich	Kinder mit Insektengiftallergie bei Insektenstichprovokation	Signifikanter Anstieg bei systemischen Reaktionen, sowie eine Korrelation mit dem Schweregrad	0,91
Ohtsuka et al. (126)	1993	Japan	Kinder mit V.a. NMA bei offener Nahrungsmittelprovokation	Signifikanter Anstieg in den Werten sowohl 2 h als auch 4 h nach der Reaktion	keine Angabe
Laroche et al. (123)	1991	Frankreich	Patienten mit Medikamentenallergie nach einem akuten Anfall im Krankenhaus	Die Serumlevel waren bei den Allergikern signifikant höher als bei den Kontrollprobanden, korrelierten aber nicht mit dem Schweregrad	keine Angabe
Schwartz et al. (127)	1989	USA	Bienengiftallergiker bei Insektenstichprovokation	Anstieg mit Spitzenwerten nach 5-10 min und einem Abfall auf den Basalwert nach 15-60 min	keine Angabe

### 4.3.2 Tryptase

Tryptase ist der wichtigste Mediator für den Nachweis einer Mastzell-Degranulation. Erhöhte Werte finden sich nicht nur bei allergischen Erkrankungen, sondern bei allen Zuständen mit Mastzell-Beteiligung (z.B. Mastozytose) (77). Aufgrund seiner HWZ von bis zu 3 h (77, 127) ist es ein für den klinischen Alltag eher besser geeigneter Mediator als Histamin. Bis heute ist die Bestimmung der Tryptase der am häufigsten verwendete in-vitro-Parameter, um eine anaphylaktische Reaktion zu bestätigen (77).

In der vorliegenden Untersuchung konnte sowohl zum Zeitpunkt T2 als auch T3 ein signifikanter Anstieg der Serumlevel im Vergleich zu T1 bei ca. 75% der Probanden festgestellt werden. Daher ist Tryptase in unserem Fall als Bestätigungsparameter einer positiven DBPCFC und somit als Marker einer kürzlich abgelaufenen Reaktion geeignet. Zusätzlich konnte man in unserer Untersuchung anhand der Höhe des Anstiegs eine Aussage über den Schweregrad der Reaktion machen.

In zwei Fällen konnten wir den Anstieg nicht bei T2, sondern erst bei T3 erkennen. Auch Schwartz et al. konnten bei manchen Patienten erst nach bis zu 20 Minuten nach der Reaktion einen Tryptase-Anstieg messen (127). Auch für die Tryptase wäre es somit sinnvoll, detailliertere Zeitkurven im Rahmen einer DBPCFC zu erstellen, um die genauen Verläufe besser nachzuvollziehen.

Es wurde bereits in der Literatur beschrieben, dass eine Tryptase-Erhöhung bei ca.  $\frac{1}{3}$  aller allergischen Reaktionen ausbleiben kann (77). Vor allem bei NMA scheint dies häufiger der Fall zu sein als bei anderen Allergien (128). In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich bei 13% der positiven DBPCFCs kein Anstieg der Tryptase-Werte im Serum.

Interessanterweise war der höchste von uns gemessene Wert mit 17,75 µg/l bei einem Probanden der Kontrollgruppe nachweisbar. Dieser Proband litt weder an einer Allergie noch einer anderen bekannten Erkrankung mit Mastzell-Beteiligung. Vorausgesetzt, dass das Ergebnis nicht auf einer fehlerhaften Messung beruht, gibt es noch andere Faktoren, die einen Tryptase-Anstieg bewirken können. Laut Sargur et al. sind es beispielsweise Autoantikörper (z.B. Rheumafaktor), die zu falsch-positiven Messergebnissen führen können (92). Erkrankungen dieser Art müssen bei der Interpretation der Ergebnisse unbedingt ausgeschlossen werden. Außerdem sind die Basalwerte der Tryptase individuell unterschiedlich (73, 121). Ein Wert  $\geq 11,4$  µg/l ist nicht zwingend pathologisch, während ein Anstieg vor zu nach Reaktion innerhalb des Referenzbereichs klinisch bedeutsam sein kann (92).

In unserer Untersuchung, wie auch bei anderen Analysen, zeigte sich eine signifikante Korrelation mit dem Schweregrad der Reaktion. Das ist allerdings nicht bei allen Autoren der Fall. Eine Auswahl an Publikationen zum Thema Tryptasemessungen bei Allergikern ist in Tab. 27 zusammenfassend dargestellt.

**Tab. 27:** Eine Auswahl an Publikationen, bei denen Tryptasewerte im Rahmen einer allergischen Reaktion gemessen wurden.  
MW = Mittelwert

Autor	Erscheinungs-jahr	Land	Probanden-kollektiv	Ergebnisse	MW nach Allergen-exposition [µg/L]
Eigene Messung	2017	Deutschland	Nahrungsmittelallergiker nach DBPCFC	Signifikanter Anstieg bei Reaktion, sowie eine Korrelation mit dem Schweregrad	4,99
Nassiri et al. (73)	2015	Deutschland	Anaphylaktiker mit akuten Reaktionen in der Notaufnahme	Keine signifikant höheren Werte nach der anaphylaktischen Reaktion, keine Korrelation mit dem Schweregrad	12,2

Laroche et al.(121)	2014	Frankreich	Patienten mit perioperativer Anaphylaxie	Signifikante Erhöhung der Serumwerte im Vergleich zur Kontrollgruppe (optimaler Schwellenwert 7,35 µg/l), aber keine Korrelation mit dem Schweregrad	4,0
Brown et al. (64)	2013	Australien	Patienten mit akuten allergischen Reaktionen in der Notaufnahme	Korrelation mit dem Schweregrad sowie eine Assoziation mit der Wahrscheinlichkeit von Spätreaktionen	20,4 (Median)
Sala-Cunill et al. (77)	2013	Spanien	Patienten mit akuten allergischen Reaktionen in der Notaufnahme	Ein Anstieg der Serumwerte konnte bei >60% der Patienten beobachtet werden; gute Korrelation mit dem Schweregrad	19,3
Vadas et al. (124)	2013	Kanada	Patienten mit akuten allergischen Reaktionen in der Notaufnahme	Signifikante Unterschiede in den Werten zwischen den einzelnen Schweregraden, aber keine Korrelation mit diesem	keine Angabe
Mayer et al. (24)	2011	Deutschland	Post mortem Analyse von drei fatalen Anaphylaxie-Fällen	Signifikant erhöhte Werte post mortem	382,67
Bochenek et al. (71, 75)	2003/2004	Polen	Patienten mit allergischem Asthma bei inhalativer Provokation	Keine signifikante Änderung der Serumlevel bei allergischem Asthma; bei Aspirin-induziertem Asthma allerdings schon	5,11
Lin et al. (76)	2000	USA	Patienten mit akuten allergischen Reaktionen in der Notaufnahme	Schlechtere Korrealation mit der Symptomatik als Histamin. Keine Korrelation mit den Histaminwerten.	keine Angabe
Ohtsuka et al. (126)	1993	Japan	Kinder mit V.a. NMA bei offener Nahrungsmittel provokation	Signifikanter Anstieg der Werte 4h nach der Reaktion	keine Angabe

Watkins et al. (129)	1992	USA	Patienten mit perioperativer Anaphylaxie aufgrund von Medikamentenallergie	Korrelation der Werte mit dem Blutdruck-Abfall	keine Angabe
Laroche et al. (123)	1991	Frankreich	Patienten mit Medikamentenallergie nach einem akuten Anfall im Krankenhaus	Erhöhte Werte bei elf von 19 Patienten. Keine Angabe zur Korrelation mit dem Schweregrad.	keine Angabe
Schwartz et al. (127)	1989	USA	Bienengiftallergiker bei Insektenstichprovokation	Signifikanter Anstieg der Werte 1-2h nach Reaktion	keine Angabe

Oft werden Tryptase- und Histaminwerte miteinander verglichen. Außer Lin et al. (76) sind alle der in Tab. 27 genannten Autoren der Meinung, dass Tryptasewerte im Serum bezüglich ihrer diagnostischen Aussagekraft den Histaminwerten überlegen sind. Laroche et al. stellten durch die Kombination beider Marker eine geringe Erhöhung von Sensitivität und Spezifität fest, wenn beide Marker kombiniert werden (121).

### 4.3.3 Cys-LTs

Die bis zum Ende der 70er Jahre als „slow reacting substance of anaphylaxis“ bezeichneten Cysteinyl-Leukotriene LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> und LTE<sub>4</sub> sind potente Bronchokonstriktoren und werden im Rahmen einer proinflammatorischen Reaktion vor allem von Mastzellen und von eosinophilen Granulozyten ausgeschüttet (66, 84). Die genaue Rolle der cys-LTs bei der Symptomentstehung einer Allergie ist noch nicht ganz aufgeklärt. Sie sind bei Patienten mit Asthma bronchiale im Sputum (130, 131), in der bronchoalveolären Lavage (132, 133) und teilweise auch im Atemkondensat nachweisbar (81). Sie sind an der Ausbildung respiratorischer Symptome einer allergischen Reaktion beteiligt (79, 133). Es wurde bereits gezeigt, dass sie bei Anaphylaxie und bei allergischem Asthma im Urin detektierbar sind (66, 67, 71).

Um die systemische cys-LT-Produktion zu validieren, wird häufig das LTE<sub>4</sub> im Urin gemessen, da es in diesem Medium das prozentual häufigste cys-LT darstellt (67, 81). Hierbei konnte bei Patienten mit allergischem Asthma sowohl eine im Vergleich zum Gesunden erhöhte Basalkonzentration, als auch ein signifikanter Anstieg nach Allergen-Exposition festgestellt werden (134-136). Die ersten, die eine Erhöhung von LTE<sub>4</sub> im Urin

bei der Anaphylaxie feststellten, waren Denzlinger et al. im Jahre 1995 (79). Ono et al. konnten diese Ergebnisse 2009 reproduzieren, wobei die Konzentration bei Patienten mit einem anaphylaktischen Schock signifikant höher war als bei Patienten ohne Schock (66). Dies könnte ein Hinweis für eine Korrelation der Werte mit dem Schweregrad der Reaktion sein. Bochenek et al. stellten bei Patienten mit allergischem Asthma eine signifikante Erhöhung im Urin für bis zu vier Stunden nach der Provokation fest (71).

Die Messung von cys-LTs im Blut bei Nahrungsmittelallergikern im Rahmen einer DBPCFC wurde nach unserem Kenntnisstand außerhalb unserer Arbeitsgruppe noch nicht durchgeführt. Nassiri et al., die eine Messung im Blutserum bei Anaphylaxie-Patienten der Notaufnahme durchführten, konnten bei ihrem Probandenkollektiv einen signifikanten Anstieg bei schweren systemischen Reaktionen, sowie eine Korrelation mit dem Schweregrad messen (73). Interessanterweise konnten wir diese Ergebnisse im Rahmen der DBPCFC nicht reproduzieren. Zwar stiegen auch bei uns die Werte von T1 auf T2 bei ca. 70% der Probanden signifikant an, eine Korrelation mit dem Schweregrad ließ sich allerdings nicht feststellen. Bei uns war der Mittelwert zum Zeitpunkt T2 1201,1 pg/ml, bei den anaphylaktisch reagierenden Patienten von Nassiri et al. lag er bei 1595,5 pg/ml. Während wir ausschließlich Nahrungsmittelallergiker untersucht haben, haben Nassiri et al. Anaphylaktiker unabhängig vom auslösenden Allergen eingeschlossen. Es stellt sich die Frage, ob das der Reaktion zugrunde liegende Allergen für das Profil der Mediatoren im Rahmen einer Reaktion eine Rolle spielen könnte.

Aufgrund der bisher limitierten Studienlage ist ein so umfangreicher Datenvergleich wie bei Histamin und Tryptase an dieser Stelle noch nicht möglich. Nassiri et al. befanden cys-LTs als einen guten supportiven Marker, der für sich alleine gesehen aber nicht aussagekräftig genug für eine stattgehabte Anaphylaxie war (73). Basierend auf unseren Daten können wir die These aufstellen, dass sich durch die Messung der cysLTs eine abgelaufene allergische Reaktion nachweisen lässt. Eine Assoziation mit der Schwere der Reaktion ließ sich mit den hier erhobenen Daten allerdings nicht feststellen.

### **4.3.4 $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub>**

$9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> ist ein guter Marker für die Aktivität von PGD<sub>2</sub> (71, 72). Bei Patienten mit nicht-allergischem Asthma steigen die Serumwerte nach einer akuten Exazerbation (75). Die Messung von  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> als Indikator einer allergischen Reaktion ist aber vergleichsweise neu. Ono et al. bewiesen 2009, dass eine erhöhte Konzentration im Urin

bezeichnend für anaphylaktische Reaktion ist (66). In ihrer Studie korrelierten die Werte mit dem ebenfalls im Urin bestimmten LTE<sub>4</sub>. Auch Higashi et al. konnten einen signifikanten Anstieg von urinalem 9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -PGF<sub>2</sub>, sowie dem Metaboliten 2,3-dinor-9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -PGF<sub>2</sub> bei anaphylaktischen Patienten nach einer Reaktion feststellen (136). Nittner et al. führten Messungen im Sekret von dermalen Blasen durch, die im Rahmen einer Hautkammer-Provokationen mit Bienengift-Allergikern induziert wurden (65). Hierbei konnte innerhalb von 5-15 min ein signifikanter Anstieg in der Allergikergruppe beobachtet werden, der bei der nicht-allergischen Kontrollgruppe nach der Provokation nicht zu sehen war. Sie geben eine Sensitivität von 71,4%, eine Spezifität von 83,3% und einen maximaler AUC-Wert von 74% an. Bei Cichocka-Jarosz et al., die ebenfalls mit Bienenallergikern arbeiteten, ergab sich bei der Messung in Serum und Urin eine Sensitivität von 67%, eine Spezifität von 55% und ein maximaler AUC-Wert von 60% (137). In dieser Studie wurden wie bei uns mit der Messung von Tryptase bessere Ergebnisse erzielt.

Messungen im Blut wurden bisher selten durchgeführt. Bei Bochenek et al., die eine Messung bei inhalativen Provokationen von Patienten mit allergischem Asthma durchführten, konnte innerhalb von zwei Stunden nach Allergenexposition ein starker signifikanter Anstieg des Plasmalevels, sowie ein leichter, aber signifikanter, Anstieg im Urin beobachtet werden (71). Das spricht dafür, dass der Marker im Blut besser messbar ist als im Urin. Interessanterweise wurden in den Messungen von Bochenek et al. (71, 75) deutlich geringere Werte gemessen als bei der dieser Arbeit zugrunde liegenden Studie. So betrug dort der Mittelwert in der Kontrollgruppe 5,11 pg/ml, bei uns waren es 41,9 pg/ml. Derart hohe Werte wurden bei Bochenek et al. noch nicht einmal durch die Allergen-Provokation erreicht (dort nach 5 Minuten 16,98 pg/ml, bei uns 117,2 pg/ml). Während Bochenek et al. zur Messung eine Gas Chromatografie / Massenspektrometrie – Methode anwandten, haben wir die Ergebnisse mittels ELISA ausgewertet. Ein weiterer Unterschied ist, dass Bochenek et al. die Serumröhrchen direkt nach der Abnahme zentrifugierten, während selbige in unserer Studie zunächst 20 Minuten ruhten. Auch Cichocka-Jarosz et al., die mit Kindern mit Bienengiftallergie arbeiteten und 9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -PGF<sub>2</sub> ebenfalls mit Gas Chromatografie / Massenspektrometrie maßen, erzielten niedrigere Werte (Mittelwert nach Exposition: 9,97 pg/ml) als wir (137). Nassiri et al., die wie wir den Cayman-ELISA verwendeten, maßen hohe Werte von bis zu > 1000 pg/ml nach einer anaphylaktischen Reaktion (73). Ein interessanter Ansatz für weitere Studien

könnte also der direkte Vergleich der beiden Messmethoden mit den gleichen Serumproben sein.

Nach unserem Kenntnisstand sind wir die erste Arbeitsgruppe, die eine Messung von  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> im Serum bei Nahrungsmittelallergikern vor, während und nach einer DBPCFC durchführte. Wir haben einen signifikanten Anstieg sowohl zum Zeitpunkt T2 als auch T3 im Vergleich zum Basalwert bei >80% der Probanden beobachtet. Eine Korrelation der Werte mit dem Schweregrad war jedoch nicht nachweisbar.  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> ist also im Vergleich zu den anderen hier gemessenen Biomarkern am besten dazu geeignet, das Ergebnis einer positiven DBPCFC zu bestätigen und somit eine allergische Reaktion zu diagnostizieren

Auch die Messungen von Nassiri et al. zeigten für  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> im Vergleich zu Histamin, Tryptase und cys-LTs die beste diagnostische Zuverlässigkeit. Außerdem korrelierten dort die Werte im Gegensatz zu unseren Ergebnissen signifikant mit dem Schweregrad (73). In Kombination mit den Messwerten der cys-LTs ergab sich eine hohe Wahrscheinlichkeit, eine Anaphylaxie als solche zu erkennen. In der vorliegenden Untersuchung konnten wir durch die Kombination der beiden Marker keine Verbesserung der diagnostischen Aussagekraft feststellen.

$9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> war der einzige der gemessenen Marker, der bei keinem der Kontrollprobanden erhöht war. Auch Bochenek et al. haben erhöhte Basalwerte im Plasma ausschließlich bei allergischen Probanden mit Aspirin-induziertem Asthma festgestellt, bei keinem der gesunden Kontrollprobanden war der Wert erhöht (75).

Das lässt die Vermutung zu, dass die Serum-Konzentration von  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> ausschließlich im Rahmen einer immunologischen Reaktion des Körpers erhöht ist und weniger durch externe Faktoren beeinflusst werden kann wie z.B. Histamin (s. Kap. 4.3.1), was es zu einem gut geeigneten Marker für die Bestätigung einer allergischen Reaktion macht. Zur Klärung der Eignung von  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> als Surrogatmarker allergischer Reaktionen besteht noch weiterer Forschungsbedarf.

### **4.3.5 Weitere Biomarker in der aktuellen Forschung**

Andere Mediatoren allergischer Reaktionen, die zur Zeit bzgl. ihrer Eignung als Biomarker analysiert werden, sind u.a. PAF und die PAF-Acetylhydrolase (124, 138), 8-Isoprostan (139), TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  (93), sowie diverse Interleukine und andere Zytokine (63, 93). Blümchen et al. konnten für einige Zytokine eine Korrelation mit der Schwellendosis



bei der DBPCFC feststellen, aber keinen Zusammenhang mit dem Schweregrad der Reaktion (93). Vadas et al. konnten mit den Messungen von PAF bessere Ergebnisse erzielen als mit Histamin und Tryptase (124) und fanden auch eine Korrelation mit dem Schweregrad (138). Sie postulieren vielversprechende Ergebnisse mit der Messung von PAF und der PAF-Acetylhydrolase. Sood et al. haben beschrieben, dass 8-Isoprostan kein geeigneter Marker für eine anaphylaktische Reaktion ist (139). Stone et al. konnten eine signifikante Korrelation des Schweregrades mit IL-2, -6 und -10 feststellen, nicht jedoch mit IL-4, -5 und -13 (63). Blumchen et al. fanden keine Korrelation mit dem Schweregrad für IL-2, -4, -5 und -10 (93). Ähnlich wie in unserer Untersuchung waren allerdings die Ergebnisse limitiert und/oder die Probandenzahl zu klein, um allgemeine Aussagen treffen zu können. Die Analyse von Mediatoren allergischer Reaktionen, die einzeln oder in Kombination dazu geeignet sind, die Wahrscheinlichkeit für eine positive DBPCFC vorauszusagen und die Schwere der Reaktion festzulegen, bleibt Gegenstand aktueller Forschung.

### **4.4. Schwächen der Untersuchung**

#### **4.4.1 Probandenrekrutierung**

Von 362 potentiell geeigneten Personen nahmen nach der Aufklärung über den Ablauf der Studie 97 Probanden an der Screening-Untersuchung und davon 32 Probanden an der DBPCFC teil (s. Abb. 7). Im Folgenden sind die häufigsten Gründe für die Nicht-Teilnahme sowie Verbesserungsvorschläge für zukünftige Projekte dargestellt.

##### *Fehlendes Interesse:*

Viele Allergiker wussten seit Langem über ihre NMA Bescheid und waren entsprechend gut über ihren Zustand und den Umgang im Alltag informiert, sodass Sie durch Ihre Teilnahme keinen persönlichen Vorteil sehen konnten. Zusätzlich kann ein SPT – vor allem bei multiplen Sensibilisierungen – sehr unangenehm sein. Auch die Aussicht auf wiederholte Blutentnahmen war für einige Patienten abschreckend.

Wir haben versucht, die Attraktivität der Untersuchung zu steigern, indem wir versuchten den persönlichen Gewinn für den Patienten durch die Teilnahme zu erhöhen, zum Beispiel durch das Angebot einer kostenlosen Ernährungsberatung. Zusätzlich könnte man künftig z.B. eine detaillierte Information über die persönlichen Blutergebnisse und das entsprechende Sensibilisierungsmuster, o.ä. anbieten, um das Interesse zu steigern.

### *Angst:*

Patienten, die schon einmal eine schwere Reaktion auf ein Nahrungsmittel hatten, wollen dies nicht noch ein weiteres Mal erleben. Zudem sind die Patienten seit vielen Jahren trainiert, das entsprechende Nahrungsmittel strikt zu meiden. Das macht es mitunter schwierig, sie für Teilnahme an der DBPCFC zu gewinnen.

Gerade wenn das entsprechende Nahrungsmittel schon seit vielen Jahren gemieden wird, ist es möglich, dass die Allergie sich verändert hat. Findet man das in einer professionell betreuten Umgebung heraus, kann der Patient seine Essgewohnheiten und -einschränkungen entsprechend anpassen und somit von einer verbesserten Lebensqualität profitieren.

### *Zeitmangel:*

Die Untersuchungszeit betrug ca. 60 min, hinzu kamen An- und Abreise als Zeitaufwand für die Patienten. Da die Termine aus Personalgründen nur unter der Woche zwischen 08:00 und 20:00 stattfinden konnten war es in einigen Fällen nicht möglich, einen passenden Termin zu finden.

Um eine größere Anzahl an Probanden zu rekrutieren, könnte man zusätzliche Termine am Wochenende oder spätabends anbieten.

### *Kontraindikationen:*

Neben dem Aufruf und den Aushängen in verschiedenen Universitäten und allergologischen Arztpraxen kontaktierten wir Patienten des Allergiecentrums der Charité und des dazugehörigen Studiencentrums. Die Patienten des klinischen Allergiecentrums waren dort aufgrund ihrer NMA oder einer anderen Allergie in Behandlung. Oftmals bekamen sie eine spezifische Immuntherapie oder nahmen regelmäßig anti-allergische Medikamente wie Antihistaminika ein. Dies war eine Kontraindikation für die Teilnahme. Die Patienten aus der Datenbank des Studiencentrums nahmen zum Teil bereits an anderen Studien teil, was ebenfalls eine Teilnahme an dieser Untersuchung ausschloss. Wenn die Rekrutierungsperiode über einen längeren Zeitraum geht, können Patienten, die generell an der Teilnahme interessiert sind, vorgemerkt und zu einem späteren Zeitpunkt (nach Ende der Immuntherapie/Studie bzw. in einem Zeitraum mit geringer Belastung durch aerogene Allergene) erneut kontaktieren werden.

### 4.4.2. Der Umgang mit den Blutproben

Aus zeitlichen und logistischen Gründen konnten die empfohlenen 20 min Ruhezeit vor der Zentrifugation der Serumröhrchen nicht immer eingehalten werden, so dass die Blutproben teilweise nach kürzerer Wartezeit zentrifugiert wurden. Dies kann die Ausbildung der Gelschicht behindern und die Qualität des gewonnenen Serums beeinträchtigen (140).

Für die im internen Labor durchgeführten Messungen von Histamin, cys-LTs und  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> mussten die Proben zunächst von den 500 µl- in 200 µl-Eppendorfgefäße umgefüllt werden. Es ist erwähnenswert, dass bei einem ersten Messversuch die Proben zwischen dem Umfüllen und der Messung noch ein weiteres Mal tiefgefroren wurden, was die Qualität der Messergebnisse stark beeinträchtigte. Die in der Arbeit verwendeten Ergebnisse sind in einem zweiten Versuch durch sofortiges Messen nach dem ersten Auftauen entstanden. In zukünftigen Studien sollte man darauf achten, die Serumproben in den passenden Gefäßen zu lagern, um den Zeitraum zwischen dem Auftauen der Proben und der Messung der Mediatoren zu minimieren. Außerdem liegt die Vermutung nahe, dass die Proben nicht eingefroren zwischengelagert werden sollten, sondern die Messungen direkt nach der Entnahme durchgeführt werden müssen. Dies ist allerdings mit einem hohen zeitlichen und logistischen Aufwand verbunden und bei einem großen Probandenkollektiv kaum realisierbar. Eine weitere Schwäche ist die nur zu drei Zeitpunkten durchgeführte Blutentnahme. Um den Verlauf der Marker besser beurteilen zu können und z.B. die bereits beschriebene Problematik mit der Histamin-Bestimmung (s. Kap. 4.3.1) zu vermeiden, hätten Blutentnahmen nach jeder Provokationsstufe erfolgen müssen.

### 4.5. Fazit und Ausblick

Die DBPCFC ist der diagnostische Goldstandard einer NMA und durch ihre hohe Sensitivität und Spezifität gut dazu geeignet, selbige korrekt zu diagnostizieren. Nachteile sind die aufwändige und risikobehaftete Durchführung, sowie die mögliche Verfälschung der Ergebnisse durch die subjektive Bewertung der Situation von Patient und Untersucher. Unser Ziel war die Prüfung von einfach bestimmbaren objektiven Parametern, die das Ergebnis der DBPCFC unterstützen und Hinweise zum Schweregrad der Reaktion liefern können. Die Bestimmung des IgE und die Messung

von Mediatoren während einer allergischen Reaktion im peripheren Blut sind vielversprechende Ansätze.

Bezüglich des sIgE stimmen unsere Ergebnisse größtenteils mit den aus anderen Analysen bekannten Daten überein: SIgE liefert nützliche Informationen zu regionalen Sensibilisierungsmustern und zu Kreuzreaktionen. Mit schweren Reaktionen sind in der Nord- und Mitteleuropäischen Region am ehesten die Sensibilisierungen gegenüber Speicherproteinen assoziiert. Die Prüfung der klinischen Relevanz der Sensibilisierung ist obligatorisch zur korrekten Verwendung der Ergebnisse. Künftig werden noch mehr DBPCFC-basierte Studien, die nach einem einheitlichen Protokoll durchgeführt werden, benötigt, um die genaue Bedeutung von den bisher bekannten und von neu entdeckten Allergenen zu verstehen.

Bezüglich der Biomarker erhielten wir mit der Messung von Histamin keine zusätzlichen Informationen zur Art und Schwere der Reaktion im Rahmen einer DBPCFC. Tryptase, cysLTs und  $9\alpha,11\beta$ -PGF<sub>2</sub> hingegen stiegen signifikant während der allergischen Reaktion, wobei letzterer den im Vergleich zuverlässigsten Anstieg zeigte.

Jedoch konnten wir auch unter Berücksichtigung aller vier Biomarker bei einigen Patienten mit schweren Reaktionen keine Erhöhung der Serumwerte beobachten.

Einzig die Höhe der Tryptasewerte korrelierte signifikant mit dem Schweregrad. Die genaue Zeitkurve sowie die Frage, inwieweit der Schweregrad der Reaktion einen Einfluss auf die Serumwerte hat, bleibt allerdings noch unklar. Es liegt nahe, dass es nicht einen einzelnen Marker gibt, mit dessen Messung man die gewünschten Informationen erhält, sondern dass eine Messung mit Kombinationen mehrerer Marker notwendig ist. In weiteren Analysen sollten detailliertere Zeitkurven durch häufigere Blutentnahmen während der DBPCFC erstellt werden, um den zeitlichen Verlauf einzelner Marker besser nachvollziehen zu können.

Sicher gilt, dass alle hier untersuchten in-vitro-Parameter per se mit allergischen Erkrankungen assoziiert sind und bei einer positiven klinischen Reaktion nachweisbar sein können. Es wurde anhand unserer Ergebnisse aber auch deutlich, dass ein ausbleibender Anstieg von Biomarkern während der Reaktion oder unauffällige sIgE-Werte keine Ausschlusskriterien für das Vorliegen einer allergischen Reaktion sind. Im allergologisch-klinischen Alltag können Laborergebnisse für die Diagnosefindung wegweisend sein. Im Vordergrund müssen jedoch immer das klinische Erscheinungsbild des Patienten und seine aktuellen Beschwerden und der persönliche Leidensdruck stehen.

## Literaturverzeichnis

1. Ring J, Bachert C, Bauer C-P, Czech W. Weißbuch Allergie in Deutschland, 2 Auflage. 2 ed. München: Urban & Vogel; 2004. p. 152-60.
2. Plewig G, Landthaler M, Burgdorf W, Hertl M, Ruzicka T. Braun-Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie, 6 Auflage. 6 ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2011. p. 411-36.
3. Patel BY, Volcheck GW. Food Allergy: Common Causes, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc.* 2015;90(10):1411-9.
4. Cianferoni A, Muraro A. Food-induced anaphylaxis. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2012;32(1):165-95.
5. Crespo JF, James JM, Fernandez-Rodriguez C, Rodriguez J. Food allergy: nuts and tree nuts. *Br J Nutr.* 2006;96 Suppl 2:S95-102.
6. Kleine-Tebbe J, Ballmer-Weber BK, Breitender H, Vieths S. Bet v 1 und Homologe - Verursacher der Baumpollenallergie und birkenpollenassoziierter Kreuzreaktionen. *Allergo J.* 2010;19:462-63.
7. Worm M, Reese I, Ballmer-Weber B, Beyer K, Bischoff S, Classen M, Fischer P, Fuchs T, Huttegger I, Jappe U, Klimek L, Koletzko B, Lange L, Lepp U, Mahler V, Nast A, Niggemann B, Rabe U, Raithel M, Saloga J, Schaefer C, Schnadt S, Schreiber J, Szepfalusi Z, Treudler R, Wagenmann M, Watzl B, Werfel T, Zuberbier T, Kleine-Tebbe J. Leitlinie zum Management IgE-vermittelter Nahrungsmittelallergien. *Allergo J Int.* 2015; 24: 256.
8. Datema MR, Zuidmeer-Jongejan L, Asero R, Barreales L, Belohlavkova S, de Blay F, Bures P, Clausen M, Dubakiene R, Gislason D, Jedrzejczak-Czechowicz M, Kowalski ML, Knulst AC, Kralimarkova T, Le TM, Lovegrove A, Marsh J, Papadopoulos NG, Popov T, Del Prado N, Purohit A, Reese G, Reig I, Seneviratne SL, Sinanotis A, Versteeg SA, Vieths S, Zwinderman, AH, Mills C, Lidholm J, Hoffmann-Sommergruber K, Fernandez-Rivas M, Ballmer-Weber B, van Ree R. Hazelnut allergy across Europe dissected molecularly: A EuroPrevall outpatient clinic survey. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;136(2):382-91.
9. Fernandez-Rivas M, Barreales L, Mackie AR, Fritsche P, Vazquez-Cortes S, Jedrzejczak-Czechowicz M, Kowalski ML, Clausen M, Gislason D, Sinanotis A, Kompoti E, Le TM, Knulst AC, Purohit A, de Blay F, Kralimarkova T, Popov T, Asero R, Belohlavkova S, Seneviratne SL, Dubakiene R, Lidholm J, Hoffmann-Sommergruber K, Burney P, Crevel R, Brill M, Fernandez-Perez C, Vieths S, Clare Mills EN, van Ree R, Ballmer-Weber BK. The EuroPrevall outpatient clinic study on food allergy: background and methodology. *Allergy.* 2015;70(5):576-84.
10. Worm M, Moneret-Vautrin A, Scherer K, Lang R, Fernandez-Rivas M, Cardona V, Kowalski ML, Jutel M, Poziomkowska-Gesicka I, Papadopoulos NG, Beyer, K, Mustakov T, Christoff G, Bilo MB, Muraro A, Hourihane JO, Grabenhenrich LB. First European data from the network of severe allergic reactions (NORA). *Allergy.* 2014;69(10):1397-404.
11. Burks AW, Tang M, Sicherer S, Muraro A, Eigenmann PA, Ebisawa M, et al. ICON: food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129(4):906-20.
12. Martinet J, Couderc L, Renosi F, Bobee V, Marguet C, Boyer O. Diagnostic Value of Antigen-Specific Immunoglobulin E Immunoassays against Ara h 2 and Ara h 8 Peanut Components in Child Food Allergy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2016;169(4):216-22.
13. Kattan J. The Prevalence and Natural History of Food Allergy. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016;16(7):47.
14. Beyer K, Grabenhenrich L, Hartl M, Beder A, Kalb B, Ziegert M, Finger A, Harandi N, Schlags R, Gappa M, Puzzo L, Roblitz H, Millner-Uhlemann M, Busing S, Ott H, Lange L, Niggemann B. Predictive values of component-specific IgE for the outcome of peanut and hazelnut food challenges in children. *Allergy.* 2015;70(1):90-8.
15. Soost S, Leynaert B, Almqvist C, Edenharter G, Zuberbier T, Worm M. Risk factors of adverse reactions to food in German adults. *Clin Exp Allergy.* 2009;39(7):1036-44.
16. Worm M, Eckermann O, Dolle S, Aberer W, Beyer K, Hawranek T, Hompes S, Koehli A, Mahler V, Nemat K, Niggemann B, Pfohler C, Rabe U, Reissig A, Rietschel E, Scherer K, Treudler R, Rueff

- F. Triggers and treatment of anaphylaxis: an analysis of 4,000 cases from Germany, Austria and Switzerland. *Dtsch Arztebl Int.* 2014;111(21):367-75.
17. Worm M, Grunhagen J, Dolle S. [Food-induced anaphylaxis - data from the anaphylaxis registry]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2016;59(7):836-40.
  18. Grabenhenrich LB. Epidemiologische Daten zur Nahrungsmittelallergie in Europa. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2016;59(6):745-54.
  19. Agostoni C, Berni Canani R, Fairweather-Tait S, Heinonen M, Korhonen H. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes. *EFSA Journal.* 2014; 12 (11): 3894.
  20. Langen U, Schmitz R, Steppuhn H. Häufigkeit allergischer Erkrankungen in Deutschland. *Bundesgesundheitsbl* 2013. 2013;56:698–706.
  21. Grabenhenrich LB, Dolle S, Moneret-Vautrin A, Kohli A, Lange L, Spindler T, Rueff F, Nemat K, Maris I, Roumpedaki E, Scherer K, Ott H, Reese T, Mustakov T, Lang R, Fernandez-Rivas M, Kowalski ML, Bilo MB, Hourihane JO, Papadopoulos NG, Beyer K, Muraro A, Worm M. Anaphylaxis in children and adolescents: The European Anaphylaxis Registry. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137(4):1128-37 e1.
  22. Werfel T. [Food allergy in adulthood]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2016;59(6):737-44.
  23. Umasunthar T, Leonardi-Bee J, Hodes M, Turner PJ, Gore C, Habibi P, Warner, JO, Boyle RJ. Incidence of fatal food anaphylaxis in people with food allergy: a systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Allergy.* 2013;43(12):1333-41.
  24. Mayer DE, Krauskopf A, Hemmer W, Moritz K, Jarisch R, Reiter C. Usefulness of post mortem determination of serum tryptase, histamine and diamine oxidase in the diagnosis of fatal anaphylaxis. *Forensic Sci Int.* 2011;212(1-3):96-101.
  25. Metcalfe DD, Peavy RD, Gilfillan AM. Mechanisms of mast cell signaling in anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124(4):639-46; quiz 47-8.
  26. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C, Cardona V, Dubois A, duToit G, Eigenmann P, Fernandez Rivas M, Halken S, Hickstein L, Host A, Knol E, Lack G, Marchisotto MJ, Niggemann B, Nwaru BI, Papadopoulos NG, Poulsen LK, Santos AF, Skypala I, Schoepfer A, Van Ree R, Venter C, Worm M, Vlieg-Boerstra B, Panesar S, de Silva D, Soares-Weiser K, Sheikh A, Ballmer-Weber BK, Nilsson C, de Jong NW, Akdis, CA. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy.* 2014;69(8):1008-25.
  27. Lomas JM, Jarvinen KM. Managing nut-induced anaphylaxis: challenges and solutions. *J Asthma Allergy.* 2015;8:115-23.
  28. Turner PJ, Baumert JL, Beyer K, Boyle R, Chan CH, Clark A, Crevel, RW, DunnGalvin A, Fernandez Rivas M, Gowland HM, Grabenhenrich L, Hardy S, Houben GF, Hourihane, J O, Muraro A, Poulsen LK, Pyrz K, Femington BC, Schnadt S, van Ree R, Venter C, Worm M, Mills CE, Roberts G, Ballmer-Weber BK. Can we identify patients at risk of life-threatening allergic reactions to food? *Allergy.* 2016.
  29. van der Velde JL, Dubois AE, Flokstra-de Blok BM. Food allergy and quality of life: what have we learned? *Curr Allergy Asthma Rep.* 2013;13(6):651-61.
  30. Henzgen M, Ballmer-Weber BK, Erdmann S, Fuchs T, Kleine-Tebbe J, Lepp U, Niggemann B, Raithel M, Reese I, Saloga J, Vieths S, Zuberbier T, Werfel T. Hauttestungen mit Nahrungsmittelallergenen. *Henzgen Allergo J.* 2008.
  31. Ta V, Weldon B, Yu G, Humblet O, Neale-May S, Nadeau K. Use of Specific IgE and Skin Prick Test to Determine Clinical Reaction Severity. *Br J Med Med Res.* 2011;1(4):410-29.
  32. Demmel A, Waiblinger HU, Busch U. [Food allergen regulations in the EU]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2016;59(7):872-7.
  33. Kim EH, Bird JA, Kulis M, Laubach S, Pons L, Shreffler W, Steele P, Kamilaris J, Vickery B, Burks AW. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: clinical and immunologic evidence of desensitization. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(3):640-6 e1.

34. Ballmer-Weber BK, Lidholm J, Fernandez-Rivas M, Seneviratne S, Hanschmann KM, Vogel L, Bures P, Fritsche P, Sommers C, Knulst AC, Le TM, Reig I, Papadopoulos NG, Sinaniotis A, Belohlavkova S, Popov T, Kralimarkova T, de Blay F, Purohit A, Clausen M, Jedrzejczak-Czechowicz M, Kowalski ML, Asero R, Dubakiene R, Barreales L, Clare-Mills EN, van Ree R, Vieths S. IgE recognition patterns in peanut allergy are age dependent: perspectives of the EuroPrevall study. *Allergy*. 2015;70(4):391-407.
35. Panjari M, Koplin JJ, Dharmage SC, Peters RL, Gurrin LC, Sawyer SM, McWilliam V, Eckert JK, Vicendese D, Erbas B, Matheson MC, Tang ML, Douglass J, Ponsonby AL, Dwyer T, Goldfeld S, Allen KJ. Nut allergy prevalence and differences between Asian-born children and Australian-born children of Asian descent: a state-wide survey of children at primary school entry in Victoria, Australia. *Clin Exp Allergy*. 2016;46(4):602-9.
36. Rona RJ, Keil T, Summers C, Gislason D, Zuidmeer L, Sodergren E, Sigurdardottir ST, Lindner T, Goldhahn K, Dahlstrom J, McBride D, Madsen C. The prevalence of food allergy: a meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120(3):638-46.
37. Grundy J, Matthews S, Bateman B, Dean T, Arshad SH. Rising prevalence of allergy to peanut in children: Data from 2 sequential cohorts. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(5):784-9.
38. Kagan RS, Joseph L, Dufresne C, Gray-Donald K, Turnbull E, Pierre YS, Clarke, AE. Prevalence of peanut allergy in primary-school children in Montreal, Canada. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112(6):1223-8.
39. Zuidmeer L, Goldhahn K, Rona RJ, Gislason D, Madsen C, Summers C, Sodergren E, Dahlstrom J, Lindner T, Sigurdardottir ST, McBride D, Keil T. The prevalence of plant food allergies: a systematic review. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(5):1210-8 e4.
40. McWilliam V, Koplin J, Lodge C, Tang M, Dharmage S, Allen K. The Prevalence of Tree Nut Allergy: A Systematic Review. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2015;15(9):54.
41. Bock SA, Munoz-Furlong A, Sampson HA. Further fatalities caused by anaphylactic reactions to food, 2001-2006. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119(4):1016-8.
42. Bock SA, Munoz-Furlong A, Sampson HA. Fatalities due to anaphylactic reactions to foods. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107(1):191-3.
43. Klemans RJ, van Os-Medendorp H, Blankestijn M, Bruijnzeel-Koomen CA, Knol EF, Knulst AC. Diagnostic accuracy of specific IgE to components in diagnosing peanut allergy: a systematic review. *Clin Exp Allergy*. 2015;45(4):720-30.
44. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Muraro A, Werfel T, Cardona V, Dubois AE, Halken S, Hoffmann-Sommergruber K, Poulsen LK, Roberts G, Van Ree R, Vlieg-Boerstra BJ, Sheikh A. The epidemiology of food allergy in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2014;69(1):62-75.
45. Downs ML, Baumert JL, Taylor SL, Mills EN. Mass spectrometric analysis of allergens in roasted walnuts. *J Proteomics*. 2016.
46. Hansen KS, Ballmer-Weber BK, Sastre J, Lidholm J, Andersson K, Oberhofer H, Lluch-Bernal M, Ostling J, Mattsson L, Schocker F, Vieths S, Poulsen LK. Component-resolved in vitro diagnosis of hazelnut allergy in Europe. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;123(5):1134-41, 41 e1-3.
47. Lange L, Beyer K, Kleine-Tebbe J. Molekulare Diagnostik bei Allergie gegen Schalenfrüchte. *Allergo J*. 2012;21(7):398-400.
48. van der Valk JP, Dubois AE, Gerth van Wijk R, Wichers HJ, de Jong NW. Systematic review on cashew nut allergy. *Allergy*. 2014;69(6):692-8.
49. Beyer K. Characterization of allergenic food proteins for improved diagnostic methods. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2003;3(3):189-97.
50. Allergome - The platform for allergen knowledge. (Accessed July 15, 2016 at <http://www.allergome.org/>).
51. Masthoff LJ, van Hoffen E, Mattsson L, Lidholm J, Andersson K, Zuidmeer-Jongejan L, Versteeg SA, Bruijnzeel-Koomen CA, Knulst AC, Pasmans SG, van Ree R. Peanut allergy is common among hazelnut-sensitized subjects but is not primarily the result of IgE cross-reactivity. *Allergy*. 2015;70(3):265-74.

52. Stinglwagner G, Haseder I, Erlbeck R. Das Kosmos Wald- und Forstlexikon, 4 Auflage. Stuttgart: Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co. KG; 2009. p. 450-69.
53. Diewald C, Scholz I. Nüsse - Herkunft, Arten, Köstlichkeiten, 1 Auflage. Melsungen: J. Neumann-Neudamm AG; 2013. p. 10-4.
54. DunnGalvin A, Chan CH, Crevel R, Grimshaw K, Poms R, Schnadt S, Taylor SL, Turner P, Allen KJ, Austin M, Baka A, Baumert JL, Baumgartner S, Beyer K, Bucchini L, Fernandez-Rivas M, Grinter K, Houben GF, Hourihane J, Kenna F, Kruizinga AG, Lack G, Madsen CB, Clare Mills EN, Papadopoulos NG, Alldrick A, Regent L, Sherlock R, Wal JM, Roberts G. Precautionary allergen labelling: perspectives from key stakeholder groups. *Allergy*. 2015;70(9):1039-51.
55. Kleine-Tebbe J, Ollert M, Jakob T. Nomenklatur, Proteinfamilien, Datenbanken und potenzieller Nutzen. *Allergo J*. 2010;19:390-94.
56. Kleine-Tebbe J, Meissner A, Jappe U, Herold DA. Allergenfamilien und molekulare Diagnostik IgE-vermittelter Nahrungsmittelallergien: von der Theorie zur Praxis. *Allergo J*. 2010;19:251-63.
57. Treudler R, Simon JC. Overview of component resolved diagnostics. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2013;13(1):110-7.
58. WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee: Allergen Nomenclature. (Accessed May 29, 2016, at <http://www.allergen.org/search.php?TaxSource=Plantae%20Magnoliopsida>).
59. Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S, Aalberse RC, Agache I, Asero R, Ballmer-Weber B, Barber D, Beyer K, Biedermann T, Bilo MB, Blank S, Bohle B, Bosshard PP, Breiteneder H, Brough HA, Caraballo L, Caubet JC, Cramer R, Davies JM, Douladiris N, Ebisawa M, Igenmann PA, Fernandez-Rivas M, Ferreira F, Gadermaier G, Glatz M, Hamilton RG, Hawranek T, Hellings P, Hoffmann-Sommergruber K, Jakob T, Jappe U, Jutel M, Kamath SD, Knol EF, Korosec P, Kuehn A, Lack G, Lopata AL, Makela M, Morisset M, Niederberger V, Nowak-Wegrzyn AH, Papadopoulos NG, Pastorello EA, Pauli G, Platts-Mills T, Posa D, Poulsen LK, Raulf M, Sastre J, Scala E, Schmid JM, Schmid-Grendelmeier P, van Hage M, van Ree R, Vieths S, Weber R, Wickman M, Muraro A, Ollert M. EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol*. 2016;27 Suppl 23:1-250.
60. Petersen A, Scheurer S. Stabile, pflanzliche Nahrungsmittelallergene: Lipid-Transfer-Proteine. *Allergo J*. 2011;20:384-86.
61. Shreffler WG. Microarrayed recombinant allergens for diagnostic testing. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(4):843-9; quiz 50-1.
62. Masthoff LJ, Pasmans SG, van Hoffen E, Knol MJ, Bruijnzeel-Koomen CA, Flinterman AE, Kentie P, Knulst AC, Meijer Y. Diagnostic value of hazelnut allergy tests including rCor a 1 spiking in double-blind challenged children. *Allergy*. 2012;67(4):521-7.
63. Stone SF, Cotterell C, Isbister GK, Holdgate A, Brown SG, Emergency Department Anaphylaxis I. Elevated serum cytokines during human anaphylaxis: Identification of potential mediators of acute allergic reactions. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(4):786-92 e4.
64. Brown SG, Stone SF, Fatovich DM, Burrows SA, Holdgate A, Celenza A, Coulson A, Hartnett L, Nagree Y, Cotterell C, Isbister G. K.Anaphylaxis: clinical patterns, mediator release, and severity. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(5):1141-9 e5.
65. Nittner-Marszalska M, Cichocka-Jarosz E, Sanak M, Wujczyk M, Dor-Wojnarowska A, Lis G, Liebhart J. 9alpha,11beta-PGF2, a Prostaglandin D2 Metabolite, as a Marker of Mast Cell Activation in Bee Venom-Allergic Patients. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2015;63(4):317-25.
66. Ono E, Taniguchi M, Mita H, Fukutomi Y, Higashi N, Miyazaki E, Kumamoto T, Akiyama K. Increased production of cysteinyl leukotrienes and prostaglandin D2 during human anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2009;39(1):72-80.
67. O'Sullivan S, Roquet A, Dahlen B, Dahlen S, Kumlin M. Urinary excretion of inflammatory mediators during allergen-induced early and late phase asthmatic reactions. *Clin Exp Allergy*. 1998;28(11):1332-9.
68. Finkelman FD. Anaphylaxis: lessons from mouse models. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120(3):506-15; quiz 16-7.
69. Cayman Chemical: 11β-Prostaglandine F 2α ELISA Kit. (Accessed May 29, 2016, at <https://www.caymanchem.com/pdfs/516521.pdf>).



70. Cayman Chemical: Cysteinyl Leukotriene ELISA Kit. (Accessed May 29, 2016, at <https://www.caymanchem.com/pdfs/500390.pdf>).
71. Bochenek G, Nizankowska E, Gielicz A, Swierczynska M, Szczeklik A. Plasma 9alpha,11beta-PGF<sub>2</sub>, a PGD<sub>2</sub> metabolite, as a sensitive marker of mast cell activation by allergen in bronchial asthma. *Thorax*. 2004;59(6):459-64.
72. Pugliese G, Spokas EG, Marcinkiewicz E, Wong PY. Hepatic transformation of prostaglandin D<sub>2</sub> to a new prostanoid, 9 alpha,11 beta-prostaglandin F<sub>2</sub>, that inhibits platelet aggregation and constricts blood vessels. *J Biol Chem*. 1985;260(27):14621-5.
73. Nassiri M, Eckermann O, Babina M, Edenharter G, Worm M. Serum levels of 9alpha,11beta-PGF and cysteinyl leukotrienes are useful biomarkers of anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2015.
74. Schwartz LB. Diagnostic value of tryptase in anaphylaxis and mastocytosis. *Immunol Allergy Clin*. 2006;26(3):451-+.
75. Bochenek G, Nagraba K, Nizankowska E, Szczeklik A. A controlled study of 9alpha,11beta-PGF<sub>2</sub> (a prostaglandin D<sub>2</sub> metabolite) in plasma and urine of patients with bronchial asthma and healthy controls after aspirin challenge. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(4):743-9.
76. Lin RY, Schwartz LB, Curry A, Pesola GR, Knight RJ, Lee HS, Bakalchuk L, Tenenbaum C, Westfal RE. Histamine and tryptase levels in patients with acute allergic reactions: An emergency department-based study. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;106(1 Pt 1):65-71.
77. Sala-Cunill A, Cardona V, Labrador-Horrillo M, Luengo O, Estes O, Garriga T, Vicario M, Guilarte M. Usefulness and limitations of sequential serum tryptase for the diagnosis of anaphylaxis in 102 patients. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;160(2):192-9.
78. O'Sullivan S, Dahlen B, Dahlen SE, Kumlin M. Increased urinary excretion of the prostaglandin D<sub>2</sub> metabolite 9 alpha, 11 beta-prostaglandin F<sub>2</sub> after aspirin challenge supports mast cell activation in aspirin-induced airway obstruction. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;98(2):421-32.
79. Denzlinger C, Haberl C, Wilmanns W. Cysteinyl leukotriene production in anaphylactic reactions. *Int Arch Allergy Immunol*. 1995;108(2):158-64.
80. Lewis RA, Austen KF. The biologically active leukotrienes. Biosynthesis, metabolism, receptors, functions, and pharmacology. *J Clin Invest*. 1984;73(4):889-97.
81. Montuschi P. Role of Leukotrienes and Leukotriene Modifiers in Asthma. *Pharmaceuticals*. 2010;3(6):1792-811.
82. Campbell BJ, Baker SF, Shukla SD, Forrester LJ, Zahler WL. Bioconversion of leukotriene D<sub>4</sub> by lung dipeptidase. *Biochim Biophys Acta*. 1990;1042(1):107-12.
83. Henderson WR, Jr., Lewis DB, Albert RK, Zhang Y, Lamm WJ, Chiang GK, Jones F, Eriksen P, Tien YT, Jonas M, Chi EY. The importance of leukotrienes in airway inflammation in a mouse model of asthma. *J Exp Med*. 1996;184(4):1483-94.
84. Figueroa DJ, Borish L, Baramki D, Philip G, Austin CP, Evans JF. Expression of cysteinyl leukotriene synthetic and signalling proteins in inflammatory cells in active seasonal allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy*. 2003;33(10):1380-8.
85. Di Gennaro A, Carnini C, Buccellati C, Ballerio R, Zarini S, Fumagalli F, Viappiani S, Librizzi L, Hernandez A, Murphy RC, Constantin G, De Curtis M, Folco G, Sala A. Cysteinyl-leukotrienes receptor activation in brain inflammatory reactions and cerebral edema formation: a role for transcellular biosynthesis of cysteinyl-leukotrienes. *FASEB J*. 2004;18(7):842-4.
86. Lewis RA, Austen KF, Soberman RJ. Leukotrienes and other products of the 5-lipoxygenase pathway. Biochemistry and relation to pathobiology in human diseases. *N Engl J Med*. 1990;323(10):645-55.
87. Phipatanakul W, Nowak-Wegrzyn A, Eggleston PA, Van Natta M, Kesavan J, Schuberth K, Wood RA. The efficacy of montelukast in the treatment of cat allergen-induced asthma in children. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;109(5):794-9.
88. Busse W, Raphael GD, Galant S, Kalberg C, Goode-Sellers S, Srebro S, Edwards L, Rickard K. Low-dose fluticasone propionate compared with montelukast for first-line treatment of persistent asthma: a randomized clinical trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107(3):461-8.
89. Liston TE, Roberts LJ, 2nd. Transformation of prostaglandin D<sub>2</sub> to 9 alpha, 11 beta-(15S)-trihydroxyprosta-(5Z,13E)-dien-1-oic acid (9 alpha, 11 beta-prostaglandin F<sub>2</sub>): a unique biologically

- active prostaglandin produced enzymatically in vivo in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985;82(18):6030-4.
90. Beasley CR, Robinson C, Featherstone RL, Varley JG, Hardy CC, Church MK, et al. 9 alpha,11 beta-prostaglandin F2, a novel metabolite of prostaglandin D2 is a potent contractile agonist of human and guinea pig airways. *J Clin Invest*. 1987;79(3):978-83.
91. Ring J, Messmer K. Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes. *Lancet*. 1977;1(8009):466-9.
92. Sargur R, Cowley D, Murng S, Wild G, Green K, Shrimpton A, Egner W. Raised tryptase without anaphylaxis or mastocytosis: heterophilic antibody interference in the serum tryptase assay. *Clin Exp Immunol*. 2011;163(3):339-45.
93. Blumchen K, Beder A, Beschorner J, Ahrens F, Gruebl A, Hamelmann E, Hansen G, Heinzmann A, Nemat K, Niggemann B, Wahn U, Beyer K. Modified oral food challenge used with sensitization biomarkers provides more real-life clinical thresholds for peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(2):390-8.
94. Kukkonen AK, Pelkonen AS, Makinen-Kiljunen S, Voutilainen H, Makela MJ. Ara h 2 and Ara 6 are the best predictors of severe peanut allergy: a double-blind placebo-controlled study. *Allergy*. 2015;70(10):1239-45.
95. Eller E, Mortz CG, Bindslev-Jensen C. Cor a 14 is the superior serological marker for hazelnut allergy in children, independent of concomitant peanut allergy. *Allergy*. 2016;71(4):556-62.
96. Bindslev-Jensen C, Ballmer-Weber BK, Bengtsson U, Blanco C, Ebner C, Hourihane J, Knulst AC, Moneret-Vautrin DA, Nekam K, Niggemann B, Osterballe M, Ortolani C, Ring J, Schnopp C, Werfel T. Standardization of food challenges in patients with immediate reactions to foods--position paper from the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy*. 2004;59(7):690-7.
97. Zurzolo GA, Allen KJ, Taylor SL, Shreffler WG, Baumert JL, Tang ML, Gurrin LC, Mathai ML, Nordlee JA, Dunngalvin A, Hourihane JO. Peanut Allergen Threshold Study (PATs): validation of eliciting doses using a novel single-dose challenge protocol. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2013;9(1):35.
98. Ballmer-Weber BK, Fernandez-Rivas M, Beyer K, Defernez M, Sperrin M, Mackie AR, Salt LJ, Hourihane JO, Asero R, Belohlavkova S, Kowalski M, de Blay F, Papadopoulos NG, Clausen M, Knulst AC, Roberts G, Popov T, Sprickelman AB, Dubakiene R, Vieths S, van Ree R, Crevel R, Mills EN. How much is too much? Threshold dose distributions for 5 food allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(4):964-71.
99. Saleh-Langenberg J, Goossens NJ, Flokstra-de Blok BM, Kollen BJ, van der Meulen GN, Le TM, Knulst AC, Jedrzejczak-Czechowicz M, Kowalski ML, Rokicka E, Starosta P, de la Hoz Caballer B, Vazquez-Cortes S, Cerededo I, Barreales L, Asero R, Clausen M, DunnGalvin A, Hourihane JO, Purohit A, Papadopoulos NG, Fernandez-Rivas M, Frewer L, Burney P, Duiverman EJ, Dubois, AE. Predictors of health-related quality of life of European food-allergic patients. *Allergy*. 2015;70(6):616-24.
100. Santos AF, Lack G. Is the Prevalence of Food Allergy Not on the Rise After All? *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;4(4):721-2.
101. Ahrens B, Niggemann B, Wahn U, Beyer K. Positive reactions to placebo in children undergoing double-blind, placebo-controlled food challenge. *Clin Exp Allergy*. 2014;44(4):572-8.
102. Vlieg-Boerstra BJ, van der Heide S, Bijleveld CM, Kukler J, Duiverman EJ, Dubois AE. Placebo reactions in double-blind, placebo-controlled food challenges in children. *Allergy*. 2007;62(8):905-12.
103. Codreanu F, Collignon O, Roitel O, Thouvenot B, Sauvage C, Vilain AC, Cousin MO, Decoster A, Renaudin JM, Astier C, Monnez JM, Vallois P, Morisset M, Moneret-Vautrin DA, Brulliard M, Ogier V, Castelain MC, Kanny G, Bihain BE, Jacquenet S. A novel immunoassay using recombinant allergens simplifies peanut allergy diagnosis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;154(3):216-26.
104. Masthoff LJ, Mattsson L, Zuidmeer-Jongejan L, Lidholm J, Andersson K, Akkerdaas JH, Versteeg SA, Garino C, Meijer Y, Kentie P, Versluis A, den Hartog Jager CF, Bruijnzeel-Koomen CA, Knulst AC, van Ree R, van Hoffen E, Pasmans, SG. Sensitization to Cor a 9 and Cor a 14 is highly

- specific for a hazelnut allergy with objective symptoms in Dutch children and adults. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132(2):393-9.
105. Flinterman AE, Akkerdaas JH, den Hartog Jager CF, Rigby NM, Fernandez-Rivas M, Hoekstra MO, Bruijnzeel-Koomen CA, Knulst AC, van Ree R, Pasmans SG. Lipid transfer protein-linked hazelnut allergy in children from a non-Mediterranean birch-endemic area. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121(2):423-8 e2.
  106. Borres MP, Maruyama N, Sato S, Ebisawa M. Recent advances in component resolved diagnosis in food allergy. *Allergol Int.* 2016.
  107. Eller E, Bindslev-Jensen C. Clinical value of component-resolved diagnostics in peanut-allergic patients. *Allergy.* 2013;68(2):190-4.
  108. Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Robino AM, Scibilia J, Fortunato D, Conti A, Borgonovo L, Bengtsson A, Ortolani C. Lipid transfer protein and vicilin are important walnut allergens in patients not allergic to pollen. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114(4):908-14.
  109. Burney PG, Potts J, Kummeling I, Mills EN, Clausen M, Dubakiene R, Barreales L, Fernandez-Perez C, Fernandez-Rivas M, Le TM, Knulst AC, Kowalski ML, Lidholm J, Ballmer-Weber BK, Braun-Fahlander C, Mustakov T, Kralimarkova T, Popov T, Sakellariou A, Papadopoulos NG, Versteeg SA, Zuidmeer L, Akkerdaas JH, Hoffmann-Sommergruber K, van Ree R. The prevalence and distribution of food sensitization in European adults. *Allergy.* 2014;69(3):365-71.
  110. Kattan JD, Sicherer SH, Sampson HA. Clinical reactivity to hazelnut may be better identified by component testing than traditional testing methods. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2014;2(5):633-4 e1.
  111. Faber MA, De Graag M, Van Der Heijden C, Sabato V, Hagendorens MM, Bridts CH, De Clerck LS, Ebo DG. Cor a 14: missing link in the molecular diagnosis of hazelnut allergy? *Int Arch Allergy Immunol.* 2014;164(3):200-6.
  112. Nicolaou N, Murray C, Belgrave D, Poorafshar M, Simpson A, Custovic A. Quantification of specific IgE to whole peanut extract and peanut components in prediction of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(3):684-5.
  113. Ciprandi G, Pistorio A, Silvestri M, Rossi GA, Tosca MA. Walnut anaphylaxis: the usefulness of molecular-based allergy diagnostics. *Immunol Lett.* 2014;161(1):138-9.
  114. Costa J, Carrapatoso I, Oliveira MB, Mafra I. Walnut allergens: molecular characterization, detection and clinical relevance. *Clin Exp Allergy.* 2014;44(3):319-41.
  115. Teuber SS, Dandekar AM, Peterson WR, Sellers CL. Cloning and sequencing of a gene encoding a 2S albumin seed storage protein precursor from English walnut (*Juglans regia*), a major food allergen. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;101(6 Pt 1):807-14.
  116. Mew R, Borres M, Sjolander S, du Toit G. A retrospect study into the utility of allergen components in walnut allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016.
  117. Rayes H, Raza AA, Williams A, Matthews S, Arshad SH. Specific IgE to recombinant protein (Ber e 1) for the diagnosis of Brazil nut allergy. *Clin Exp Allergy.* 2016;46(4):654-6.
  118. Alcocer M, Rundqvist L, Larsson G. Ber e 1 protein: the versatile major allergen from Brazil nut seeds. *Biotechnol Lett.* 2012;34(4):597-610.
  119. Matricardi PM, Kleine-Tebbe J. Molecular Allergology between Precision Medicine and the Choosing Wisely initiative. *Clinical & Experimental Allergy.* 2016;46(5):664-7.
  120. Medical University of Vienna: AllFam - The Database of Allergen Families. (Accessed July 15, 2016, at <http://www.meduniwien.ac.at/allfam/>).
  121. Laroche D, Gomis P, Gallimidi E, Malinovsky JM, Mertes PM. Diagnostic value of histamine and tryptase concentrations in severe anaphylaxis with shock or cardiac arrest during anesthesia. *Anesthesiology.* 2014;121(2):272-9.
  122. Dale HH, Laidlaw PP. The physiological action of beta-aminazolyethylamine. *J Physiol.* 1910;41(5):318-44.
  123. Laroche D, Vergnaud MD, Sillard B, Soufarapis H, Bricard H. Biochemical markers of anaphylactoid reactions to drugs. Comparison of plasma histamine and tryptase. *Anesthesiology.* 1991;75:945-9.

124. Vadas P, Perelman B, Liss G. Platelet-activating factor, histamine, and tryptase levels in human anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131(1):144-9.
125. Halmerbauer G, Hauk P, Forster J, Urbanek R, Kaufmehl K, Koller D. In vivo histamine release during the first minutes after deliberate sting challenges correlates with the severity of allergic symptoms. *Pediatr Allergy Immunol.* 1999;10:53-7.
126. Ohtsuka T, Matsumaru S, Uchida K, Onobori M, Matsumoto T, Kuwahata K, Arita M. Time course of plasma histamine and tryptase following food challenges in children with suspected food allergy. *Ann Allergy.* 1993;71(2):139-46.
127. Schwartz LB, Yunginger JW, Miller J, Bokhari R, Dull D. Time course of appearance and disappearance of human mast cell tryptase in the circulation after anaphylaxis. *J Clin Invest.* 1989;83(5):1551-5.
128. Sampson HA, Mendelson L, Rosen JP. Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents. *N Engl J Med.* 1992;327(6):380-4.
129. Watkins J. Tryptase release and clinical severity of anaesthetic reactions. *Agents and Actions.* 1992;36:C203-5.
130. Pavord ID, Ward R, Woltmann G, Wardlaw AJ, Sheller JR, Dworski R. Induced sputum eicosanoid concentrations in asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160(6):1905-9.
131. Brightling CE, Ward R, Woltmann G, Bradding P, Sheller JR, Dworski R, Pavord ID. Induced sputum inflammatory mediator concentrations in eosinophilic bronchitis and asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162(3 Pt 1):878-82.
132. Wenzel SE, Trudeau JB, Kaminsky DA, Cohn J, Martin RJ, Westcott JY. Effect of 5-lipoxygenase inhibition on bronchoconstriction and airway inflammation in nocturnal asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152(3):897-905.
133. Murray JJ, Tonnel AB, Brash AR, Roberts LJ, 2nd, Gosset P, Workman R, Capron A, Oates JA. Release of prostaglandin D2 into human airways during acute antigen challenge. *N Engl J Med.* 1986;315(13):800-4.
134. O'Hickey SP, Arm JP, Rees PJ, Spur BW, Lee TH. The relative responsiveness to inhaled leukotriene E4, methacholine and histamine in normal and asthmatic subjects. *Eur Respir J.* 1988;1(10):913-7.
135. Dahlen SE. Treatment of asthma with antileukotrienes: first line or last resort therapy? *Eur J Pharmacol.* 2006;533(1-3):40-56.
136. Higashi N, Mita H, Ono E, Fukutomi Y, Yamaguchi H, Kajiwara K, Tanimoto H, Sekiya K, Akiyama K, Taniguchi M. Profile of eicosanoid generation in aspirin-intolerant asthma and anaphylaxis assessed by new biomarkers. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(5):1084-91 e6.
137. Cichocka-Jarosz E, Sanak M, Szczeklik A, Brzyski P, Gielicz A, Pietrzyk JJ. Serum tryptase level is a better predictor of systemic side effects than prostaglandin D2 metabolites during venom immunotherapy in children. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2011;21(4):260-9.
138. Vadas P, Gold M, Perelman B, Liss GM, Lack G, Blyth T, Simons FE, Simons KJ, Cass D, Yeung J. Platelet-activating factor, PAF acetylhydrolase, and severe anaphylaxis. *N Engl J Med.* 2008;358(1):28-35.
139. Sood A, Qualls C, Seagrave J, McDonald J, Shohreh R, Chiavaroli A, Schuyler M. Effect of allergen inhalation on airway oxidant stress, using exhaled breath condensate 8-isoprostane, in mild asthma. *J Asthma.* 2013;50(5):449-56.
140. Labor Enders: Parameter aus Blut, Serum Plasma und Co. (Accessed June 20, 2016 at <http://www.labor-enders.de/449.html>).

### **Eidesstattliche Versicherung**

„Ich, Charlotte Eisenmann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Klinische und paraklinische Charakterisierung von Erd- und Baumnussallergikern – die Bedeutung von sIgE und Mastzellmediatoren“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

### **Anteilerklärung an Publikationen**

Charlotte Eisenmann hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

*Value of 9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -PGF<sub>2</sub> and cysteinyl leukotrienes serum levels during food challenges:*

S. Doelle, M. Nassiri, C. Eisenmann, M. Worm, Manuskript in Vorbereitung.

Beitrag im Einzelnen: Die Doktorandin war für die Probandenrekrutierung, die praktische Durchführung der Testungen und für die digitale Datenerfassung zuständig.

Unterschrift, Datum und Stempel der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift der Doktorandin

## **Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.





## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich sehr herzlich bei meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. med. Worm für das Ermöglichen der Durchführung dieser Arbeit, sowie für die durchgehend hervorragende Betreuung und tolle Unterstützung bedanken.

Mein weiterer Dank gilt Frau Dr. rer. medic. Sabine Dölle für die kontinuierliche und tatkräftige Hilfe bei der praktischen Durchführung und der statistischen Auswertung, sowie Frau Josephine Grünhagen und Frau Rabea Reinert für die Unterstützung beim praktischen Teil.

Dr. rer. nat. Maria Nassiri, Dennis Ernst und dem gesamten Labor-Team danke ich für die Hilfe bei der Messung der laborchemischen Parameter.

Außerdem danke ich der Phadia GmbH für die Messung der Tryptase und des IgE, sowie für die finanzielle Unterstützung für die Vorstellung der Arbeit beim jährlichen EAACI-Kongress vom 11.06.2016 bis 15.06.2016 in Wien.

Danke an meine Großeltern, meine Eltern und meine Geschwister für ihre Liebe und ihre Unterstützung.

**Anhang****1. Nussproteingehalt der Testbreie in der DBPCFC***Haselnuss*

<b>Stufe</b>	<b>HN-Mehl/ Portion [g]</b>	<b>HN-Mehl gesamt [g]</b>	<b>HN-Protein/ Portion [g]</b>	<b>HN-Protein gesamt [g]</b>
<b>1</b>	0,012	0,012	0,003	0,003
<b>2</b>	0,038	0,05	0,01	0,013
<b>3</b>	0,12	0,17	0,03	0,043
<b>4</b>	0,38	0,55	0,1	0,143
<b>5</b>	1,2	1,75	0,3	0,443
<b>6</b>	2,3	43,05	0,6	1,043
<b>7</b>	6,9	10,95	1,8	2,843

Stückgewicht pro Haselnuss ~ 1,5g

*Erdnuss*

<b>Stufe</b>	<b>EN-Mehl/ Portion [g]</b>	<b>EN-Mehl/ gesamt [g]</b>	<b>EN-Protein/ Portion [g]</b>	<b>EN-Protein gesamt [g]</b>
<b>1</b>	0,0063	0,0063	0,003	0,003
<b>2</b>	0,021	0,0273	0,01	0,013
<b>3</b>	0,063	0,0903	0,03	0,043
<b>4</b>	0,21	0,1113	0,1	0,143
<b>5</b>	0,63	0,7413	0,3	0,443
<b>6</b>	2,1	2,8413	1	1,443
<b>7</b>	6,3	9,1413	3	4,443

Stückgewicht pro Erdnuss ~ 0,7g

*Walnuss*

<b>Stufe</b>	<b>WN-Mehl/ Portion [g]</b>	<b>WN-Mehl gesamt [g]</b>	<b>WN-Protein/ Portion [g]</b>	<b>WN-Protein gesamt [g]</b>
<b>1</b>	0,021	0,021	0,003	0,003
<b>2</b>	0,07	0,91	0,01	0,013
<b>3</b>	0,21	0,301	0,03	0,043
<b>4</b>	0,7	1,001	0,1	0,143
<b>5</b>	2,1	3,101	0,3	0,443
<b>6</b>	7,4	10,501	1	1,443
<b>7</b>	21,4	31,901	3	4,443

Stückgewicht pro Walnuss ~ 2,5g

*Mandel*

<b>Stufe</b>	<b>MD-Mehl/ Portion [g]</b>	<b>MD-Mehl gesamt [g]</b>	<b>MD-Protein/ Portion [g]</b>	<b>MD-Protein gesamt [g]</b>
<b>1</b>	0,017	0,017	0,003	0,003
<b>2</b>	0,06	0,077	0,01	0,013
<b>3</b>	0,17	0,247	0,03	0,043
<b>4</b>	0,6	0,847	0,1	0,143
<b>5</b>	1,7	2,547	0,3	0,443
<b>6</b>	6	8,547	1	1,443
<b>7</b>	17	25,547	3	4,443

Stückgewicht pro Mandel ~ 1,3g

## 2. Anamnese – Bogen

Allgemeine Anamnese:

---

---

---

---

---

Allergologische Anamnese (jeweils ja/nein, seit wann):

AD: allerg. Rhinitis: allerg.  
Asthma:

Nahrungsmittelallergien:  
Falls ja bitte Rückseite ausfüllen!

Grunderkrankungen: \_\_\_\_\_ Aktuelle Medikation:  ACE-Hemmer  
\_\_\_\_\_  Beta-Blocker  
\_\_\_\_\_

Desensibilisierung: \_\_\_\_\_ Aktuelle allergische Beschwerden:  
(welches Allergen? Wann? aktuell laufend?)

---

---

---

---

---

Aktuelle Befunde vorhanden? (Pricktest, IgE-Bestimmungen, orale Provokationen): *Kopie der Befunde mit abheften*

**Nahrungsmittelallergie** auf:

Welche Symptome:

**Anaphylaxie – Grad:** \_\_\_\_\_

- Haut:
- Schleimhaut:
- Rhinitis/Rhinokonj.:
- Atmung:
- Herz-Kreislauf:
- Sonstige Symptome:

Wann ist die NMA auf Erd-/Baumnüsse erstmals aufgetreten? \_\_\_\_\_

Aktuell gemieden? ja  nein

Falls ja, seit wann? \_\_\_\_\_

Falls nein, wann zuletzt verzehrt? \_\_\_\_\_

Nach welcher Menge des Nahrungsmittels tritt die Reaktion auf?

- Spuren/Stäube
- ½ Nuss
- 1 ganze Nuss
- Handvoll
- >Handvoll
- unbekannt
- andere Menge:

Reaktion bei Verzehr der frischen Erd-/Baumnuss?:  ja  nein  
(roh, nicht verarbeitet)

Reaktion bei Verzehr der verarbeiteten Erd-/Baumnuss?:  ja  nein  
(geröstet, gekocht, gebacken, gebraten, Fertigprodukte)

Begleitende/verstärkende Faktoren während der Reaktion auf das Nahrungsmittel?:  nein

- Anstrengung
- Alkohol
- Medikamente: \_\_\_\_\_
- Mensis
- Stress
- andere: \_\_\_\_\_

Sind Notfallmedikamente vorhanden?  ja  nein, warum nicht: \_\_\_\_\_

Trägt d. Pat. sein Notfallset stets bei sich?  ja  nein, warum nicht: \_\_\_\_\_

Notfallmedikamente noch haltbar?  ja  nein, wann was abgelaufen: \_\_\_\_\_

- Welche Medikamente?
- Adrenalin-Autoinjektor
  - Antihistaminika
  - Kortikosteroide
  - Beta2-Mimantika
  - andere: \_\_\_\_\_

Seit wann ist das Notfallset vorhanden? \_\_\_\_\_

Wie oft wurde es seitdem angewendet (Patient selbst oder andere Person/ Laie)? \_\_\_\_\_

Ärztliche Notfallbehandlung:

Wie oft musste d. Pat. notärztlich behandelt (Rettungsstelle, Klinik, Notarzt) werden seit erstmaligem Auftreten der Erd-/Baumnüsse-Allergie?

nie       1-mal       2-mal       3-mal       > 3-mal

Wie oft war eine notärztliche Behandlung nach Verschreibung des Notfallsets notwendig?

nein  1-mal       2-mal       3-mal       > 3-mal

PROCEDERE:

SPT Nahrungsmittel

SPT Atopene

Blutentnahme: Datum:

Röhrchen (Welche? Anzahl?):

Allergiediagnostik

Aliquotiert und gelagert bei -20°C

DNA – Diagnostik

FAQLQ-AF incl. FAIM

SF-12 (36)

CRF Dokumentation

DBPCFC, geplant für \_\_\_\_\_

### 3. Nuss-Chip CRF Screening

Besuchsdatum: / / 

P-Nr.: \_\_\_\_\_

**Patientenaufklärung:**  Nein  Ja

**Einverständniserklärung:**  Nein  Ja, unterschrieben am: / /

**Einschlusskriterien (EK)**

1. Der Patient hat die Patienteninformation gelesen und seine schriftliche Einwilligung gegeben.
2. Der Patient ist  $\geq 18$  Jahren alt.

Für Patient:

3a. V.a. Nussallergie

Für Proband:

3b. gesund (festgelegt durch den verantwortlichen Arzt), aufgrund einer medizinischen Anamnese

Ja	Nein
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

⇒ Bei NEIN muss Ausschluss erfolgen.

**Ausschlusskriterien (AK)**

1. Hautkrankheit im Testfeld für den SPT<sup>1</sup>
2. erhöhtes Risiko einer systemischen Reaktion, z.B. Behandlung mit  $\beta$ -Blockern / ACE-Hemmern
3. Antihistaminika 3-5 Tage vor dem SPT<sup>2</sup>.
4. systemische Immunsuppression
5. instabiles oder schlecht eingestelltes Asthma bronchiale
6. Schwangerschaft und Stillzeit
7. parallele Teilnahme an einer Interventionsstudie
8. laufende spezifische Immuntherapie

Ja	Nein
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

⇒ Bei JA muss Ausschluss erfolgen.

**Demographische Daten:**

Alter in Jahren \_\_\_\_\_ Geschlecht  ♀  ♂Wohnort:  Berlin  andere Stadt (Land): \_\_\_\_\_

<sup>1</sup> Weiter Kontraindikation laut S1-Leitlinie Henzgen M. et al. Hauttestungen mit Nahrungsmittelallergenen. Allergo J 2008;17:401-6 berücksichtigen

<sup>2</sup> Weitere unerlaubte medikamente gemäß S1-Leitlinie Henzgen M. et al. 2008 (S. 405) berücksichtigen.

**Allgemeine Anamnese:**

Gesund  ja  nein

Dokumentation der Krankheitsgeschichte

Bitte hier klinisch relevante Vor- und Begleiterkrankungen eintragen.

keine

Nr.	Diagnose	Aktuell?		Aktuelle Medikation?	
		Nein	Ja	Nein	Ja
1		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

⇒ Ein-/Ausschlusskriterien überprüfen

**Aktuelle Medikation:**

keine

Medikament (Handelsname, Wirkstärke, Verabreichungsart, Dosierung)	seit	bis	Indikation (Nr. der o.g. Diagnose)
		_____._____._____. <input type="checkbox"/> laufend	
		_____._____._____. <input type="checkbox"/> laufend	
		_____._____._____. <input type="checkbox"/> laufend	
		_____._____._____. <input type="checkbox"/> laufend	
		_____._____._____. <input type="checkbox"/> laufend	

⇒ Ein-/Ausschlusskriterien überprüfen

**Allergologische Anamnese:**

Atopische Dermatitis  ja  nein seit:

Allerg. Asthma  ja  nein seit:

Rhinokonjunktivitis  ja  nein seit:

nur Birkenpollensensibilisierung

Polysensibilisierung; Allergene:

Erd-/Baumnussallergie  ja  nein seit:

welche:

Andere Nahrungsmittelallergie  ja  nein

welche:



**Haut-Prick-Test (SPT) Baumnüsse/Erdnuss**

Datum: / /

Allergen	Positiv*	Wenn positiv, Größe der Quaddel in mm	Klinisch relevant?	
			Ja	Nein
NaCl	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein			
Histamin	<input checked="" type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein			
Erdnuss (nativ)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Erdnuss (Extrakt)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Haselnuss (nativ)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Walnuss (nativ)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pekanuss (nativ)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cashewkerne (nativ)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pistazien (nativ)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Macadamianuss (nativ)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Paranuss (nativ)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mandel (nativ)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Atopene	Positiv*	Wenn positiv, Größe der Quaddel in mm	Klinisch relevant?	
			Ja	Nein
Birke	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Gras	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Beifuß	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Alternaria	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Katze	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Derm. pteron.	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

\* Positiv ist ein Quaddeldurchmesser von  $\geq 3$  mm bei Abwesenheit einer Quaddel bei NaCl und Anwesenheit einer Quaddel bei Histamin.

**IgE-Befunde:**

vom, Datum: / /

Gesamt-IgE:  kU/l

*falls vorhanden* Tryptase (in  $\mu\text{g/l}$ ):

slgE:	Allergen (Extrakt, Einzelallergen)	slgE in kU/l	Bemerkung

**Lebensqualität:**

- FAQLQ-AF
- SF-12 (36)

**Gruppeneinteilung nach Anamnese, SPT und slgE:**

- nicht-allergisch ohne Sensibilisierung (**Kontrolle**)
- nicht-allergisch mit Sensibilisierung ohne klinische Relevanz (**Sensibilisiert**)
- Baumnuss/Erdnuss-Allergiker** monosensibilisiert (auf die Gruppe Baumnuss/Erdnuss bezogen)

\_\_\_\_\_ (Welche?)

- Baumnuss/Erdnuss-Allergiker** mit Birkenpollenallergie
- Baumnuss/Erdnuss-Allergiker** mit Polypollensensibilisierung

---

Klinische Reaktion laut Anamnese:

- OAS
- systemisch
- Anaphylaxie

DBPCFC nicht geplant, warum?

---

Untersucher: \_\_\_\_\_

Datum und Unterschrift

---