



Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg  
*Hamburg University of Applied Sciences*

**Hochschule für angewandte Wissenschaften Hamburg**  
**Fakultät Life Sciences**  
**Studiengang Ökotrophologie**

## **Bachelorarbeit**

Titel der Bachelorarbeit

**Gastroduodeno-intestinale Permeabilität vor und nach der Nahrungsmittel-  
provokation bei Nahrungsmittelallergikern**

**Tag der Abgabe: 05.05.2011**

**Vorgelegt von:**

**Stephany Piper**

**Betreuende Prüfende:**

**Prof. Dr. troph. Christine Behr-Völtzer**

**Zweite Prüfende:**

**Prof. Dr. med. Margitta Worm**

# Inhaltsverzeichnis

Seite

<b>I</b>	<b>Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>4</b>
<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>6</b>
1.1	IgE-vermittelte Allergien.....	6
1.1.1	Klinische Manifestationen.....	7
1.1.2	Häufigkeit.....	9
1.2	Nahrungsmittelallergie.....	10
1.3	Physiologischer Hintergrund.....	11
1.3.1	Epitheliale Barriere.....	14
1.3.2	Epitheliale Resorption.....	15
1.4	Epitheliale Permeabilität und Nahrungsmittelallergie.....	17
<b>2</b>	<b>Ziel und Fragestellung.....</b>	<b>19</b>
<b>3</b>	<b>Teilnehmer, Material, Methoden und Durchführung.....</b>	<b>20</b>
3.1	Patienten und Probanden .....	20
3.2	Durchführung des oralen Permeabilitätstests .....	21
3.3	Versuchs- und Messtechnik der HPLC.....	22
3.3.1	Material der HPLC-Analytik.....	22
3.3.2	Aufarbeitung des Urins.....	23
3.3.3	Eluentenherstellung und Gaseinleitung.....	24
3.3.4	Das Prinzip der HPLC-Analytik.....	24
3.4	Auswertung des oralen Permeabilitätstests.....	27
3.4.1	Gastroduodenale Permeabilität.....	27
3.4.2	Intestinale Permeabilität.....	28
3.5	Fragebogen und Datenblatt.....	28
3.6	Nahrungsmittelprovokation.....	29
3.7	Statistik.....	29
<b>4</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>31</b>
4.1	Patientenkollektiv.....	31
4.2	Gastroduodenale Permeabilität .....	32
4.3	Intestinale Permeabilität.....	36
4.4	Parazelluläre und transzelluläre Permeabilität.....	41

4.5	Klinische Symptomatik nach der Nahrungsmittelprovokation .....	43
4.6	Auswertung der Fragebögen.....	45
<b>5</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>51</b>
5.1	Diskussion der Ergebnisse.....	51
5.1.1	Gastroduodeno-intestinale Permeabilität.....	51
5.1.2	Parazelluläre und transzelluläre Permeabilität.....	53
5.1.3	Klinische Symptomatik nach der Nahrungsmittelprovokation .....	53
5.2	Diskussion der Methodik.....	54
5.2.1	Auswertung der Fragebögen.....	54
5.2.2	Eignung des oralen Permeabilitätstests in der Diagnostik einer Nahrungs- mittelallergie.....	55
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung und Schlussfolgerung.....</b>	<b>58</b>
<b>II</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>60</b>
<b>III</b>	<b>Eidesstattliche Erklärung.....</b>	<b>64</b>
<b>IV</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>65</b>

# I Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Seite

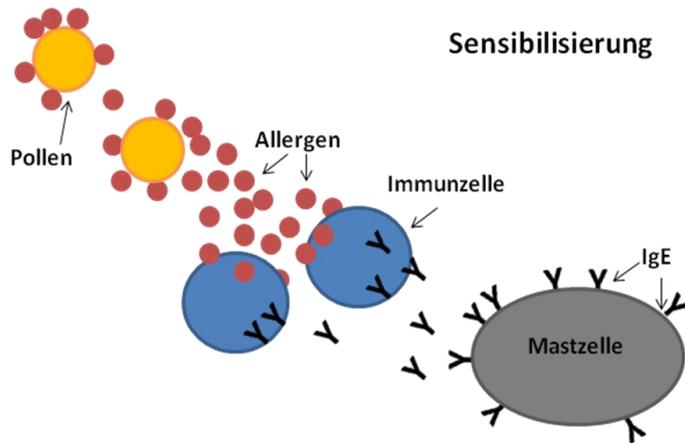
Abbildung 1a: Sensibilisierung	7
Abbildung 1b: Allergische Reaktion	7
Abbildung 2: Urtikaria (A), Angioödem (B) und Pollen als Auslöser von Heuschnupfen	9
Abbildung 3: Klassifizierung der Nahrungsmittelunverträglichkeit	10
Abbildung 4: Komponente der intestinalen Barriere	14
Abbildung 5: Transportwege durch das Epithel	15
Abbildung 6: Die wichtigsten an die Tight Junctions beteiligten Transmembranproteine und intrazelluläre Regulatorproteine	17
Abbildung 7: Beispiel eines Chromatogramms	25
Abbildung 8: Graphische Darstellung der HPLC Anlage und des Analysevorganges	26
Abbildung 9: Gastroduodenale Permeabilität dargestellt als Saccharoseausscheidung in % bei NM-Allergikern und Kontrollen	32
Abbildung 10: Geschlechtsabhängige gastroduodenalen Permeabilität dargestellt als Saccharoseausscheidung in % bei NM-Allergikern und Kontrollen	33
Abbildung 11: altersabhängige gastroduodenale Permeabilität dargestellt als Saccharoseausscheidung in % bei NM-Allergikern und Kontrollen	34
Abbildung 12: gastroduodenale Permeabilität dargestellt als Saccharoseausscheidung in % bei Frauen unter und über 50 Jahren	35
Abbildung 13: Gastroduodenale Permeabilität dargestellt als Saccharoseausscheidung in % vor und nach der Nahrungsmittelprovokation bei NM-Allergikern (n = 22).	36
Abbildung 14: Intestinale Permeabilität dargestellt als Permeabilitätsindex in % bei NM-Allergikern und Kontrollen	37
Abbildung 15: Geschlechtsabhängige intestinale Permeabilität dargestellt als Permeabilitätsindex in % bei NM-Allergikern und Kontrollen	38
Abbildung 16: altersabhängige intestinale Permeabilität dargestellt als Permeabilitätsindex in % bei NM-Allergikern und Kontrollen	39
Abbildung 17: Intestinale Permeabilität dargestellt als Permeabilitätsindex in % bei Frauen unter und über 50 Jahren	40

Abbildung 18: Intestinale Permeabilität (Permeabilitäts-Index) vor und nach der Nahrungsmittelprovokation bei NM-Allergikern (n = 22).	41
Abbildung 19: Parazelluläre Permeabilität dargestellt als Lactuloseausscheidung in % bei der Gesamtgruppe der NM-Allergikern und Kontrollen (A) sowie Parazelluläre Permeabilität dargestellt als Lactuloseausscheidung in % bei NM-Allergikern und Kontrollen der Altersgruppe 18-37 Jahre (B).	42
Abbildung 20: Mannitausscheidung vor und nach der Nahrungsmittelprovokation bei NM-Allergikern (n = 22).	43
Abbildung 21: Anzahl der provozierten NM-Allergiker, die mir den oben genannten Symptomen reagiert haben (n = 22).	44
Abbildung 22: Korrelation der intestinaler Permeabilität (A) dargestellt als Permeabilitätsindex in % und gastroduodenaler Permeabilität (B) dargestellt als Saccharoseausscheidung in % mit dem Symptomscore der provozierten NM-Allergikern (n = 22).	45
Abbildung 23: Frage 1 - Anzahl der NM-Allergiker, die auf folgende Lebensmittel reagieren (n = 45).	46
Abbildung 24: Frage 2 - Anzahl der NM-Allergiker, die mit den oben genannten Symptomen reagiert haben (n = 44).	47
Abbildung 25: Frage 3 - Intestinale Permeabilität (A) dargestellt als Permeabilitätsindex in % und gastroduodenale Permeabilität dargestellt als Saccharoseausscheidung in % beim Zeitpunkt der zuletzt aufgetretenen allergischen Reaktion.	48
Abbildung 26: Frage 4 - Intestinale Permeabilität (A) dargestellt als Permeabilitätsindex in % und gastroduodenale Permeabilität (B) dargestellt als Saccharoseausscheidung in % bei NM-Allergikern in Abhängigkeit des klinischen Zustandes.	49
Abbildung 27: Frage 6 - Intestinale Permeabilität (A) dargestellt als Permeabilitätsindex in % und gastroduodenale Permeabilität (B) dargestellt als Saccharoseausscheidung in % bei NM-Allergikern mit und ohne anderen Allergien.	50
Tabelle 1: Konzentrationen interner und externer Standards	27
Tabelle 2: Alter und Geschlecht der drei Gruppen	31

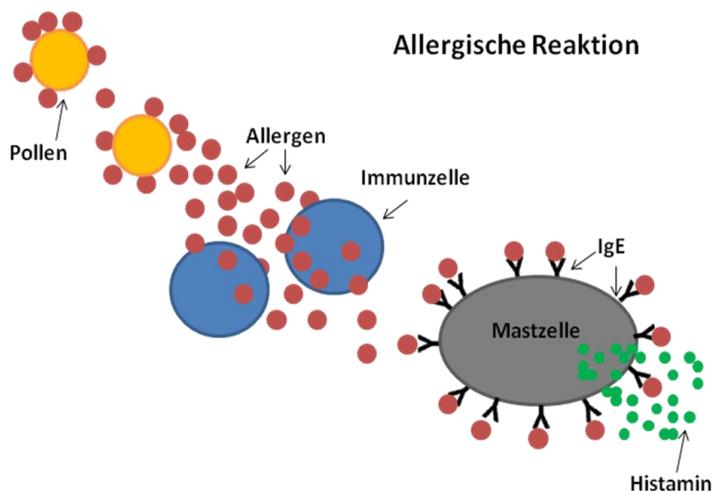
# 1 Einleitung

## 1.1 IgE-vermittelte Allergien

Die Entstehung einer Allergie ist von genetischen und Umweltfaktoren abhängig. Es kommt zu einer überschießenden Reaktion des Immunsystems gegenüber körperfremden Umweltstoffen - den sogenannten Allergenen. Dabei handelt es sich um Stoffe, die normalerweise keine Gefahr für die Gesundheit darstellen. Grundsätzlich kann jeder Stoff aus der Umwelt zum Allergieauslöser werden. Typische Allergene sind Eiweiße pflanzlicher und tierischer Herkunft. Die Allergie ist eine immunologisch vermittelte Reaktion, die abhängig vom Typ, durch verschiedene Antikörper bzw. T-Zellen gegenüber Antigenen gebildet werden (Merk, Ott, 2008, S. 23-25; AWMF-Leitlinien-Register, 2008, Nr. 061/010). Allergien werden in vier Typen unterschieden. Es handelt sich allerdings nur bei der Typ I Allergie um eine IgE-vermittelte Reaktion, die sogenannte „Reaktion vom Soforttyp“, da eine allergische Reaktion nach wenigen Sekunden bis Minuten nach dem Kontakt mit dem Allergieauslöser eintritt. Die IgE-vermittelte Allergie steht für diese Arbeit im Vordergrund. Sie erfolgt in zwei Schritten, zuerst die Sensibilisierung und anschließend bei erneutem Antigenkontakt die Auslösung der allergischen Reaktion. Während der Sensibilisierungsphase kommt der Betroffene mit dem Allergen in Kontakt, ohne dass eine allergische Reaktion ausgelöst wird. Durch die Interaktion von Immunzellen, werden spezifische IgE (sIgE)- Antikörper gebildet, die sich an die Mastzellen andocken. Beim Kontakt mit demselben Allergen, kann eine allergische Reaktion ausgelöst werden. Die IgE-Antikörper, die nach der Sensibilisierung an den Mastzellen gebunden werden, werden mit dem Allergen kreuzvernetzt. Diese Reaktion nennt man Antigen-Antikörper-Reaktion, die zu einer Veränderung der Membraneigenschaften der Mastzellen führt und eine Ausschüttung von Mastzellmediatoren wie Histamin bewirkt (Degranulation). Die Mediatoren führen zu typischen Symptomen wie Juckreiz, Hautrötung und Atemnot sowie einer Gefäßerweiterung und Steigerung der Gefäßpermeabilität, was zu Ödeme und Urticaria führen kann (Baum, 2004, S. 121; Spornitz, 2004, S. 257; Gieler H., 2006, S. 157). Die Sensibilisierung und die allergische Reaktion werden durch die folgenden Abbildungen veranschaulicht:



**Abbildung 1a: Sensibilisierung.** Allergene, z. B. auf der Oberfläche von Pollen, bewirken eine Ausschüttung von IgE-Antikörper aus Immunzellen, die sich an die Mastzellen andocken.



**Abbildung 1b: allergische Reaktion.** Die Kreuzvernetzung der IgE-Antikörper mit den Allergenen, bewirkt eine Ausschüttung von Histamin.

### 1.1.1. Klinische Manifestationen

Zu den IgE-vermittelten Allergien gehören die allergische Rhinitis (Heuschnupfen), die Urtikaria (Nesselsucht), das Angioödem, das allergische Asthma bronchiale und die Nahrungsmittelallergie bis hin zur anaphylaktischen Reaktion. Letztere stellt die schwerste Ausprägung einer allergischen Reaktion (Trautmann, 2006) dar. Diese Manifestationen lassen sich wie folgt näher erklären:

#### Allergische Rhinitis (Heuschnupfen)

Die allergische Rhinitis wird als symptomatische Überempfindlichkeitsreaktion der Nase beschrieben, die durch eine IgE-vermittelte Entzündung der Nasenschleimhaut infolge einer Allergenexposition induziert wird (vgl. Leitlinie der DGAI, 2003, S. 182). Zu den Hauptsymptomen gehören das Niesen, die Nasenverstopfung und das Nasensekret (Bousquet et al., 2008, S.9). Häufig tritt die allergische Rhinitis in Kombination mit der allergischen Konjunktivitis auf, die durch eine Rötung der Augen und Augentränen beglei-

tet wird, was aufgrund vermehrter Füllung der Bindehautgefäße hervorgerufen wird (Grehn, 2008, S. 85).

### **Urtikaria (Nesselsucht)**

Die Urtikaria ist durch die Bildung von juckenden Quaddeln in der Oberhaut gekennzeichnet, die sogenannten Urticae, die einzeln auftreten oder sich über den ganzen Körper ausbreiten und zu großflächigen Gebilden zusammenfließen können (Abbildung 2a). Die Größe der Urticae kann sehr stark variieren. Sie können innerhalb von wenigen Minuten verschwinden beziehungsweise über mehr als vier Wochen anhalten; in diesem Fall spricht man von einer chronischen Urtikaria. Zu den Auslösern zählen z.B. der mechanische Druck, Nahrungsmittel, Kalt-Warm-Wechsel, Licht, emotionale Erregung, Virusinfektionen und Medikamente (Abeck D., 2010, S. 101-103).

### **Angioödem**

Das Angioödem lässt sich in mehrere Gruppen nach der Ätiologie und Pathogenese einteilen. Hierbei handelt es sich um prall gespannte, dicke Schwellungen in der Unterhaut. Die Schwellungen bilden sich vor allem im Gesicht, insbesondere an den Lippen, den Augenlidern sowie Zunge und Pharynx (Abbildung 2b). Es können aber auch andere Körperstellen betroffen werden, wie die Hände, die Füße und die Genitalien. Die Angioödeme bilden sich normalerweise innerhalb von einem bis drei Tagen zurück. Auslöser sind v.a. Insektenstiche, Nahrungsmittel und Latex (Reiß, 2009, S. 359-360). Beim allergischen (IgE-vermittelten) Angioödem handelt es sich stets um eine bedrohliche Komplikation einer Medikamenteneinnahme; häufigste Auslöser sind hierbei Antibiotika, vor allem Penicillin, Anästhetika und Röntgentkontrastmittel (Bork, 1999, S. 81).

### **Allergisches Asthma**

Das allergische Asthma ist in erster Linie eine Erkrankung des Kindes- und jungen Erwachsenenalters, es kann jedoch in jedem Lebensalter auftreten. Unter dem allergischen Asthma versteht man eine chronisch entzündliche Atemwegserkrankung. Hierbei kommt es zu einer Verengung der Atemwege, die sogenannte Bronchialobstruktion, die zu anfallsartig auftretenden Dyspnoe- (Atemnot) und/oder Hustenattacken führen kann (Saloga J., 2006, S. 185).

### **Anaphylaktische Reaktion**

Die anaphylaktische Reaktion ist die schwerste Ausprägung einer allergischen Reaktion bei der der gesamte Kreislauf zusammenbricht. Hierzu zählen u.a. Schwäche, Blutdruckabfall, verengte Luftwege bis zur Bewusstlosigkeit. Sie ist z.B. bei Asthma bronchiale und

Heuschnupfen örtlich begrenzt, kann jedoch generalisiert auftreten, was zu lebensbedrohlichen Reaktionen führen kann (Spornitz, 2004, S.257). Auslöser sind hauptsächlich Medikamente, Insektengifte und Nahrungsmittel.

### **Nahrungsmittelallergie**

Das Krankheitsbild einer Nahrungsmittelallergie ist vielfältig und kann u.a. die Haut, den Gastrointestinaltrakt, die orale Mucosa, das Herz-Kreislauf-System und das Atmungssystem betreffen. Sie steht bei dieser Arbeit im Vordergrund und wird daher im Abschnitt 1.2. näher erklärt.



**Abbildung 2: Formen der IgE-vermittelten Allergien. (A) Quaddeln in der Oberhaut bei einer Urtikaria. (B) Schwellungen im Gesicht, insbesondere an den Lippen beim Angioödem. (C) Pollen als Auslöser von Heuschnupfen. (Quellen: siehe Seite 63)**

### **1.1.2 Häufigkeit**

Zu den häufigsten chronischen Erkrankungen in den westlichen Industriestaaten, mit weiterhin steigender Prävalenz, gehören das Asthma und die allergische Rhinitis, die zurzeit eine Prävalenz von über 20% besitzen (Leitlinie DGAI, 2003, S. 182). Die allergische Rhinitis wird bei Patienten aller Länder, ethnischen Gruppen und unabhängig vom Alter beobachtet. Die enge Verbindung zwischen oberen und unteren Luftwegen ist weitgehend bekannt und vorliegende Daten zeigen, dass 80% der Asthmatiker eine Rhinitis und 10 - 40% der Patienten mit einer Rhinitis Asthma besitzen (Bousquet et al., 2008, S. 10).

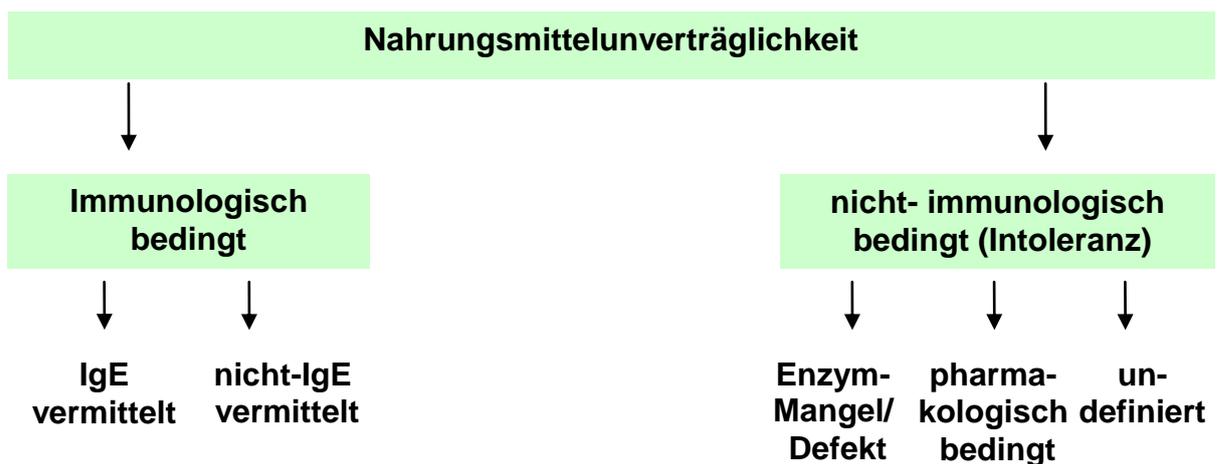
Die akute Urtikaria tritt ebenso bei circa 20-25% der Bevölkerung, meist während der ersten Lebenshälfte einmal im Leben auf. Sie bildet sich jedoch innerhalb von 2-3 Wochen spontan zurück. Von der chronischen Urtikaria ist dagegen etwa 1% der Bevölkerung der Bundesrepublik Deutschland betroffen (Abeck D., 2010, S. 101).

Wie schon im oberen Abschnitt erwähnt, lässt sich das Angioödem in mehrere Gruppen nach der Ätiologie und Pathogenese einteilen. Das allergische (IgE-vermittelte) Angioödem tritt bei einer von 10 000 Penicillinbehandlungen auf und endet tödlich bei 10-50% der betroffenen (Bork, 1999, S. 81).

Bezüglich der anaphylaktischen Reaktion reagieren etwa 2-5% der Bevölkerung auf Nahrungsmittel, auf Bienen- und Wespenstiche bis zu 5%. Diese Daten zeigen, dass die Häufigkeit der NMA nicht zu unterschätzen ist (Plewig, 2007, S.380).

## 1.2 Nahrungsmittelallergie

Nahrungsmittel sind seit vielen Jahren als Auslöser von allergischen Symptomen möglich (AWMF-Leitlinien-Register; Nr. 061/010, 2008). Nahrungsmittelallergien sind IgE-vermittelte Nahrungsmittelunverträglichkeiten und müssen von Intoleranzen abgegrenzt werden. Dieses wird von der folgenden Abbildung veranschaulicht:



**Abbildung 3: Klassifizierung der Nahrungsmittelunverträglichkeit (modifiziert nach Fritsch, 2004, S. 227)**

Die Prävalenz der Nahrungsmittelallergie ist nicht leicht zu ermitteln. Wenn epidemiologische Daten ausschließlich auf Angaben aus Fragebögen basieren, treten Überschätzungen der tatsächlichen Frequenz auf. In einer Metaanalyse von ausgewählten Studien, reicht die Prävalenz der Nahrungsmittelallergie von 2.1% für Kinder in Frankreich bis zu 35% bei Berliner Erwachsenen. In der bislang größten bevölkerungsbezogenen Studie in Frankreich zwischen 1997 und 1998, wurde die bevölkerungsbezogene Prävalenz auf 3,5% geschätzt. An erster Stelle liegt die Stadtbevölkerung mit einer Prävalenz von 80% versus 76%. Zu den häufigsten Auslösern einer Nahrungsmittelallergie gehören Kern- und Steinobst (14%), Gemüse (19%), Milch (8%), Schalen-/Krustentiere (8%), Früchte, die mit

Latex kreuzreagieren (5%), Hühnerei (4%), Baumnüsse (3%), und Erdnuss (1%) (Schäfer, 2008, S.4). Im Säuglingsalter können sich Allergien gegen Grundnahrungsmittel wie Milch, Hühnerei, Nüsse oder Weizen entwickeln, was als „klassische“ Nahrungsmittelallergie bezeichnet wird. Allergische Jugendliche und Erwachsene reagieren dagegen häufig auf pollenassoziierte Nahrungsmittel wie Obst, Gemüse oder Nüsse, was als „pollenassoziierte Nahrungsmittelallergie“ (pNMA) bezeichnet wird, einer der häufigsten Nahrungsmittelallergien überhaupt. Bei der pNMA handelt es sich um keine weitere Allergie, sondern sie ist vielmehr die Folge einer bereits vorhandenen Pollenallergie, die sogenannte Kreuzreaktion (siehe Abbildung 1a,b). Kreuzreaktionen beruhen auf Verwandtschaften zwischen Allergenen ganz verschiedener Art die aber ähnliche Proteinstrukturen besitzen. Das bedeutet, dass bestimmte Anteile dieser Strukturen zufällig bei beiden Allergenen identisch sind, sodass eine Reaktion gegen beide Proteine erfolgen kann (Stossier, 2001, S. 21). Solche allergieauslösende Nahrungsmittel können zu Symptomen wie Kribbeln und Juckreiz im Mund- und Rachenraum, Magen-Darm-Beschwerden, Kreislaufbeschwerden, Hautreaktionen, Schwellungen der Schleimhäute sowie zu einer anaphylaktischen Reaktion führen (Stöger, 2010, S. 41)

Es wird vermutet, dass körperliche Anstrengung, Infektionen oder psychischer Stress im zeitlichen Zusammenhang mit der Aufnahme eines bestimmten Nahrungsmittels eine wichtige Ursache sein kann. Hierbei handelt es sich um Kofaktoren, die eine Erhöhung der Darmpermeabilität bewirken können. Sie können somit indirekt eine allergische Reaktion aufgrund des erhöhten Durchtritts von Nahrungsmittelallergenen über die Darmbarriere auslösen. Jedoch sind diese Wechselwirkungen bis heute nicht vollständig verstanden (Biesalski, 2004, S. 470).

### **1.3 Physiologischer Hintergrund**

Nahrungsmittelallergene gelangen über die Nahrung im Magen-Darm-Trakt, wo sie unter Umständen die epitheliale Barriere überqueren können. Aus diesem Grund, ist ein Verständnis der Funktion des Magen-Darm-Traktes erforderlich und wird näher erklärt.

#### **Kauen und Schlucken**

Durch das Kauen werden aufgenommene Speisebestandteile zerkleinert und mit dem Speichel vermischt. Der Speichel enthält ein Enzym, die so genannte  $\alpha$ -Amylase, wodurch die Kohlenhydratverdauung im Mund eingeleitet wird. Über einen Schluckreflex gelangt

der Speisebrei in den Ösophagus (Speiseröhre), wo durch Propulsionsbewegungen der Transport zum Magen erfolgt (Baum, 2004, S. 139-141).

## **Magen**

Der Magen wird in vier anatomische Regionen unterteilt, die Kardia, Fundus, Corpus und Pylorus und dient vor allem als Nahrungsspeicher. Die Belegzellen sezernieren Salzsäure und die Hauptzellen Pepsinogen, die inaktive Vorstufe des für die Proteinverdauung wichtigen Enzyms Pepsin. Die Salzsäure sorgt für ein saures Milieu von etwa pH 2 im Magenumen, wodurch Nahrungsbestandteile zersetzt und aufgenommene Erreger vernichtet werden. Durch die Salzsäure werden Nahrungsproteine denaturiert und Pepsinogen zu Pepsin aktiviert. Die Fettverdauung beginnt ebenso im Magen, wo es durch die Darmmotik zu einer Emulsion der aufgenommenen Fette kommt. Gleichzeitig werden die Fette durch die gastrische Lipase teilweise zerlegt. Der Magen speichert aufgenommene Nahrung v.a. im proximalen Magen, und durch Propulsionsbewegungen wird der Mageninhalt in Richtung Pylorus befördert. Der Pylorus kontrahiert mit kurzer Verzögerung, sodass nur ein kleiner Teil (ca. 10 ml) und nur kleine Partikel des transportierten Speisebolus in das Duodenum gelangen kann, wobei der restliche Teil wirkungsvoll im Magen durchmischt wird. Somit wird verhindert, dass große Mengen das Duodenum auf einmal erreichen (Zilles, Tillmann, 2010, S. 462-463; Baum, 2004, S. 146).

## **Dünndarm**

Der Dünndarm ist etwa 3 – 5 m lang und wird in die Abschnitte Duodenum (Zwölffingerdarm), Jejunum (Leerdarm) und Ileum (Krummdarm) eingeteilt (Baum, 2004, S. 148-149; Van den Berg, 2005, S. 197; Siegenthaler, 2006, S. 819). Die Verdauung und die Resorption der Nahrung findet vor allem in den Abschnitten des Duodenums und Jejunums statt, da die Dünndarmwand aufgrund der Vielzahl von Ausstülpungen, die sogenannten Villen, eine um 600fache größere Oberfläche anzubieten hat. Nach Übertritt von Mageninhalt kommt es zu einer Ansäuerung des Duodenallumens. Der pH-Abfall stimuliert die Ausschüttung von Sekretin aus sekretinbildende S-Zellen des Duodenums. Sekretin hemmt einerseits die Gastrinsekretion im Magen und stimuliert andererseits die Sekretion von Hydrogencarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) -reichem Pankreassaft, der den Inhalt des Duodenum neutralisiert und eine Vielzahl von Verdauungsenzymen für Fette, Kohlenhydrate, Eiweiß und Nukleinsäuren enthält. Außerdem stimuliert der Eintritt von kurzen Fettsäuren, Glukose, Aminosäuren und Calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) die Sekretion von Cholecystokin (CCK), dass aus CCK-Zellen des Duodenum und Jejunum freigesetzt wird. CCK bewirkt eine Kontraktion der Gallenblase, wodurch die Galle in den Darm entleert wird und für die Fettverdauung verantwortlich ist. Die Gallensäuren werden sekundär im Ileum aktiv resorbiert und stehen

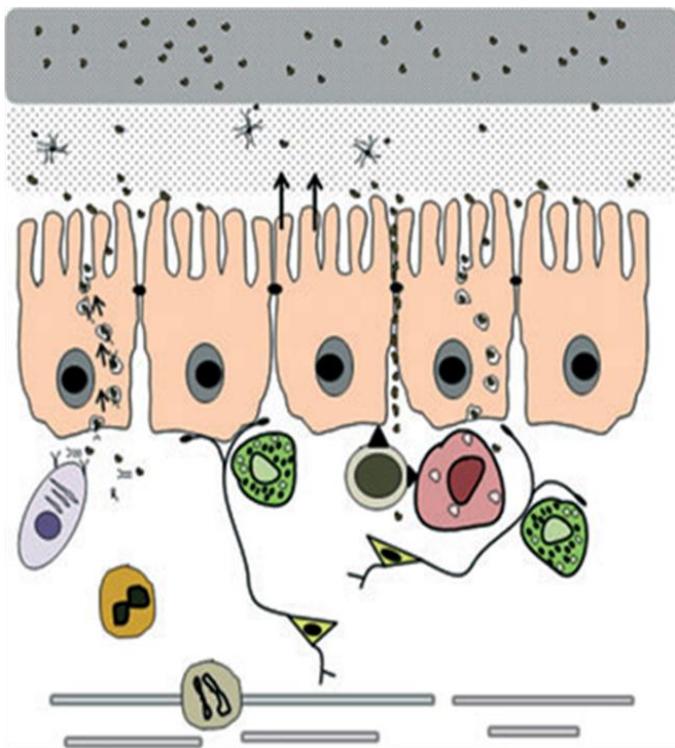
damit erneut in der Galle zur Sekretion bereit, was enterohepatischer Kreislauf der Gallensäuren genannt wird. Nach der Duodenalpassage geht die Nahrung in die Dünndarmabschnitte Jejunum und Ileum, über wo sie weiter verdaut wird. Die Verdauungsprodukte (Monosaccharide, Aminosäuren und Dipeptide sowie Monoglyceride und freie Fettsäuren) werden ebenso im Dünndarm resorbiert, wie Wasser, Mineralstoffe und Vitamine (Silbernagl, Lang, 2005, S. 134).

### **Dickdarm**

Der Dickdarm stellt den letzten Anteil des Verdauungsapparates dar und ist ca. 1,5 – 1,8 m lang. Er ist in mehrere Abschnitte unterteilt, den Wurmfortsatz, Blinddarm, aufsteigenden, querverlaufenden und absteigenden Dickdarm, als auch den sigmaförmigen Dickdarm, Mastdarm und After (Baum, 2004, S. 149-150). Da 75-80% des Wassers und der Elektrolyte im Dünndarm resorbiert werden, muss der Dickdarm die restlichen 20-24% resorbieren (Gerstorfer, 2004, S. 122). Außer dieser Funktion und die weitere Aufgabe den Stuhl zu formen und bis zur Entleerung (Defäkation) zu halten, besitzt der Dickdarm eine geringe Verdauungsfunktion, da im Gegensatz zum Dünndarm, die Innenwand relativ glatt ist und ihm die zahlreichen Ausstülpungen fehlen. Ein weiteres Merkmal des Dickdarmes ist seine bakterielle Besiedlung, die sogenannte Mikroflora. Ihr kommen einige wichtige Aufgaben zu, wie das Aufspalten von Stoffen, die von Enzymen nicht verdaut werden können, die Synthese von bestimmten Vitaminen, Immunabwehr zum Schutz vor Infektionen und die Verhinderung des Wachstums von pathogenen Keimen (Stegeman, Davis, 2006, S. 63).

### 1.3.1 Epitheliale Barriere

Die epitheliale Barriere, auch mukosale- oder Schleimhautbarriere genannt, ist ein komplexes System mit einer dualen Funktion, als Verdauungs- und Resorptionsorgan für Nährstoffe. Zusätzlich dient sie auch als hochselektive Barriere zwischen der Innen- und Außenwelt gegen toxische und infektiöse Stoffe. Diese Barriere entsteht aus der mukosalen Oberfläche sowie Komplexen wie Tight Junctions, die benachbarte epitheliale Zellen überbrücken (Keita, Söderholm, 2010, S. 718-719). Täglich werden große Mengen an Wasser, Ionen und gelöste Substanzen durch diese Barriere transportiert. Eine gesunde Barriere lässt nur kleine Mengen von Proteinen und Allergenen passieren, um die Interaktion mit dem angeborenen und gelernten Immunsystem zu ermöglichen. Im Gegensatz hierzu werden bestimmte Substanzen wie hochmolekulare Proteine, Pharmaka, Mikroorganismen und viele organische und anorganische Verbindungen aus dem Darmlumen nicht durchgelassen. Somit dient diese Barriere als eine Schutzseinheit gegen lokale und systemische pathologische Zustände (Seidler, Bachmann, 2006, S. 12-13; Keita, Söderholm, 2010, S. 718). Die epitheliale Barriere besteht aus vier Kompartimenten, dem Lumen, dem Microclimate, dem Epithel selbst und der Lamina propria, die rechts von Abbildung 4 näher erklärt werden. In dieser Arbeit wird hauptsächlich auf das Epithel eingegangen wo der parazelluläre und transzelluläre Transport stattfindet.



→ Das **Lumen** dient als die erste Schutzseinheit gegen Bakterien und Antigenen

→ Das **Microclimate** besitzt Mucin-Bindungsstellen die mit epithelialen Bindungsstellen konkurrieren. Somit können sich die pathogenen Keime an die epithelialen Bindungsstellen nicht andocken

→ Das **Epithel** besteht aus Komplexen, die eine selektive Barriere ermöglichen. Zusätzlich werden Chlorid und antimikrobielle Peptide gegen gesundheitsschädliche Stimuli sezerniert

→ Die **lamina propria** besteht aus Zellen der angeborenen und erworbenen Immunität, dass Immunglobuline und Zytokine sezerniert. Es besteht noch aus Zellen des enterischen Nervensystems und des endokrinen Systems

Abbildung 4: Komponente der intestinalen Barriere (modifiziert nach Keita, Söderholm, 2010, S. 719)

### 1.3.2 Epitheliale Resorption

Es gibt mehrere Wege um die epitheliale Barriere zu durchdringen. Es wird jedoch hauptsächlich über den parazellulären (durch die Tight Junctions) und transzellulären (durch die epitheliale Zelle) Transport gesprochen. Fettlösliche und kleine hydrophile Verbindungen durchdringen die Barriere über den transzellulären Transport, wobei größere hydrophile Moleküle, mit einem Molekulargewicht bis zu ca. 0.6 kDa in vivo, parazellulär passieren (Keita, Söderholm, 2010, S. 719). Allergene bzw. NM-Allergene sind Proteine mit einem Molekulargewicht von 10-70 kDa und einer Größe bis 2-60  $\mu\text{m}$  (Reedy et al. 2002, S. 61; Biesalski, 2004, S. 470). Unter normalen Bedingungen werden also Allergene durch diese beiden Transportwege nicht durchgelassen. In der folgenden Abbildung werden die unterschiedlichen Transportwege zusammengefasst:

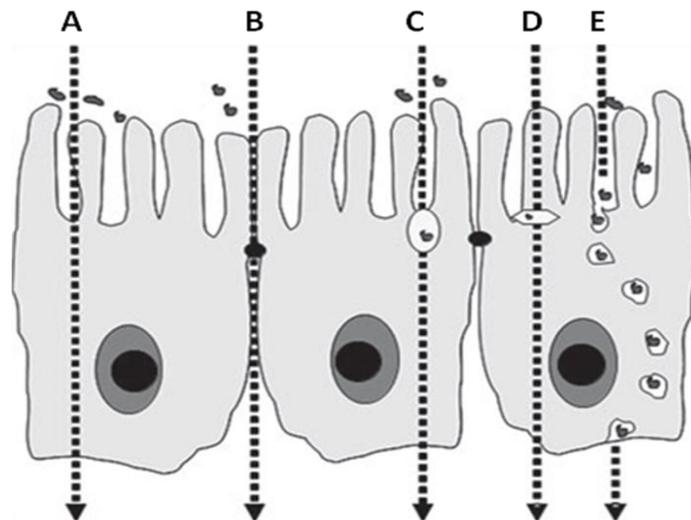


Abbildung 5: Transportwege durch das Epithel (Keita, Söderholm, 2010, S. 720)

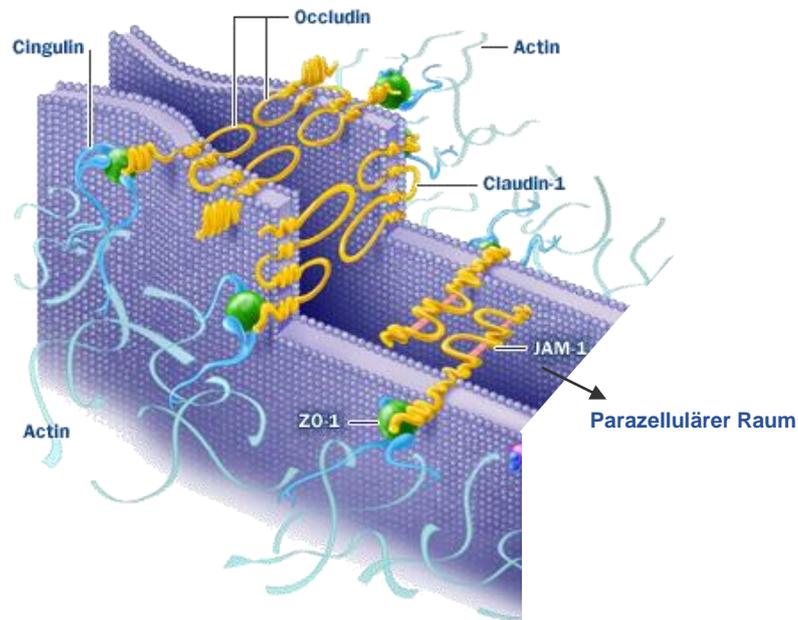
- A. Transzellulärer Transport:** Fettlösliche und kleine hydrophile Verbindungen werden durchgelassen.
- B. Parazellulärer Transport:** Größere hydrophile Verbindungen wandern passiv durch die Tight Junctions.
- C. Transzellulärer Transport über hydrophile Poren:** kleine hydrophile Verbindungen werden durchgelassen.
- D. Aktiv- Carrier vermittelte Absorption:** Passage von Nährstoffen.
- E. Endozytose, gefolgt von Transzytose und Exozytose:** größere Peptide, Proteine und Partikel werden transportiert.

Der parazelluläre Transport ist für die epitheliale Permeabilität von großer Bedeutung und wird deswegen im folgenden Abschnitt näher erklärt.

## **Die Tight Junctions**

Im Epithel bilden die Tight Junctions (zonula occludens) selektive Barrieren, die den parazellulären Transport von gelösten Substanzen, Immunzellen und Medikamenten regulieren. Die Strukturen, die diese Barriere ausmachen, die sogenannten Transmembranproteine, stammen hauptsächlich aus der Claudin Familie, weiterhin gehört dazu das Occludin (Fromm, Schulzke, 2009, S. 1). Daneben sind noch das IgSF-Protein JAM-1 (Junction Adhesion Molecules) und Trizellulin an dem Aufbau der Barriere beteiligt. Obwohl Occludin das erste in den Tight Junctions identifizierte Protein war, ist seine Funktion noch unklar. Ähnlich wie Claudin, spannt sich Occludin vier Mal in die Membran, doch es ist selbst nicht fähig einen Tight Junction auszubilden. Grund dafür ist, dass im Gegensatz zu Occludin die Claudine wie Reisverschluss zusammentreffen. So ermöglicht sich ein stabiler Kontakt zur Nachbarzelle. Es scheint jedoch eine direkte oder indirekte Interaktion mit Claudin zu besitzen (Fromm, Schulzke, 2009, S. 1; Anderson, 2001, S. 126). Die Claudine bestehen aus einer Molekülfamilie von mindestens 23 Mitgliedern. Es wird berichtet, dass sie weit verbreitet sind, zum Teil aber auch Gewebsspezifisch auftreten (Ganten, Ruckpaul, 2008, S. 35). So ist in erster Linie Claudin 5 in allen endothelialen Zellen zu sehen, wobei Claudin 16 ausschließlich in der aufsteigenden Henle'sche Schleife zu finden ist (Anderson, 2001, S. 128). Die Anordnung, Ultrastruktur und Funktion der Tight Junctions wird durch intrazelluläre Regulatorproteinen wie ZO-1, ZO-2 und Cingulin sowie das Zytoskelett reguliert (Anderson, 2001, S. 127; Fromm, Schulzke, 2009, S. 1; Schmidt, 2009, S. 2-5). Das bedeutet, dass die intrazellulären Regulatorproteine in der Lage sind die Transmembranproteine so aufzulockern oder einzuengen, dass die Tight Junctions sich öffnen oder schliessen können. Welche Art von Transmembranproteinen zwischen den Zellen zusammentrifft, bestimmt welche Stoffe in welcher Menge von den jeweiligen Tight Junctions durchgelassen werden. Auf diese Weise regulieren die Tight Junctions die epitheliale Dichtigkeit, es entstehen also entweder ein „dichtes“ Epithelgewebe wie beispielsweise in der Haut, Blut-Hirn-Schranke und Harnblase oder ein „durchlässiges“ Epithelgewebe wie in der Gallenblase und im Darm. Aus diesem Grund, erfolgt 90% des Stofftransports im Darm über den parazellulären Weg (Speckmann, 2008, S. 569). Zusätzlich variiert die Durchlässigkeit des Darms je nach Darmabschnitt sowie zwischen Villus und Krypte. In "durchlässigen" Epithelien erfolgt überwiegend ein parazellulärer Transport, in „dichten“ Epithelien entsteht dagegen ein hohes transepitheliales Potenzial

(Schmidt, 2009, S. 2-5). Die folgende Abbildung demonstriert die beteiligten Proteine an die Tight Junctions:



**Abbildung 6: Die wichtigsten an die Tight Junctions beteiligten Transmembranproteine und intrazelluläre Regulatorproteine (modifiziert nach Nastech Pharmaceutical Company Inc.)**

#### **1.4 Epitheliale Permeabilität und Nahrungsmittelallergie**

Eine Reihe von Krankheiten wie beispielsweise Morbus Crohn, Zöliakie, Mangelernährung, Nahrungsmittelintoleranz, aber auch Allergien, können mit einer Störung der intestinalen Darmbarriere einhergehen (Keita, Söderholm, 2010, S. 719). Wird die Barriere durch Faktoren wie Parasiten, Viren oder ähnliches verändert und aus dem Gleichgewicht gebracht, können Proteine leichter die Darmbarriere überwinden und in die Blutzirkulation gelangen. In einer Studie von Runswick et al. (2007), wurde der Einfluss von inhalativen Allergenen auf die Funktion der epithelialen Barriere untersucht. Pollen trägt auf seiner Oberfläche proteolytische Enzyme, die offensichtlich direkt oder indirekt die Tight Junctions verändern können. Dies könnte ein möglicher Mechanismus sein, wie Allergene das Epithel durchdringen können. Dadurch, kann wiederum, zu eine noch höheren Durchläs-

sigkeit auftreten, da die Allergene die aufgrund der erhöhten Durchlässigkeit durch die epithelialen Barriere gewandert sind, die Freisetzung von Mastzellenmediatoren stimulieren. Diese Mediatoren lockern die Tight Junctions auf und erlauben die Permeation der Makromoleküle über den parazellulären Weg (Keita, Söderholm, 2010, S. 725-726; Yu LC. 2009). Einige dieser Mastzellenmediatoren, die die intestinale Barriere beeinflussen zu scheinen, sind IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  und Tryptase. IFN- $\gamma$  scheint das intrazelluläre Regulatorprotein ZO-1 zu reduzieren, was einen Einfluss auf die Transmembranproteine und somit die parazelluläre und transzelluläre Permeabilität zur Folge hat. Ähnlich scheint TNF- $\alpha$  die Aktivität der intrazellulären Regulatorproteine, die Occludin regulieren, herabzusetzen und somit die parazelluläre Permeabilität zu erhöhen (Keita, Söderholm, 2010, S. 725-726). Doch diese Hypothese muss noch weiter erforscht werden um aussagekräftige Schlussfolgerungen ziehen zu können. Ob die epitheliale Permeabilität eine Folge oder eine Ursache von einer Nahrungsmittelunverträglichkeit ist, ist noch nicht geklärt. Es ist jedoch beschrieben worden, dass eine erhöhte intestinale Permeabilität möglicherweise mit einer Nahrungsmittelallergie einhergeht (Heyman et al., 1988; Yu LC 2009, Keita, Söderholm, 2010, S. 722; Biesalski, 2004, S. 470; Rapin, Wiernsperger, 2010; Asero, 2011).

## 2 Ziel und Fragestellung

Es liegen bislang kaum Studien zur epithelialen Permeabilität und der Nahrungsmittelallergie vor, während die Datenlage zur intestinalen Permeabilität deutlich besser gegenüber der gastroduodenalen Permeabilität steht. Ziel dieser Arbeit, ist vor allem die Bedeutung der intestinalen und gastroduodenalen Permeabilität bei NM-Allergikern zu erörtern. Dabei wird einerseits untersucht, ob Nahrungsmittelallergiker an sich eine veränderte Magen- und Darmbarriere im Vergleich zu gesunden Menschen haben. Andererseits wird die Barriere vor und nach einer oralen Nahrungsmittelprovokation untersucht, da vermutet wird dass es zu einer Veränderung der Barriere kommt. Um beide Fragestellungen zu beantworten, werden orale Permeabilitätstests für die Ermittlung der Magen- und Darmpermeabilität eingesetzt. Zusätzlich ergibt sich aus den Daten, ob der orale Permeabilitätstest in der Diagnostik einer Nahrungsmittelallergie eingesetzt werden kann.

Zusammenfassend wurden folgende Fragestellungen bearbeitet:

1. Ist die Magen- und Darmpermeabilität höher bei Nahrungsmittelallergikern im Vergleich zu gesunden Menschen?
2. Ist die Magen- und Darmpermeabilität nach einer oralen Nahrungsmittelprovokation höher als vor der oralen Nahrungsmittelprovokation?
3. Eignet sich der orale Permeabilitätstest für die Diagnostik einer Nahrungsmittelallergie?

## **3 Teilnehmer, Materialien, Methoden und Durchführung**

Die teilnehmenden Patienten stammen aus dem Allergie-Centrum der Charité – Universitätsmedizin Berlin. Die Daten der Probanden bzw. Kontrollpersonen wurden vom Kooperationspartner dieser Studie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Medizinische Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie, zur Verfügung gestellt.

Die verwendeten Materialien wurden sämtlich von beiden Einrichtungen zur Verfügung gestellt.

### **3.1 Patienten und Probanden**

Für die hier vorgestellte Untersuchung wurden drei Gruppen untersucht, Gruppe 1, Gruppe 2 und Gruppe 3. Die Patienten der Gruppe 1 und 2 sind NM-Allergiker, die NM-Allergiker der Gruppe 1 wurden jedoch provoziert. Die Gruppe 3 bestand aus Kontrollen bzw. Probanden. Um als Patienten an dieser Studie teilzunehmen, mussten folgende Ein- und Ausschlusskriterien erfüllt sein:

#### **Einschlusskriterien:**

- Es sollte eine Nahrungsmittelallergie vorhanden sein
- Die Patienten mussten über 18 Jahre alt sein
- Es musste die Einwilligungserklärung von dem Patienten unterschrieben werden
- Diejenigen die provoziert wurden, mussten vom Arzt als positiv bewertet worden sein

#### **Ausschlusskriterien:**

- Schwere gastrointestinale, hepatobiliäre, neurologische, immunologische, metabolische und/oder neoplastische Erkrankungen
- Schwangerschaft
- Akute Infektion
- Patienten mit Gastrektomie, Kolektomie, oder extensiver Dünndarmresektion
- Bestehende Krebserkrankung
- Sonstige Gegebenheiten, die der behandelnde Arzt als Ausschlusskriterium bewertet

### 3.2 Durchführung des oralen Permeabilitätstests

Um die gastrointestinale Permeabilität bestimmen zu können, wird eine Zuckerlösung mit drei Zuckerarten verwendet, die sich in der Art und dem Ort der Resorption im Magen-Darm-Trakt unterscheiden. Die Lösung enthält:

- 5 g Mannit,
- 10 g Lactulose und
- 20 g Saccharose in
- 100 ml Konservierungswasser (konserviert mit Parabenen<sup>1</sup>)

#### Zubehör<sup>2</sup>

- Eine kleine Plastikflasche (Flasche A) zum Sammeln des ersten Harns nach 12-stündiger Nüchternphase
- Eine Flasche Zuckerlösung (100 ml) zum Trinken innerhalb von 10 Minuten
- Eine große Plastikflasche (Flasche B) zum Sammeln des Harns nach dem Trinken der Zuckerlösung bis zum Testende nach 5 Stunden
- Datenblatt (siehe Seite ...)
- Fragebogen (hier auch auf Fragebogen im Anhang verweisen, und kurz erklären, was damit bezweckt wurde)

#### Vorbereitung

Bevor der Permeabilitätstest durchgeführt wird, ist innerhalb von 48 Stunden der Genuss von Bier, Wein, Schnaps oder sonstige alkoholische Getränke nicht erlaubt. In den letzten 24 Stunden vor dem Test sollte möglichst auf die Einnahme von Medikamenten verzichtet werden. Besonders wichtig sind dabei Antibiotika (Absprache), Diuretika, Abführmittel, Rheumamittel und Aspirin (ASS). Unmittelbar vor dem Test und während des Tests darf nicht geraucht werden. Bis 12 Stunden vor dem Test ist die letzte Mahlzeit erlaubt, danach nur noch Leitungswasser bzw. Mineralwasser. Weiterhin zu beachten ist das Kauen von Kaugummi und das Putzen der Zähne während des Tests.

#### Ausführung

Nach der 12-stündigen Nüchternphase soll ein Teil des ersten Harns in Flasche A gesammelt werden (nur halbvoll). Das Gefäß soll zunächst verschlossen im Kühl-

---

<sup>1</sup> Parabene ist ein Phenol-Derivat der zu fungiziden und bakteriziden Wirkstoffen gehört, und wird aufgrund seiner Geruchslosigkeit, gerne als Konservierungsmittel in pharmazeutischen und kosmetischen Produkten eingesetzt (Hutterer, 2006, S.139).

<sup>2</sup> Die Sammelflaschen enthalten als Konservierungsmittel Natriumacid.

schranksaufbewahrt werden. Im Anschluss soll innerhalb von maximal 10 Minuten der Inhalt der Zuckerlösung ausgetrunken werden.

Während der nächsten zwei Stunden:

- darf nichts getrunken und nichts gegessen werden. Durch das Essen, können Nährstoffe oder Substanzen dabei sein, die die gastrointestinale Permeabilität beeinflussen können
- dürfen die Zähne nicht geputzt werden
- dürfen keine Medikamente eingenommen werden
- ist kein Kaugummi erlaubt
- soll der gesamte Harn in der großen Flasche B gesammelt werden und im Kühlschrank aufbewahrt werden

Während der letzten drei Stunden:

- darf zwischen  $\frac{1}{4}$  Liter bis 1 Liter Leitungswasser bzw. Mineralwasser getrunken werden, um die Diurese zu fördern
- darf nichts gegessen werden, auch kein Kaugummi
- dürfen die Zähne nicht geputzt werden und nicht geraucht werden
- dürfen keine Medikamente eingenommen werden.
- muss der gesamte Harn in der großen Flasche B gesammelt werden und im Kühlschrank aufbewahrt werden

Danach darf gegessen und getrunken werden wie gewohnt und ggf. die Medikamente wieder eingenommen werden. Spätestens nach 24 Stunden, müssen die Urinproben in der medizinischen Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie der Charité Berlin gebracht werden, um diese für der HPLC (High Performance Liquid Chromatography) vorbereiten zu können.

### **3.3 Versuchs- und Messtechnik der HPLC**

#### **3.3.1 Material der HPLC-Analytik**

Die HPLC (High Performance Liquid Chromatography) wurde verwendet, um einerseits die Zucker im Urin zu bestimmen und andererseits deren Konzentrationen zu messen. Dies erfolgte mit elektrochemischer Detektion (gepulst amperometrisch), d.h. dass die quantitative Bestimmung dieser Ionen anhand ihres elektrischen Potentials an einer Mes-

selektrode erfolgte. Verwendet wurde ein System der Firma Dionex (Idstein, Deutschland) mit folgenden Komponenten:

- Gradientenpumpe GS 50
- Vorsäule CarboPac PA 1 (4 × 50 mm)
- Trennsäule CarboPac PA 1 (4 × 250 mm)
- elektrochemischen Detektor ED 40
- Autosampler AS 100 (Produkt der Firma Thermo Separation Products (San Jose, USA)).

Die HPCL-Messung erfolgte durch den Kooperationspartner dieser Studie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Medizinische Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie.

### **3.3.2 Aufarbeitung des Urins**

Nach Abgabe der Urinsammelgefäße in der Klinik wurden die Harnvolumina der Flaschen A und B notiert. Circa 10 ml je Probe wurde entweder direkt der HPLC - Analytik zugeführt oder bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  eingefroren, um dann später zugeführt zu werden.

Für die Durchführung wurden je 500  $\mu\text{l}$  des Vorharns und Nachharns in ein Eppendorfröhrchen pipettiert und dazu 50  $\mu\text{l}$  interner Standard gegeben. Der interne Standard besteht aus dem Monosaccharid Meso-Erythrit und dem Disaccharid Turanose. Dieser diente als Kalibrierlösung um mögliche Abweichungen festzustellen, da die eingegebene Konzentration des internen Standards bekannt war, im Gegensatz zu den Zuckerkonzentrationen der Proben. Hat der interne Standard durch das Verfahren seine Konzentration verändert, wird angenommen dass sich die Konzentration des Analyten in gleicher Weise verändert hat. Die relative Abweichung des internen Standards durfte nicht über 6% liegen, sonst musste der Ablauf wiederholt werden. Zur Proteinfällung wurden noch 50  $\mu\text{l}$  20%-ige Sulfosalicylsäure (SSA) verwendet, und eine Spatelspitze des Ionenaustauschers Amberlite MB-3 (Merck, Darmstadt) diente zur Salzfällung sowie zur Bindung von Farbstoffen. Die Probe wurde für 20 min geschüttelt (Eppendorf-Mixer 5432, ENH GmbH; Hamburg, GER) und anschließend 10 min mit 2000 G zentrifugiert (Biofuge fresco, Heraeus Instruments; Berlin, GER). Der Überstand von ca. 200  $\mu\text{l}$  wurde in ein Kryo-Röhrchen abpipettiert und eingefroren oder direkt weiterverarbeitet. Es kamen 10  $\mu\text{l}$  von diesem Überstand zu 990  $\mu\text{l}$  Reinstwasser hinzu (Verdünnung von 1:100). Das verwendete Reinstwasser wurde im eigenen Labor in einer Reinstwasseranlage (Millipore GmbH,

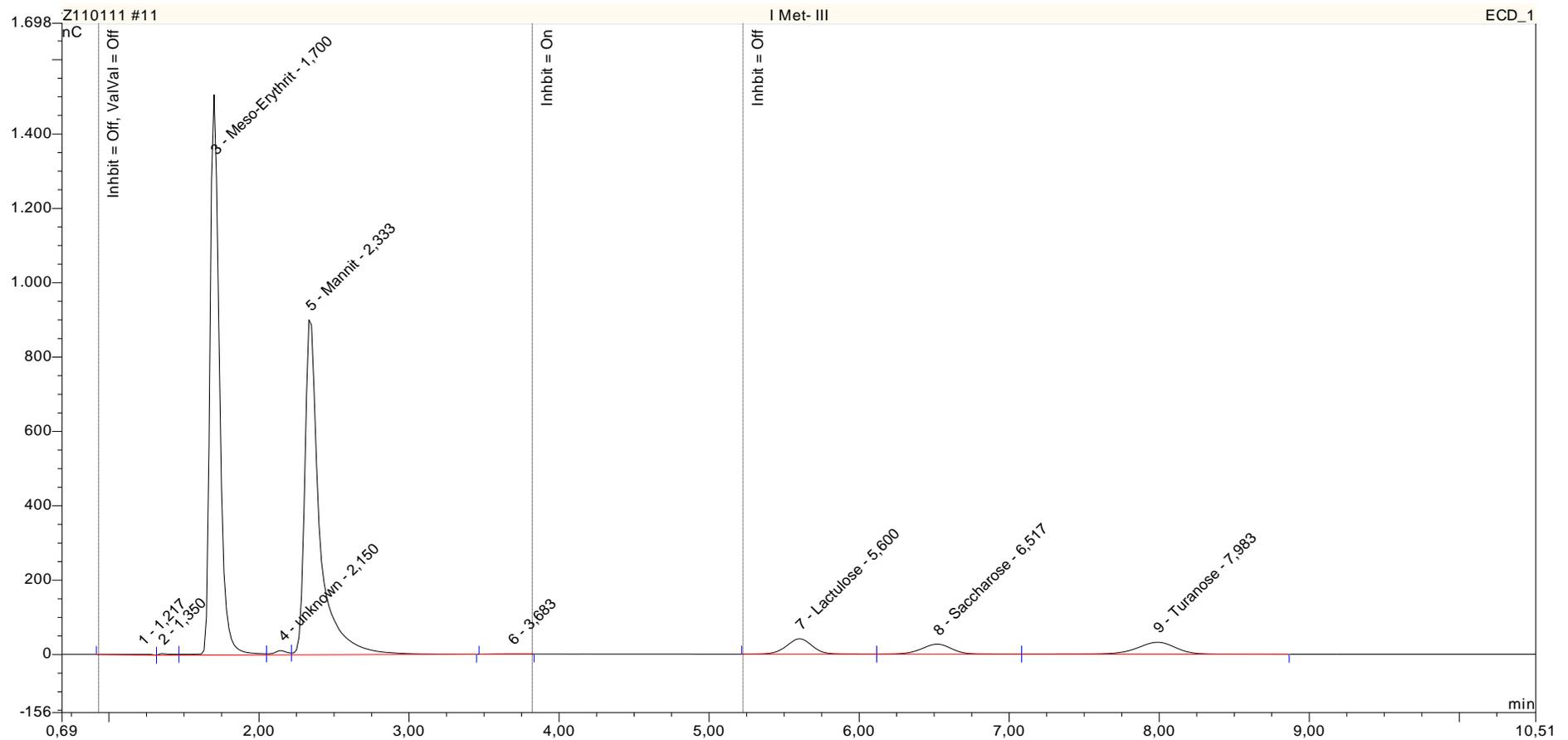
Schwalbach, Deutschland) gewonnen. Nun waren die Proben für die Analyse mit der HPLC bereit.

### **3.3.3 Eluentenherstellung und Gaseinleitung**

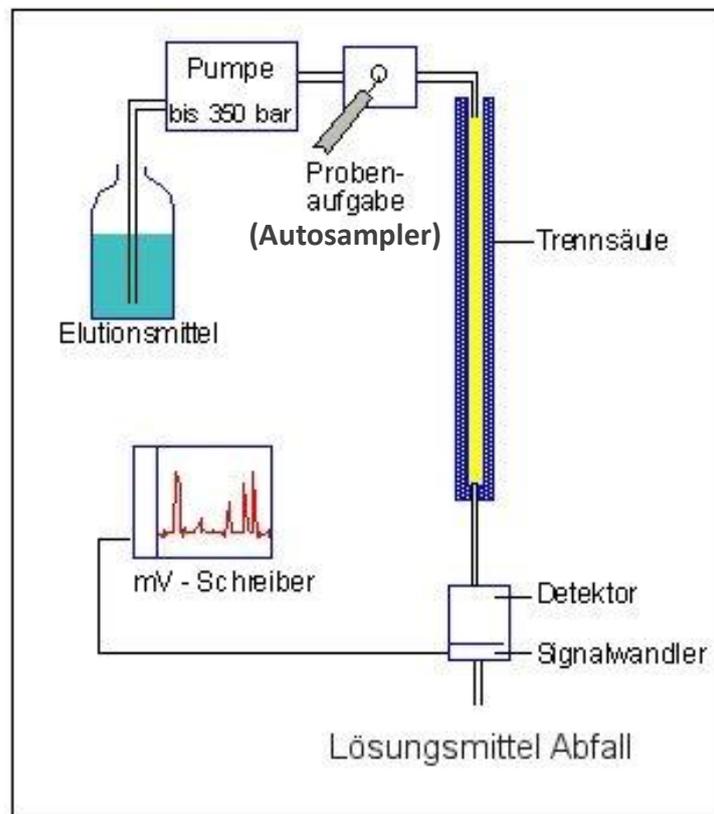
Wie der Name sagt, läuft immer bei der HPLC eine Flüssigkeit, der sogenannte Eluent oder Elutionsmittel, durch das Gerät. Die Redoxreaktion, die dieser Analytik zugrunde liegt, muss in einem stark basischen Milieu stattfinden. Deshalb wird eine starke Lauge wie NaOH zur Herstellung des Eluenten verwendet. Eine 150 mmol/l NaOH-Lösung wurde aus 50%-iger NaOH-Lauge (J.T.Baker, VA Derenter, Holland) und Reinstwasser hergestellt. Anschließend wird der Eluent für 10 min mit Helium durchströmt, ein inertes Gas, das durch seine geringe Löslichkeit andere gelöste und freie Gase wie  $\text{CO}_3$  und  $\text{O}_2$  im und über dem Eluenten verdrängen kann. Es verhindert somit eine Carbonatbildung und eine Reduzierung durch vorhandenes  $\text{O}_2$ , dass die Messungen der HPLC verfälschen können. Wenn Proben hinzukommen, fließen die gleichzeitig mit der NaOH-Lauge durch das gesamte System ab.

### **3.3.4 Das Prinzip der HPLC-Analytik**

Der Eluent wird durch die Gradientenpumpe durch den Autosampler gepumpt. Die Probe wird im Autosampler dazugegeben. Eluent und Probe wandern zusammen durch die Trennsäule in die Messzelle (Signalwandler) hinein. Die Zucker haben unterschiedlich lange Verweildauer in der Trennsäule, die sogenannte Retentionszeit, und daraus erfolgt die Bestimmung der Zuckerart. Die Messzelle ist mit dem Detektor verbunden, der den Ionenstrom der Zucker misst. Der Ionenstrom ist direkt proportional mit der Konzentration des Zuckers. Nachdem der Detektor die Konzentration gemessen hat, gelangen die Probe und der Eluent im Abfall. Die Datenaufzeichnung erfolgt direkt über die Software Chromeleon, womit das Chromatogramm (siehe Abbildung 7) aufgezeichnet wird:



**Abbildung 7: Beispiel eines Chromatogramms.** Die Peaks zeigen die Zuckerarten an. In der folgenden Abbildung ist ein idealer Chromatogramm dargestellt. Zu erkennen sind die internen Standards Meso-Erythrit und Turanose sowie die externen Standards Mannit, Lactulose und Saccharose. Meso-Erythrit erscheint als erster Peak, Turanose als letzter Peak. Mannit, Lactulose und Saccharose erzeugen Peaks in der Reihenfolge wie in der Abbildung dargestellt.



**Abbildung 8: Graphische Darstellung der HPLC Anlage und des Analysevorganges (Modifiziert nach dem Wilhelm-Schickard-Institut der Universität Tübingen)**

Bevor die Proben der HPLC-Analytik zugeführt werden, muss das Gerät geeicht werden. Daraus bildet sich eine Eichkurve, womit sich dann die Proben auf dieser Eichkurve beziehen. Dafür werden externe und interne Standards verwendet. Externe Standards bekommen ihren Namen dadurch, weil sie in den Proben nicht zugeführt werden und dienen nur zur Eichung des Geräts. Die internen Standards dagegen, dienen nicht nur für die Eichung des Geräts, sondern werden auch zusätzlich in den Proben zugegeben. Im Grunde genommen, enthalten die externen Standards die gleichen Zucker, die sich in den Proben befinden. Einziger Unterschied besteht darin, dass die Konzentrationen der Zucker im externen Standard bekannt sind, wobei diese in der Probe unbekannt sind. Die Konzentrationen der internen Standards sind immer bekannt und dienen somit als Kalibrierung. Man würde vermuten, dass die gleichen Konzentrationen der externen und internen Standards durch die HPLC gemessen werden, wie sie der HPLC zugeführt wurden. Unterschiedliche Schwankungen sorgen aber für einen gewissen relativen Standardfehler der nicht über 6% liegen darf, sonst muss die Eichung wiederholt werden. Schwankungen können zum Beispiel durch den Ionenaustauscher Amberlite entstehen, da eine Spatel-

spitze verwendet wird die immer unterschiedlich sein kann. Folgende Tabelle zeigt die Konzentrationen der internen und externen Standards.

**Tabelle 1: Konzentrationen interner und externer Standards**

<b>Externer Standard</b>	Mannit (mmol/l)	Lactulose (mmol/l)	Saccharose (mmol/l)
<b>0</b>	3	0,15	0,15
<b>I</b>	5	0,25	0,25
<b>II</b>	10	0,5	0,5
<b>III</b>	20	1,0	1,0
<b>Interner Standard</b>	Meso-Erythrit (mmol/l)	Turanose (mmol/l)	
	25	1,5	

### 3.4 Auswertung des oralen Permeabilitätstests

Beim oralen Permeabilitätstest unterscheidet man zwischen intestinaler und gastro-duodenaler Permeabilität. Beide werden durch unterschiedliche Marker gemessen.

#### 3.4.1 Gastroduodenale Permeabilität

Die Urinausscheidung für Saccharose (Rohrzucker aus Zuckerrohr oder Zuckerrüben gewonnen), dient als Marker für die gastroduodenale Permeabilität, da sie überwiegend im Magen bzw. Duodenum aufgenommen wird (Rodeck, Zimmer, 2008, S. 107). Saccharose ist ein nicht-reduzierendes Disaccharid, dass durch das Enzym Saccharase in die Monosaccharide Glucose und Fructose gespalten wird (Hallbach, 2006, S. 170; Ebermann, Elmadfa, 2007, S. 37). Saccharase ist ausschließlich im Bürstensaum der Dünndarmschleimhaut lokalisiert und ist nicht nur für die Verdauung von Saccharose erforderlich, sondern auch für die nachfolgende Resorption ihrer Monosaccharidbestandteile (Hand, Thatcher, Remillard, Roudebush, 2003, S. 1196). Saccharose kann eine intakte oder geschädigte Darmwand nicht durchdringen und eignet sich deswegen so gut für die Bestimmung der gastroduodenalen Permeabilität. Wird Saccharose vermehrt im Urin nachgewiesen, ist das ein Zeichen, dass die Gastroduodenalwand geschädigt ist und die Saccharose durch die diese gewandert ist, sonst wäre sie im Darm durch die Saccharase gespalten worden.

### **3.4.2 Intestinale Permeabilität**

Für die Bestimmung der intestinalen Permeabilität dient der Lactulose/Mannit Index. Es wurde in Studien nachgewiesen, dass das Monosaccharid Mannit und das Disaccharid Lactulose hierfür als bester diagnostischer Marker, mit einer hohen Sensitivität und Spezifität, geeignet sind (Willmes, 2007, S. 650; Dastyh et al., 2008). Diese beiden Zucker können vom Körper nicht metabolisiert werden, durchdringen die Darmbarriere unterschiedlich und werden schließlich unverändert im Urin ausgeschieden (Lipski, 2004, S. 116). Mannit kann aber bereits im Urin enthalten sein, z.B. als Entstehungsprodukt der bakteriellen Umsetzung anderer Zucker. Aus diesem Grund, muss der „Pre-dose-Urin“ auf Mannit analysiert werden (Müller, 2007, S.73). Lactulose gilt als Marker der parazellulären bzw. passiven Permeabilität (durch die tight junctions), doch was Mannit angeht ist noch unklar (Wehrmann, 2006, S. 117). In vitro wird eine parazelluläre Permeabilität beobachtet wobei in vivo ein transzellulärer Weg (durch die Zelle hindurch) favorisiert wird, da hier eine hohe renale Wiederfindungsrate nach oraler Gabe gemessen wird (Müller, 2007, S. 73; Speckmann, 2008, S. 569; Stein, Wehrmann, 2006, S. 117) Durch Lactulose wird also die Dichtigkeit der tight junctions bestimmt, durch Mannit der Zustand der intestinalen Oberfläche. Bei einer intakten Darmbarriere wird Mannit leicht resorbiert, dagegen wird aber Lactulose, da es ein großes Molekül ist, nur sporadisch aus dem Darm resorbiert und teilweise von Darmbakterien zu Essigsäure und Milchsäure abgebaut (Lipski, 2004, S. 116; Willmes, 2007, S.650). Beim gesunden Menschen, sind daher hohe Werte an Mannit und niedrige Werte an Lactulose zu finden. Diese können bei unterschiedlichen Erkrankungen variieren und dienen somit als gute Indikatoren. Der Quotient aus Lactulose-/Mannitausscheidung (Permeabilitätsindex von %Lac / %Man) widerspiegelt die intestinale Permeabilität (Rodeck, Zimmer, 2008, S. 107).

### **3.5 Fragebogen und Datenblatt**

Um mögliche Zusammenhänge der intestinalen und gastroduodenalen Permeabilität mit verschiedenen Faktoren bestimmen zu können, wurde den NM-Allergikern Fragebögen zur Verfügung gestellt womit zusätzliche Informationen bezüglich deren Allergie gewonnen werden konnte. Eine Übersicht der gestellten Fragen ist auf Seite 67 im Anhang zu finden. Das Datenblatt (siehe Anhang, S. 68) diente zur Überprüfung von nachträglichen Ausschlusskriterien wie z.B. die Einnahme von bestimmten Medikamenten, das Leiden an einer Erkältung, Grippe oder andere Infektionen oder sonstige Ausschlusskriterien die auf Seite 21-22 bei der Durchführung des oralen Permeabilitätstests näher erklärt werden.

### 3.6 Nahrungsmittelprovokation

Die NM-Allergiker der Gruppe 1 wurden, wie schon erwähnt, im Gegensatz zur Gruppe 2 provoziert. Die orale Provokationstestung mit Nahrungsmitteln ist der „Goldstandard“ für die Diagnostik einer Nahrungsmittelallergie, da sie heutzutage als einziger beweisender Parameter gilt. Hierbei handelt es sich um eine doppelblind Plazebo-kontrollierte Nahrungsmittelprovokation (double-blind placebo-controlled food challenge, DBPCFC), um eine Erwartungshaltung des Patienten und betreuenden Arztes auszuschließen (AWMF-Leitlinien-Register, 2006, Nr. 061/003; Jäger, 2008, S. 102).

### 3.7 Statistik

Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm PASW Statistics Version 18.0 (Predictive Analysis SoftWare von SPSS Inc., der Firma IBM (Chicago, USA)). Folgende Diagramme und Tests wurden bei der Auswertung angewendet:

#### Box-Plot

Der Boxplot, auch Box-Whisker-Plot genannt, ist ein Diagramm, das die Verteilung statistischer Daten beschreibt. Der Box repräsentiert die mittleren 50% der Daten und wird vom oberen und unteren Quartil begrenzt. Die Länge der Box entspricht dem Interquartilabstand (IQR), ein Maß der Streuung der Daten. Der schwarze Balken in der Box entspricht dem Median und teilt die Box in zwei Hälften, in denen jeweils 50% der Daten liegen. Die Lage des Medians in der Box, beschreibt die Schiefe der Daten. Bei einer rechtsschiefen Verteilung, liegt der Median im linken Teil der Box und umgekehrt. Die Whisker entsprechen jeweils 25% der Daten. Wird der minimale von dem maximalen Wert abgezogen, spricht man von der Spannweite. Die Sternchen zeigen Extremwerte an und die Kreise zeigen Ausreißer an. Sind Ausreißer und/oder Extremwerte beim Boxplot zu erkennen, entsprechen die Whisker jeweils nicht mehr genau 25%.

#### Q-Q-Plot

Das Q-Q-Plot, auch Quantil-Quantil Graphik genannt, ist eine Graphik, die die Verteilung von zwei Merkmalen vergleicht, indem die Quantile zweier statistischer Variablen gegeneinander abgetragen werden. Bei Identität der zwei Variablen, liegen die Quantile bzw. Punkte genau auf der 45 ° Linie  $y = x$ . Sind die Variablen nicht identisch aber normalverteilt, liegen die Punkte einigermaßen auf der Linie  $y = x$ . Ist die eine Variable schief als die andere, bilden die Punkte einen „S“. Um sich auf den geeigneten Signifikanztest ent-

scheiden zu können, wurden alle Gruppen die in dieser Arbeit miteinander verglichen wurden, auf eine Normalverteilung anhand des Q-Q-Plots geprüft. So wurde beispielsweise für die Beschreibung des Alters der drei Gruppen (Tabelle 2, S. 31), anstatt der Mittelwert der Median genommen.

### **Mann-Whitney-U-Test**

Der Mann-Whitney-U-Test ist ein Zwei-Stichproben-Test der bei zwei unabhängigen Stichproben angewendet wird um die Signifikanz ( $p$ ) zu berechnen. Dieser Test wurde also beim Vergleich von verschiedenen Gruppen durchgeführt, wie beispielsweise bei NM-Allergikern und Kontrollen, verschiedenen Altersgruppen, weibliches und männliches Geschlecht, Frauen über und unter 50 Jahren, beim Vergleich des klinischen Zustandes sowie beim Vergleich von weiteren Allergien.

### **Wilcoxon Test**

Der Wilcoxon Test ist ein Zwei-Stichproben-Test der bei zwei abhängigen Stichproben angewendet wird um die Signifikanz ( $p$ ) zu berechnen. Dieser Test findet Anwendung bei Vergleichen innerhalb einer Gruppe wie z.B. bei dem Vergleich der intestinalen oder gastroduodenalen Permeabilität vor und nach der oralen Nahrungsmittelprovokation. Bei dem Wilcoxon Test als auch bei dem Mann-Whitney-U-Test, spricht man von einer Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von kleiner oder gleich 5% ( $P \leq 0,05$ ).

### **Pearson's Correlation**

Das häufigste Maß der Korrelation ist die Pearson's Correlation, dass den Grad der linearen Beziehung zwischen zwei Variablen beschreibt. Die Korrelation der gesamten Population wird mit dem griechischen rho ( $\rho$ ) bezeichnet, eine Stichprobe mit Pearson's „ $r$ “. Eine Korrelation von -1 beschreibt eine perfekte negative lineare Beziehung, 0 keine Beziehung und +1 eine perfekte positive lineare Beziehung zwischen den beiden Variablen. Zusätzlich muss die Signifikanz einer Beziehung ermittelt werden ( $P$ ), da eine Korrelation stark, jedoch nicht signifikant sein kann. Umgekehrt, kann eine Korrelation schwach, jedoch signifikant sein. Dies kann zum Beispiel an der Größe der Population liegen. Pearson's Correlation wurde bei der Korrelation zwischen der intestinalen oder gastroduodenalen Permeabilität mit dem Symptomscore angewendet.

Normalerweise wird der t-Test angewandt, wenn beide Testvariablen normalverteilt sind. Der Wilcoxon und Mann-Whitney-U-Test, besitzen jedoch eine höhere Teststärke und reagieren weniger robust auf Verletzungen der Voraussetzungen. Da die Größe der Stichproben oft sehr unterschiedlich war, wurde der Wilcoxon und Mann-Whitney-U-Test angewandt.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Patientenkollektiv

Die in dieser Studie eingeschlossenen Patienten wurden in drei Gruppen eingeteilt:

- **Gruppe 1:** 22 Nahrungsmittelallergiker, die stationär mit einem oder mehreren Nahrungsmitteln provoziert wurden
- **Gruppe 2:** 33 Nahrungsmittelallergiker, die stationär nicht provoziert wurden
- **Gruppe 3:** 35 Kontrollpersonen

Insgesamt erfüllten 62 NM-Allergiker die Ein- und Ausschlusskriterien des oralen Permeabilitätstests, es kamen aber nur 55 Patienten letztendlich zur Auswertung. Vier Patienten nahmen Medikamente 24 Stunden vor dem Test ein (ASS, E.coli- Eradikation), ein Patient trank Alkohol am Vorabend des Tests, eine Patientin war aufgrund von Verständnisschwierigkeiten am Vorabend des Tests nicht nüchtern und eine weitere Patientin hat den Test nicht gut vertragen. Die Patienten der Gruppen 1 und 2 erschienen in der Zeit von November 2008 bis November 2010. Die Patienten der Gruppe 3 waren Kontrollen von April 2002 bis April 2008.

Für den Vergleich der intestinalen und gastroduodenalen Permeabilität der Kontrollen mit Nahrungsmittelallergikern, wurde die Gruppe 1 und 2 zusammengefasst, d.h. 35 Kontrollen versus 55 NM-Allergiker. Dabei wurde in der Gruppe 1 der Wert vor der NM-Provokation verwendet. Der Vergleich der intestinalen und gastroduodenalen Permeabilität bei Nahrungsmittelallergikern vor und nach der Nahrungsmittelprovokation, erfolgte mit den Patienten der Gruppe 1.

**Tabelle 2: Alter und Geschlecht der drei Gruppen**

	<b>Gruppe 1</b>	<b>Gruppe 2</b>	<b>Gruppe 3</b>
<b>Alter</b>	37 ± 13,81	46 ± 13,64	36 ± 11,95 von 19 bis 62 Jahre
M ± SD <sup>1</sup>	von 20 bis 67 Jahre	von 21 bis 73 Jahre	
	43 ± 13,84 von 20 bis 73 Jahre		
<b>Geschlecht</b>	16/6	24/9	20/15
w/m <sup>2</sup>	40/15		

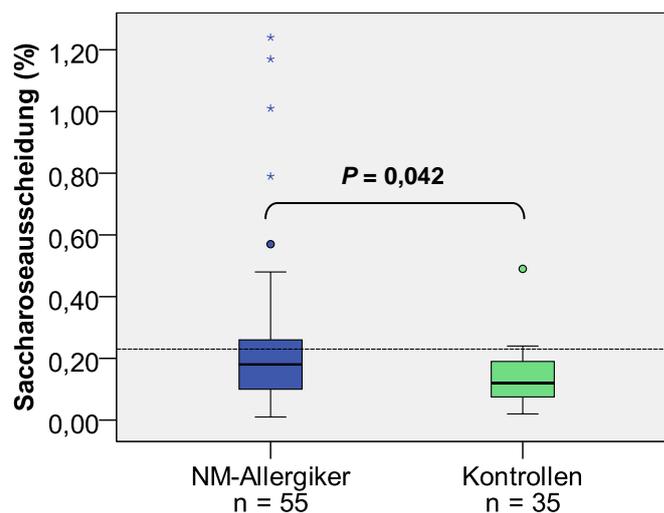
<sup>1</sup> Median ± Standardabweichung

<sup>2</sup> w = weiblich; m = männlich

## 4.2 Gastroduodenale Permeabilität

Die Saccharose Ausscheidung ist ein Marker für die gastroduodenale Permeabilität und wird in Prozent angegeben. Der Normbereich für die gastroduodenale Permeabilität liegt bis 0,23%.

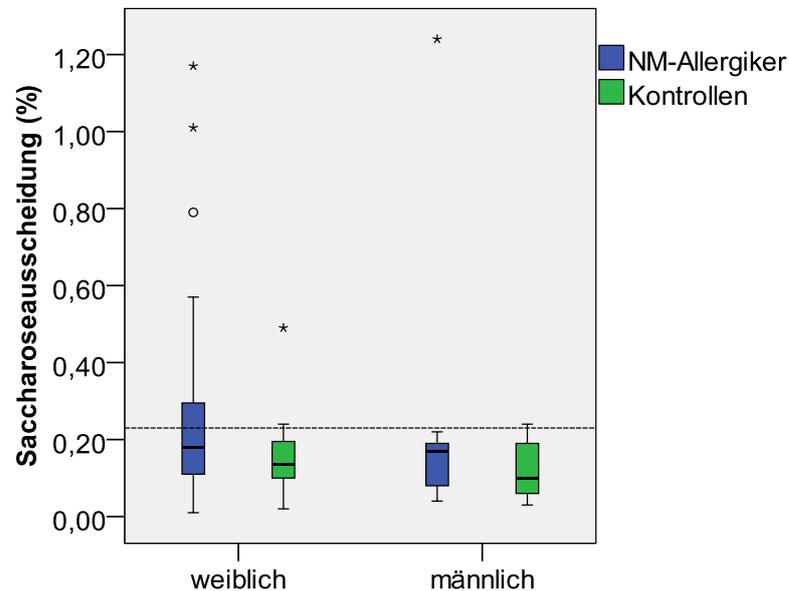
Die gastroduodenale Permeabilität wurde bei NM-Allergikern im Vergleich zu Kontrollen verglichen. In Abbildung 9 wird ersichtlich, dass eine signifikant höhere Saccharoseausscheidung bzw. gastroduodenale Permeabilität in der NM-Allergiker Gruppe als im Vergleich zu der Kontrollgruppe ( $P = 0,042$ ) vorliegt. Die Werte der NM-Allergiker liegen mehr als 30% über dem Normbereich und zeigen eine große Streuung. Der Median liegt höher als bei der Kontrollgruppe und einige Extremwerte sind zu erkennen. Die Werte der Kontrollgruppe befinden sich überwiegend im Normbereich.



**Abbildung 9: Gastroduodenale Permeabilität dargestellt als Saccharoseausscheidung in % bei NM-Allergikern und Kontrollen.** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an.

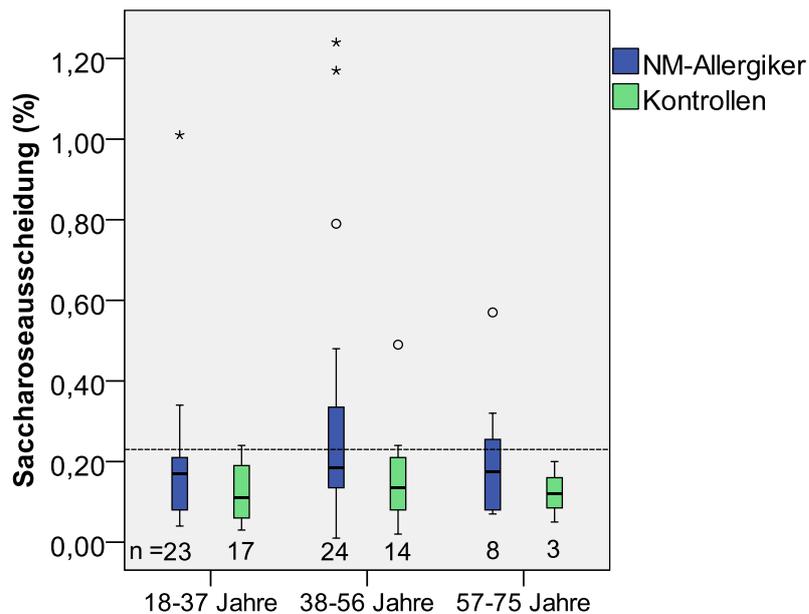
Die gastroduodenale Permeabilität wurde bezüglich weiblicher und männlicher NM-Allergiker und Kontrollen differenziert (Abbildung 10). Dabei wurde einerseits die gastroduodenale Permeabilität bei den NM-Allergikern und Kontrollen miteinander verglichen und andererseits die weiblichen und männlichen NM-Allergiker bzw. Kontrollen innerhalb der Gruppe. Die Werte der weiblichen NM-Allergiker liegen ca. 50% über dem Normbereich, die Werte der Kontrollen liegen dagegen überwiegend im Normbereich. Werte der männli-

chen NM-Allergiker und Kontrollen liegen beide im Normbereich. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede.



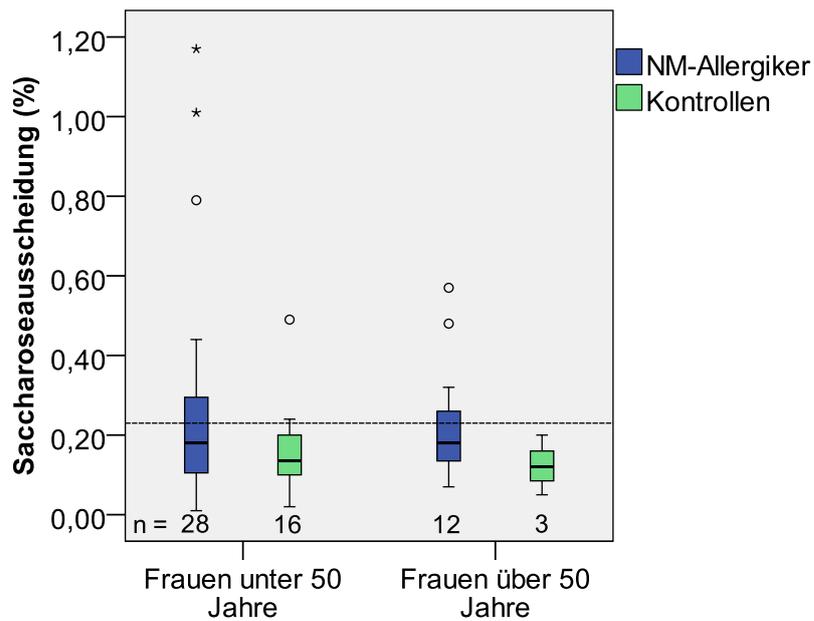
**Abbildung 10: Geschlechtsabhängige gastroduodenalen Permeabilität dargestellt als Saccharoseausscheidung in % bei NM-Allergikern und Kontrollen.** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an.

Um nach mögliche altersabhängige Unterschiede der gastroduodenalen Permeabilität zu untersuchen, wurden die NM-Allergiker und Kontrollen in drei gleichmäßige Altersgruppen eingeteilt, mit jeweils einer Spannweite von 19 Jahren (Abbildung 11). Verglichen, wurde die gastroduodenale Permeabilität bei den NM-Allergikern und Kontrollen miteinander sowie bei den NM-Allergikern bzw. Kontrollen innerhalb der Gruppe. Die Werte der Kontrollgruppen liegen überwiegend im Normbereich, die Werte der NM-Allergiker liegen jedoch teilweise darüber; die Werte der NM-Allergiker der Altersgruppe 38-56 liegen mehr als 30% über dem Normbereich, besitzen die größte Streuung und es sind mehr Ausreißer und Extremwerte zu erkennen. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede.



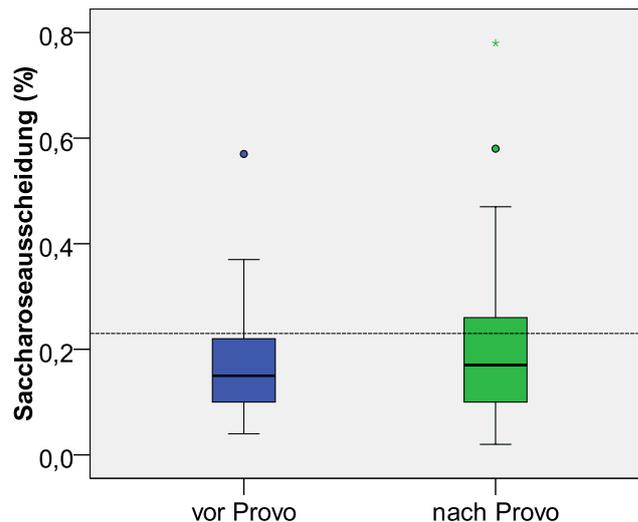
**Abbildung 11: Altersabhängige gastroduodenale Permeabilität dargestellt als Saccharoseausscheidung in % bei NM-Allergikern und Kontrollen.** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an.

Weiterhin wollten wir überprüfen, ob sich die gastroduodenale Permeabilität bei postmenopausalen Frauen mit einer NM-Allergie erniedrigt. Da in den Fragebögen die Menopause als solche nicht erfragt wurde, wurden die Frauen unter 50 Jahre als vor der Menopause und die Frauen über 50 Jahre als nach der Menopause eingeteilt (Abbildung 12). Die gastroduodenale Permeabilität wurde bei den NM-Allergikern und Kontrollen miteinander sowie bei den NM-Allergikern bzw. Kontrollen innerhalb der Gruppe verglichen. Die Werte der Kontrollgruppen liegen überwiegend im Normbereich. Die Werte der NM-Allergiker, sowohl die Frauen unter als auch über 50 Jahren, liegen mehr als 30% über dem Normbereich und zeigen eine größere Streuung. Hierbei ist die Streuung der Frauen unter 50 Jahren fast doppelt so hoch. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede.



**Abbildung 12: Gastroduodenale Permeabilität dargestellt als Saccharoseausscheidung in % bei Frauen unter und über 50 Jahren.** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an.

Weiterhin wurde überprüft, ob die gastroduodenale Permeabilität eine Folge einer Nahrungsmittelallergie ist bzw. ob sich diese nach der Nahrungsmittelprovokation verändert. Es sind erhöhte Werte vor und nach der Nahrungsmittelprovokation zu erkennen und der Median und obere Quartil liegen über dem Normbereich. Die Streuung ist deutlich höher, es bestehen jedoch keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 13).

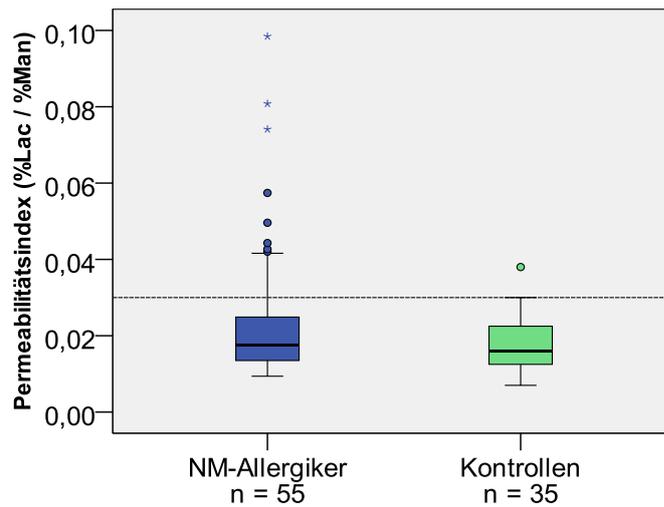


**Abbildung 13: Gastroduodenale Permeabilität dargestellt als Saccharoseausscheidung in % vor und nach der Nahrungsmittelprovokation bei NM-Allergikern (n = 22).** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an. Nahrungsmittelprovokation wird als Provo abgekürzt.

### 4.3 Intestinale Permeabilität

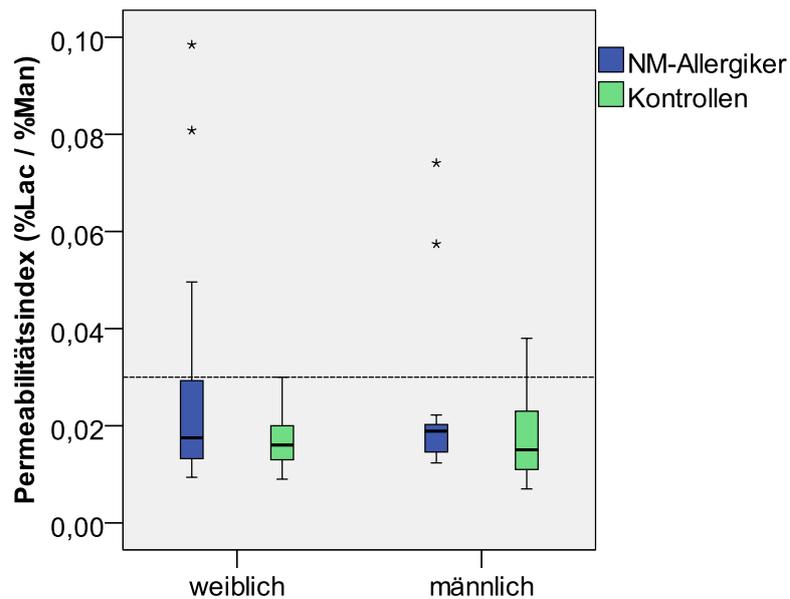
Der Permeabilitätsindex ergibt sich aus dem Quotient der Lactulose- und Mannitausscheidung und wird in Prozent angegeben. Der Permeabilitätsindex dient als Marker für die intestinale Permeabilität. Der Normbereich für die intestinale Permeabilität liegt bis 0,03%.

Die intestinale Permeabilität wurde bei NM-Allergikern im Vergleich zu Kontrollen verglichen. Es sind in Abbildung 14 erhöhte Werte in der Gruppe der NM-Allergiker mit größeren IQR (Interquartilsabstand) und größere Spannweite zu sehen. Es werden auch einige Extremwerte im Gegensatz zu der Kontrollgruppe beobachtet. In der Kontrollgruppe ist die Streuung gleichmäßiger und die Werte liegen im Normbereich. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede.



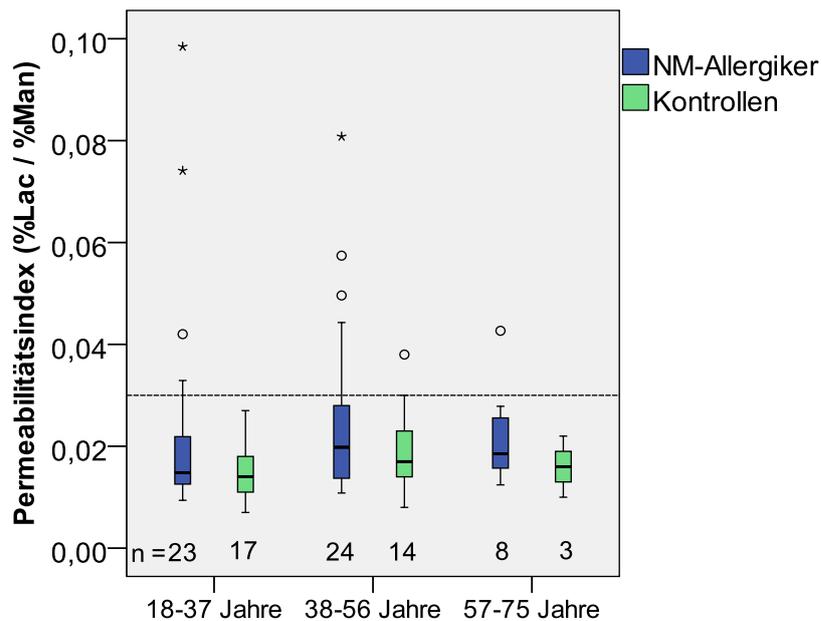
**Abbildung 14: Intestinale Permeabilität dargestellt als Permeabilitätsindex in % bei NM-Allergikern und Kontrollen.** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an.

Die intestinale Permeabilität wurde geschlechtsspezifisch bei den NM-Allergikern und Kontrollen eingeteilt (Abbildung 15). Dabei wurde einerseits die intestinale Permeabilität bei den NM-Allergikern und Kontrollen miteinander verglichen und andererseits die weiblichen und männlichen NM-Allergiker bzw. Kontrollen innerhalb der Gruppe. Die Werte der weiblichen NM-Allergiker liegen ca. 25% über dem Normbereich mit einer größeren Streuung im Gegensatz zu den Werten der weiblichen Kontrollen. Die Werte der männlichen NM-Allergiker liegen im Normbereich, die Werte der männlichen Kontrollen liegen aber mit einer größeren Streuung teilweise darüber. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede.



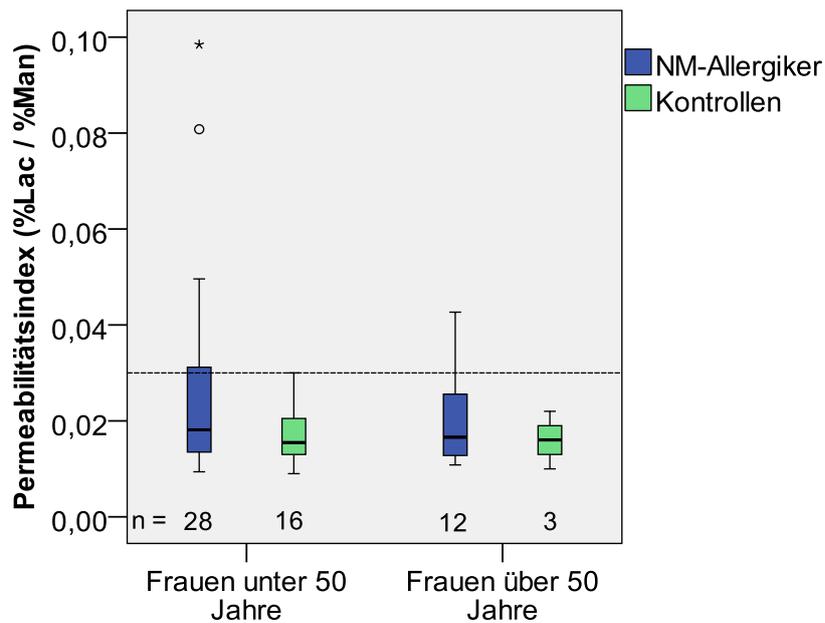
**Abbildung 15: Geschlechtsabhängige intestinale Permeabilität dargestellt als Permeabilitätsindex in % bei NM-Allergikern und Kontrollen.** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigt Extremwerte an.

Um nach mögliche altersabhängige Unterschiede der intestinalen Permeabilität zu untersuchen, wurden die NM-Allergiker und Kontrollen in drei gleichmäßige Altersgruppen eingeteilt, mit jeweils einer Spannweite von 19 Jahren (Abbildung 16). Verglichen, wurde die intestinale Permeabilität bei den NM-Allergikern und Kontrollen miteinander sowie bei den NM-Allergikern bzw. Kontrollen innerhalb der Gruppe. Die Werte der Kontrollgruppen liegen unter dem Normbereich. Die Werte der NM-Allergiker der Altersgruppe 18 - 37 Jahre liegen leicht über dem Normbereich, fast 25% der Werte der Altersgruppe 38 - 56 Jahre liegen jedoch deutlich darüber. Mehr Ausreißer und Extremwerte sind bei diesen beiden Altersgruppen zu sehen. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede.



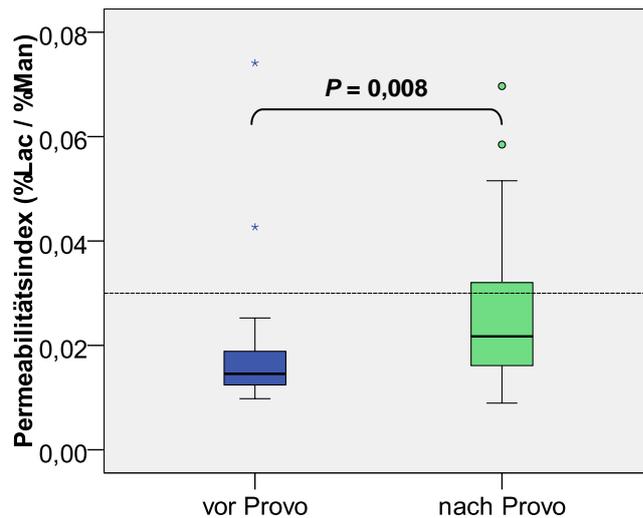
**Abbildung 16: Altersabhängige intestinale Permeabilität dargestellt als Permeabilitätsindex in % bei NM-Allergikern und Kontrollen.** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an.

Wie schon bei der gastroduodenalen Permeabilität bei Frauen über und unter 50 Jahre beschrieben wurde, wollten wir überprüfen, ob sich ebenso die intestinale Permeabilität bei postmenopausalen Frauen mit einer NM-Allergie erniedrigt. Da in den Fragebögen die Menopause als solche nicht erfragt wurde, wurden die Frauen unter 50 Jahre als vor der Menopause und die Frauen über 50 Jahre als nach der Menopause eingeteilt (Abbildung 17). Die intestinale Permeabilität wurde bei den NM-Allergikern und Kontrollen miteinander sowie bei den NM-Allergikern bzw. Kontrollen innerhalb der Gruppe verglichen. Die Kontrollgruppen liegen im Normbereich. Die NM-Allergiker liegen teilweise über dem Normbereich, die Streuung der Frauen unter 50 Jahre ist jedoch größer. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede.



**Abbildung 17: Intestinale Permeabilität dargestellt als Permeabilitätsindex in % bei Frauen unter und über 50 Jahren.** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an.

Weiterhin wurde überprüft, ob die gastroduodenale Permeabilität eine Folge einer Nahrungsmittelallergie ist bzw. ob sich diese nach der Nahrungsmittelprovokation verändert. Es besteht ein signifikant höheres Permeabilitätsindex bzw. intestinale Permeabilität von  $P = 0,008$  nach der Provokation im Vergleich zu vor der Provokation und die Werte liegen mehr als 25% über dem Normbereich. Der Median und die Streuung sind hierbei ca. doppelt so hoch (Abbildung 18).



**Abbildung 18: Intestinale Permeabilität (Permeabilitäts-Index) vor und nach der Nahrungsmittelprovokation bei NM-Allergikern (n = 22).** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an. Nahrungsmittelprovokation wird als Provo abgekürzt.

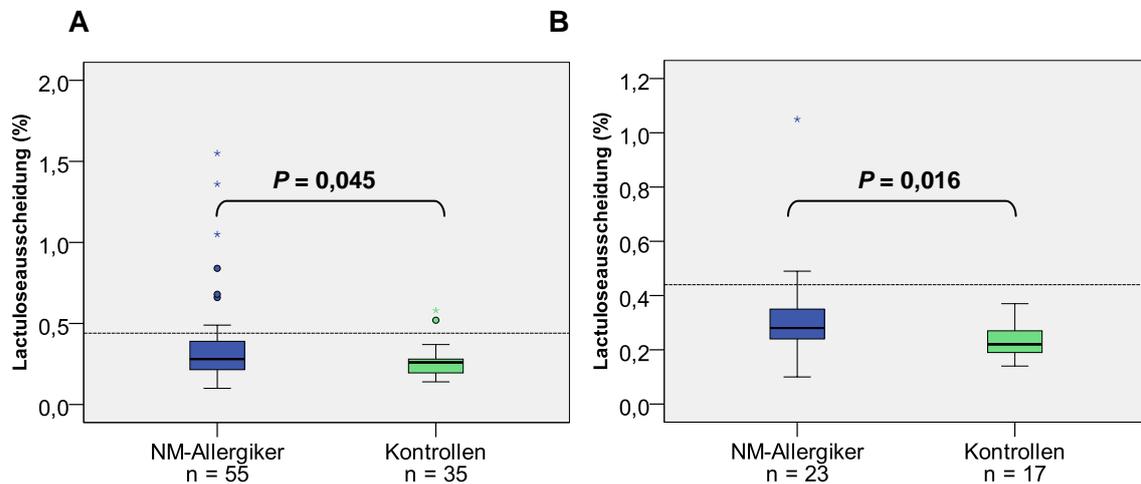
#### 4.4 Parazelluläre und transzelluläre Permeabilität

Der Quotient der Lactulose- und Mannitausscheidung wird Permeabilitätsindex genannt und wird in Prozent angegeben. Der Permeabilitätsindex wurde im oberen Abschnitt dargestellt und beschreibt die intestinale Permeabilität. Die Lactuloseausscheidung beschreibt die parazelluläre Permeabilität, die Mannitausscheidung dagegen die transzelluläre Permeabilität. Es wurde hierbei überprüft, ob signifikante Unterschiede zwischen der Lactulose- und Mannitausscheidung bzw. parazellulären und transzellulären Permeabilität vorliegen.

Es wurden drei signifikante Unterschiede beobachtet, die in den folgenden Abbildungen veranschaulicht werden. Der Normbereich der Lactuloseausscheidung liegt bis 0,44% und der der Mannitausscheidung bis 27,80%.

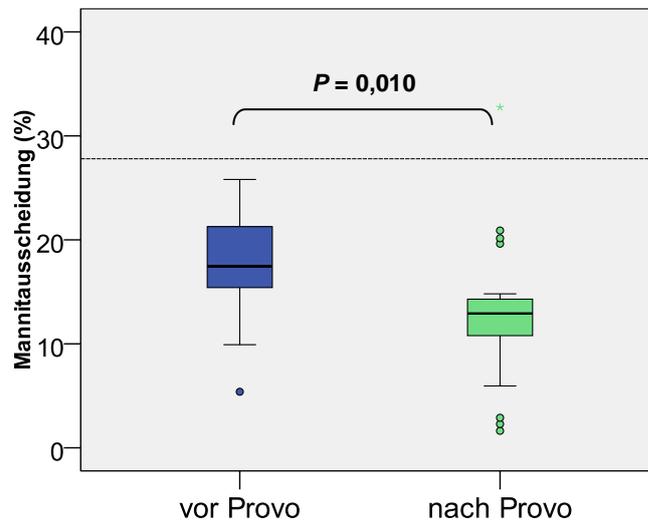
Es besteht eine signifikant höhere Lactuloseausscheidung bzw. parazelluläre Permeabilität von  $P = 0,045$  bei der Gesamtgruppe der NM-Allergikern im Vergleich zu den Kontrollen. Die Werte der NM-Allergiker liegen teilweise über dem Normbereich und es sind einige Ausreißer und Extremwerte zu sehen. Die Werte der Kontrollen liegen überwiegend im Normbereich und besitzen eine kleinere Streuung.

Weiterhin fand sich bei den NM-Allergikern der Altersgruppe 18-37 Jahre, eine signifikant höhere Lactuloseausscheidung bzw. parazelluläre Permeabilität von  $P = 0,016$  im Vergleich zu den Kontrollen. Die Werte der beiden Gruppen liegen im Normbereich, die Streuung der Allergiker ist jedoch kleiner (Abbildung 19).



**Abbildung 19: Parazelluläre Permeabilität dargestellt als Lactuloseausscheidung in % bei der Gesamtgruppe der NM-Allergikern und Kontrollen (A) sowie Parazelluläre Permeabilität dargestellt als Lactuloseausscheidung in % bei NM-Allergikern und Kontrollen der Altersgruppe 18-37 Jahre (B).** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an.

Wie bei der gastroduodenaler und intestinaler Permeabilität schon beschrieben, wurden 22 NM-Allergiker provoziert, um nach signifikante Unterschiede vor und nach der Nahrungsmittelprovokation zu überprüfen. Es besteht hierbei eine signifikant geringere Mannitausscheidung von  $P = 0,010$  nach Provokation. Da der Permeabilitätsindex aus dem Quotient der Lactulose- und Mannitausscheidung berechnet wird, führt eine kleinere Mannitausscheidung zu einem höheren Permeabilitätsindex bzw. intestinale Permeabilität. Die Mannitausscheidung vor als auch nach Provokation liegt im Normbereich, die Ausscheidung vor der Provokation ist jedoch normalverteilt. Nach der Provokation sind mehr Ausreißer zu erkennen. Dieses wird in Abbildung 20 veranschaulicht.

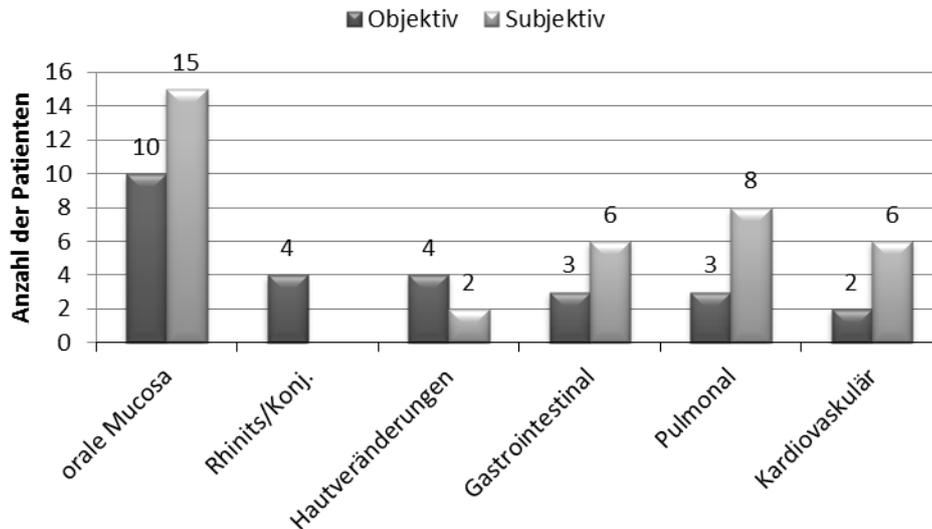


**Abbildung 20: Mannitaursscheidung vor und nach der Nahrungsmittelprovokation bei NM-Allergikern (n = 22).** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an. Nahrungsmittelprovokation wird als Provo abgekürzt.

#### 4.5 Klinische Symptomatik nach der Nahrungsmittelprovokation

Bei den 22 provozierten NM-Allergikern, erfolgte eine ärztliche Dokumentation der Symptome, die in subjektive und objektive Symptome eingeteilt wurden. Die Symptome wurden für die Auswertung in sechs Symptomgruppen zusammengefasst (Abbildung 21).

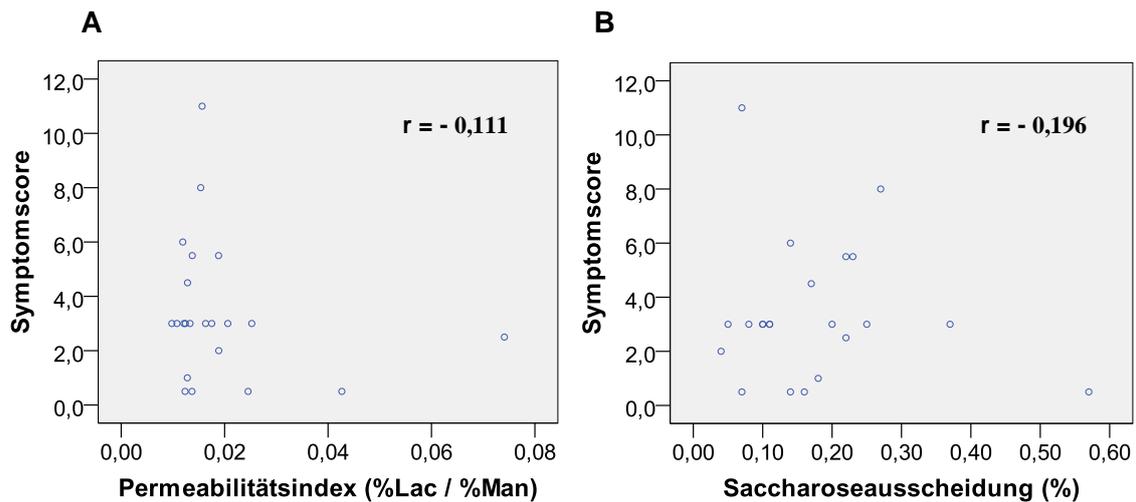
Da in dieser Arbeit die intestinale und gastroduodenale Permeabilität untersucht wurde, wurde zusätzlich nach möglichen Zusammenhängen mit den gastrointestinalen Symptomen gesucht. Bei der Mehrheit der provozierten NM-Allergiker, war die orale Mucosa objektiv und subjektiv betroffen. Die gastrointestinalen Symptome liegen jeweils objektiv und subjektiv an dritter Stelle. Wie in der Abbildung 21 zu erkennen ist, liegt die Anzahl der Patienten die mit subjektiven Symptomen reagiert haben, deutlich höher als denen, die mit objektiven Symptomen reagiert haben. Die Hautveränderungen stellen hierbei die einzige Ausnahme dar.



**Abbildung 21: Anzahl der provozierten NM-Allergiker, die mir den oben genannten Symptomen reagiert haben (n = 22).** Die blauen Säulen repräsentieren die objektiven Symptome und sind in absteigender Rangfolge eingeteilt. Die grünen Säulen repräsentieren die subjektiven Symptome.

Weiterhin wurde anhand der dokumentierten Symptome nach Provokation, ein Symptom-score für die Patienten berechnet. Eine detaillierte Übersicht ist auf Seite 66 im Anhang zu finden. Dieser wurde mit der intestinalen und gastroduodenalen Permeabilität korreliert (Abbildung 22), um zu überprüfen ob jeweils ein linearer Zusammenhang besteht.

Nach Pearson's Korrelationskoeffizient, ist eine unwesentlich negative Korrelation von  $r = -0,111$  bei der gastroduodenalen Permeabilität mit dem Symptom-score zu erkennen, jedoch kein signifikanter Unterschied. Es besteht ebenso bei der intestinalen Permeabilität eine unwesentlich negative Korrelation von  $r = -0,196$  und ebenso kein signifikanter Unterschied.

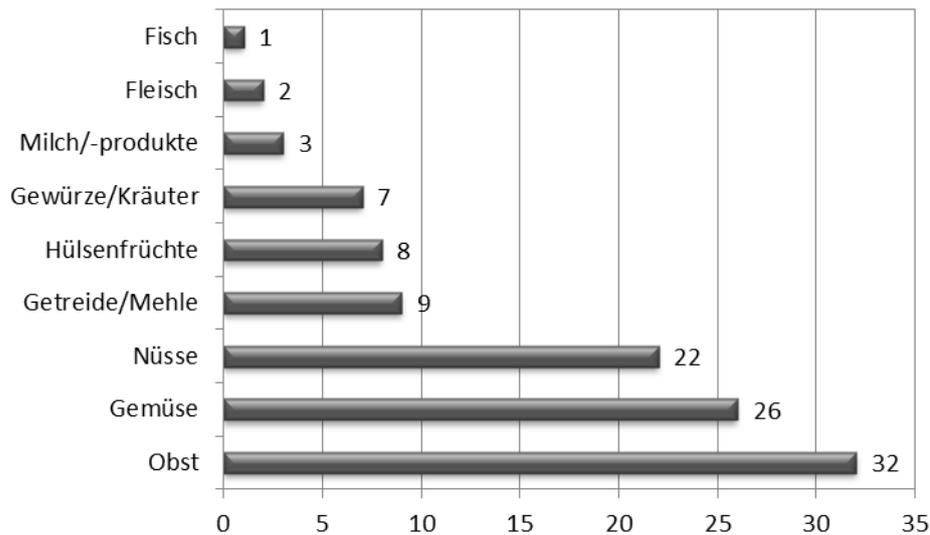


**Abbildung 22: Korrelation der intestinaler Permeabilität (A) dargestellt als Permeabilitätsindex in % und gastroduodenaler Permeabilität (B) dargestellt als Saccharoseausscheidung in % mit dem Symptomscore der provozierten NM-Allergikern (n = 22).**

#### 4.6 Auswertung der Fragebögen

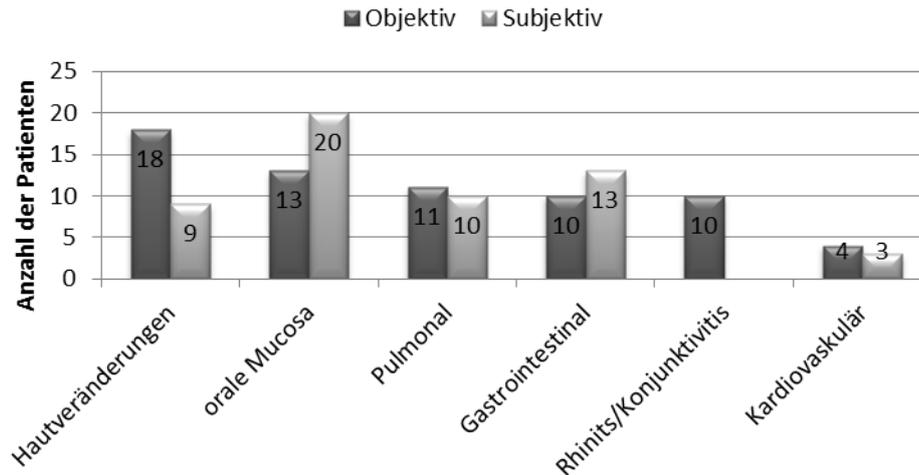
Die NM-Allergiker bekamen mit der Zuckerlösung und dem Zubehör einen Fragebogen zum Ausfüllen. Bei der Auswertung wurden alle Angaben in Rücksicht genommen und auf einer Signifikanz geprüft, doch aufgrund fehlender Angaben konnten nicht alle Ergebnisse miteinander verglichen werden. Es werden in folgenden Abbildungen diejenigen Ergebnisse veranschaulicht, die vergleichbare Anzahlen besitzen.

Bei der Frage 1 wurde gefragt auf welche Lebensmittel reagiert wird. Aufgrund fehlender Fragebögen oder Angaben zu dieser Frage, wurden die Angaben von nur 45 aus den insgesamt 55 NM-Allergikern ausgewertet. Die angegebenen Lebensmittel wurden in 9 Lebensmittelgruppen zusammengefasst und in Abbildung 23 dargestellt. Die Mehrheit der NM-Allergiker, reagierten auf Obst, Gemüse und Nüsse.



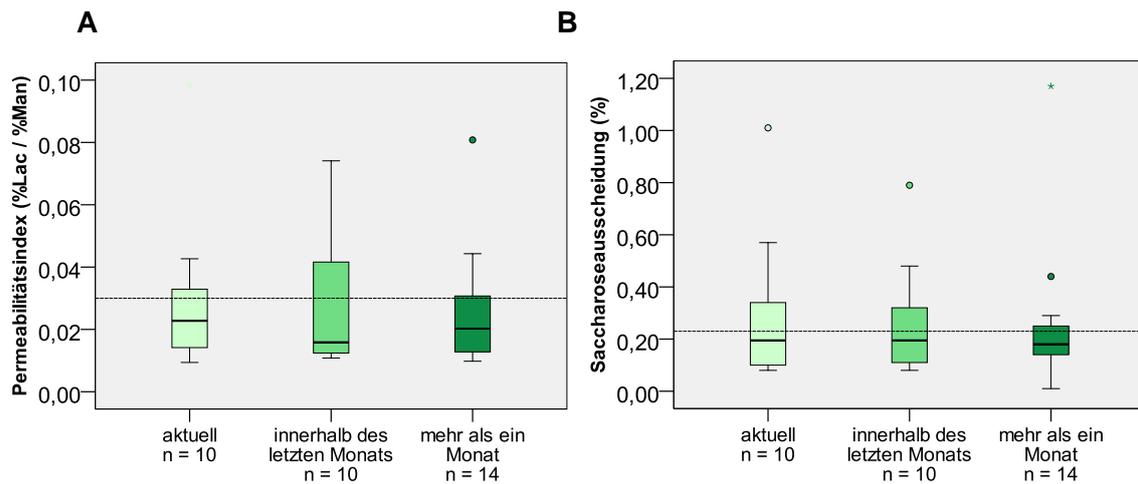
**Abbildung 23: Frage 1 - Anzahl der NM-Allergiker, die auf folgende Lebensmittel reagieren (n = 45).**

Bei der Frage 2 wurde nach den Symptomen gefragt. Wie schon im Abschnitt „Klinische Symptomatik nach der Nahrungsmittelprovokation“ erwähnt wurde, wurden die Symptome für die Auswertung nachträglich in sechs Symptomgruppen zusammengefasst und in subjektive und objektive Symptome eingeteilt (Abbildung 24). Eine detaillierte Übersicht der möglichen Symptomangaben ist auf Seite 66 im Anhang zu finden. Da in dieser Arbeit die intestinale und gastroduodenale Permeabilität untersucht wird, wird zusätzlich nach möglichen Zusammenhängen mit den gastrointestinalen Symptomen gesucht. Hierfür gab es Angaben für 44 aus den insgesamt 55 NM-Allergikern. Bei den objektiven Symptomen liegt die Anzahl der Patienten die mit Hautveränderungen reagiert haben an erster Stelle und an vierter Stelle diejenigen die mit gastrointestinalen Symptomen reagiert haben. Bei den subjektiven Symptomen wurde dagegen die orale Mucosa am meisten betroffen, und die gastrointestinalen Symptome liegen an zweiter Stelle. Es sind keine deutlichen Unterschiede zwischen objektiven und subjektiven Symptomen zu erkennen.



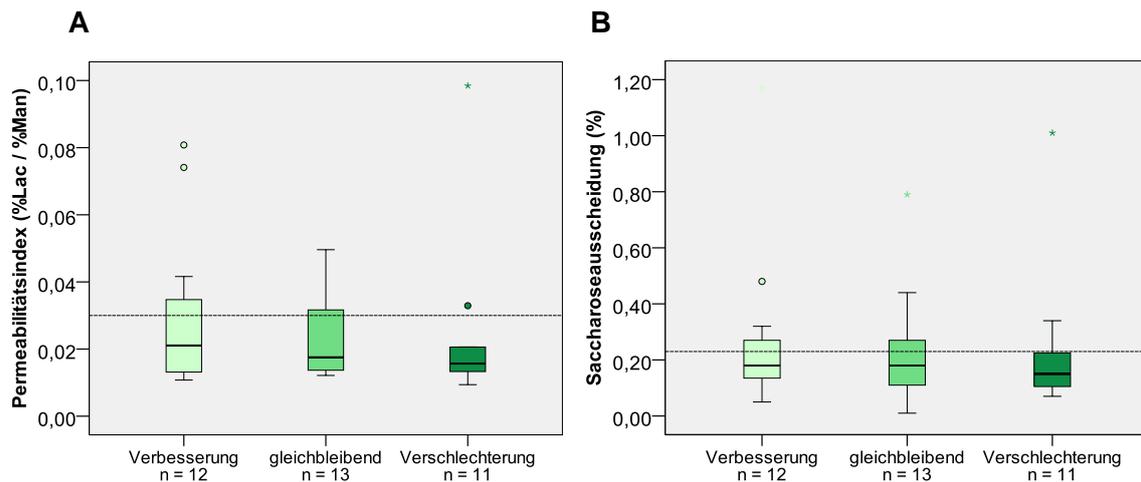
**Abbildung 24: Frage 2 - Anzahl der NM-Allergiker, die mit den oben genannten Symptomen reagiert haben (n = 44).** Die blauen Säulen repräsentieren die objektiven Symptome und sind in absteigender Rangfolge eingeteilt. Die grünen Säulen repräsentieren die subjektiven Symptome.

Bei der Frage 3 wurde nach dem Zeitpunkt der letzten allergischen Reaktion gefragt. Aufgrund der unterschiedlichen Angaben, wurden in den Antwortmöglichkeiten aktuell (am Zeitpunkt des oralen Permeabilitätstests), innerhalb des letzten Monats und mehr als ein Monat, eingeteilt. Diese werden von der Abbildung 25 veranschaulicht. Hierbei gab es Angaben für nur 34 aus den insgesamt 55 NM-Allergikern. Bei der intestinalen Permeabilität liegen die Werte aller drei Gruppen teilweise über dem Normbereich, am deutlichsten sind aber die Werte der NM-Allergikern, die innerhalb des letzten Monats zuletzt reagiert haben. Diese Gruppe hat die größte Streuung, besitzt jedoch den niedrigsten Median im Gegensatz zu den anderen zwei Gruppen die ähnlich verteilt sind. Bei der gastroduodenalen Permeabilität liegen ebenso die Werte aller drei Gruppen teilweise über dem Normbereich, die Werte der ersten beiden Gruppen liegen jedoch ca. 50% über dem Normbereich und besitzen demselben Median. Die NM-Allergiker die am Zeitpunkt des oralen Permeabilitätstests (aktuell) reagiert haben, besitzen die größte Streuung. Es bestehen bei der intestinalen als auch der gastroduodenalen Permeabilität keine signifikanten Unterschiede. Es zeigen sich ebenso bei der parazellulären und transzellulären Permeabilität keine signifikanten Unterschiede.



**Abbildung 25: Frage 3 - Intestinale Permeabilität (A) dargestellt als Permeabilitätsindex in % und gastroduodenale Permeabilität dargestellt als Saccharoseausscheidung in % beim Zeitpunkt der zuletzt aufgetretenen allergischen Reaktion.** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an.

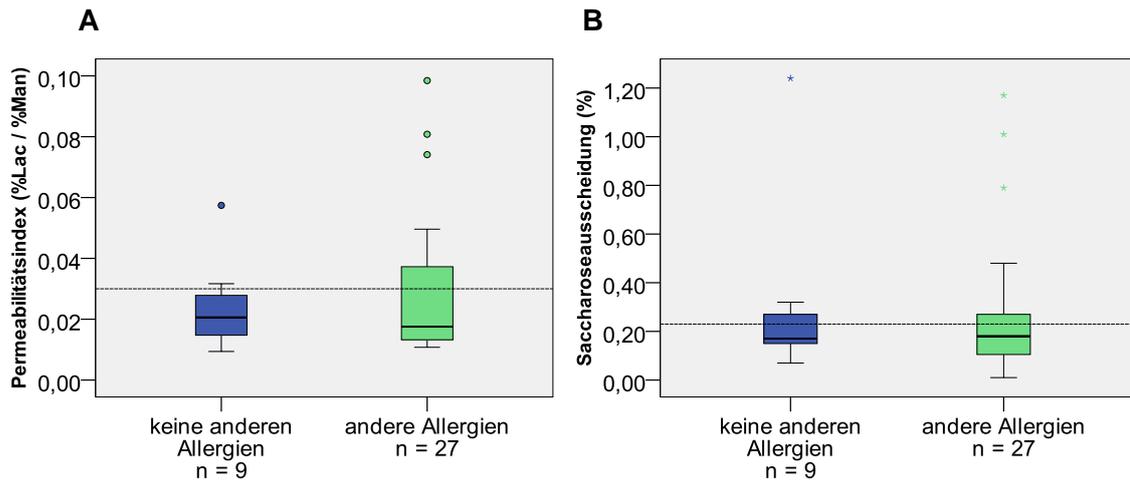
Bei der Frage 4 wurde nach einer Veränderung des klinischen Zustandes gefragt. Aufgrund von fehlenden Angaben, kamen aus den 55 NM-Allergikern nur 36 NM-Allergiker letztendlich zur Auswertung. Es wurden hierbei drei Gruppen entsprechend ihrem klinischen Zustandes in den letzten Jahren gebildet (Abbildung 26). Die Werte der NM-Allergiker mit einer Verbesserung oder gleichbleibendem klinischen Zustand liegen bei der intestinalen Permeabilität teilweise über dem Normbereich mit ca. einer doppelten bzw. dreifachen Streuung. Die Werte derjenigen mit einer Verschlechterung des klinischen Zustandes liegen im Normbereich. Bei der gastroduodenalen Permeabilität liegen die Werte der NM-Allergiker mit einer Verbesserung oder einem gleichbleibenden klinischen Zustand jeweils ca. 50% über dem Normbereich. Die Werte derjenigen mit einer Verschlechterung des klinischen Zustandes, liegen 25% über dem Normbereich. Es bestehen bei der intestinalen als auch bei der gastroduodenalen Permeabilität keine signifikanten Unterschiede. Es zeigen sich ebenso bei der parazellulären und transzellulären Permeabilität keine signifikanten Unterschiede.



**Abbildung 26: Frage 4 - Intestinale Permeabilität (A) dargestellt als Permeabilitätsindex in % und gastroduodenale Permeabilität (B) dargestellt als Saccharoseauscheidung in % bei NM-Allergikern in Abhängigkeit des klinischen Zustandes.** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an.

Bei der Frage 5 wurde gefragt, ob Lebensmittel aufgrund der NM-Allergie gemieden wurden. Hierbei gab es Angaben für 44 aus den insgesamt 55 NM-Allergikern. Davon haben fast alle NM-Allergiker die Lebensmittel gemieden, auf die sie reagieren. Dies kann ein Grund dafür sein, warum keine signifikanten Unterschiede der gastroduodenalen, intestinalen als auch der parazellulären und transzellulären Permeabilität gefunden wurden.

Bei der Frage 6 wurde nach weiteren Allergien z.B. Kontaktallergie, Insektengifte, Arzneimittel oder Heuschnupfen gefragt. Wie in der Abbildung 27 veranschaulicht wird, wurden zwei Gruppen gebildet, eine Gruppe mit und eine Gruppe ohne anderen Allergien. Bei der intestinalen Permeabilität, liegen die Werte der NM-Allergiker mit keinen anderen Allergien hauptsächlich im Normbereich. Die Werte derjenigen die zusätzlich zu der Nahrungsmittelallergie auch andere Allergien haben, liegen mehr als 40% über dem Normbereich und besitzen eine größere Streuung. Beide Gruppen besitzen Ausreißer, jedoch keine Extremwerte. Bei der gastroduodenalen Permeabilität liegen die Werte beider Gruppen ca. 50% über dem Normbereich, doch diejenigen mit anderen Allergien besitzen eine deutlich größere Spannweite. Es bestehen bei der intestinalen als auch bei der gastroduodenalen Permeabilität keine signifikanten Unterschiede. Es zeigen sich ebenso bei der parazellulären und transzellulären Permeabilität keine signifikanten Unterschiede.



**Abbildung 27: Frage 6 - Intestinale Permeabilität (A) dargestellt als Permeabilitätsindex in % und gastroduodenale Permeabilität (B) dargestellt als Saccharoseausscheidung in % bei NM-Allergikern mit und ohne anderen Allergien.** Normbereich entspricht dem Bereich bis zur Strichlinie. Median ist der schwarze Balken im Boxplot. Sternchen zeigen Extremwerte an, Kreise zeigen Ausreißer an.

Bei der Frage 7 wurde gefragt, ob zur Zeit des oralen Permeabilitätstests eine Hyposensibilisierung gemacht wurde. Hierbei gab es Angaben für 46 aus den insgesamt 55 NM-Allergikern. Davon haben fast alle NM-Allergiker am Zeitpunkt des oralen Permeabilitätstests keine Hyposensibilisierung gemacht. Dies kann ein Grund dafür sein, warum keine signifikanten Unterschiede der gastroduodenalen, intestinalen als auch der parazellulären und transzellulären Permeabilität gefunden wurden.

## 5. Diskussion

### 5.1 Diskussion der Ergebnisse

#### 5.1.1 Gastroduodeno-intestinale Permeabilität

Es liegen bislang kaum Studien zur epithelialen Permeabilität und der Nahrungsmittelallergie vor, während die Datenlage zur intestinalen Permeabilität deutlich besser gegenüber der gastroduodenalen Permeabilität steht. Aus diesem Grund wird in der Diskussion vor allem die Bedeutung der intestinalen und gastroduodenalen Permeabilität bei Nahrungsmittelallergikern erörtert.

In einer Studie von Perrier und Corthésy (2011) wird bezüglich der intestinalen Permeabilität bei Nahrungsmittelallergien eine erhöhte intestinale Permeabilität bei der Sensibilisierung mit Nahrungsmittelallergenen vermutet. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die intestinale Permeabilität bei Allergikern nicht signifikant höher im Vergleich zu den Kontrollen ist. Das kann daran liegen, dass sich einerseits die Patientenzahl zwischen den NM-Allergikern und den Kontrollen eher gering ist, und andererseits die Allergiker nicht normalverteilt sind. Im Gegensatz hierzu, zeigt sich eine signifikant höhere Lactuloseausscheidung bei den Allergikern im Vergleich zu den Kontrollen. Dies lässt vermuten, dass NM-Allergiker eine höhere parazelluläre Permeabilität aufweisen als Kontrollpersonen. Bei der gastroduodenalen Permeabilität zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bei den NM-Allergikern im Vergleich zu den Kontrollen.

In einer Studie von McOmber, Ou und Shulman (2010) mit 17 gesunden Erwachsenen und 15 gesunden Kindern, wurde gezeigt, dass die Zucker Ausscheidung bzw. intestinale und/oder gastroduodenale Permeabilität, geschlechts- und altersabhängig sein kann. Es wurde in dieser Studie ein Zusammenhang der Lactuloseausscheidung bzw. parazellulären Permeabilität mit dem Geschlecht beschrieben. Unsere Ergebnisse zeigen dagegen keine signifikanten geschlechtsabhängigen Unterschiede zwischen den NM-Allergikern und den Kontrollen; es wurden auch keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Gruppen der NM-Allergiker und Kontrollen beobachtet. Es wurde aber die doppelte Anzahl von NM-Allergikern mit Kontrollen verglichen und die Streuungen sind sehr variabel. Dies könnte ein möglicher Grund sein, warum die Ergebnisse nicht das Signifikanzniveau erreichten.

In verschiedenen Studien wird vermutet, dass die intestinale Permeabilität bei zunehmendem Alter zunimmt. Annaert et al. (2010), zeigten eine erhöhte transepitheliale Permeation des Arzneistoffes Metoprolol bei älteren Ratten im Vergleich zu jüngeren Ratten. Ähnlich zeigten Lee et al. (2010), eine mögliche Minderung der Dicke der intestinalen Mukosa mit zunehmendem Alter. In unserer Studie wurden die Patienten in drei gleichmäßige Altersgruppen eingeteilt, 18 - 37 Jahre, 38 - 56 Jahre und 57 - 75 Jahre. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen bei der intestinalen als auch der gastroduodenalen Permeabilität, keine signifikanten altersabhängigen Unterschiede zwischen den NM-Allergikern und den Kontrollen. Die NM-Allergiker und Kontrollen, zeigen unter einander ebenso keine signifikanten Unterschiede. Es wurde jedoch in der Altersgruppe 18 - 37 Jahre, eine signifikant höhere Lactuloseausscheidung bzw. parazelluläre Permeabilität zwischen den NM-Allergikern und Kontrollen gefunden. Bei der gastroduodenalen Permeabilität bestehen keine signifikanten Unterschiede.

In zwei Studien von Gorodeski aus den Jahren 2000 und 2001 hat sich gezeigt, dass die transzervikale parazelluläre Permeabilität, d.h. die Permeabilität durch die Tight Junctions, sich nach der Menopause erniedrigt. In Bezug auf diese Studien wollten wir überprüfen, ob sich ebenso die intestinale Permeabilität bei postmenopausalen Frauen mit einer NM-Allergie erniedrigt. Da in den Fragebögen die Menopause als solche nicht erfragt wurde, haben wir als alternativ die Frauen in zwei Gruppen eingeteilt, Frauen unter 50 Jahre und Frauen über 50 Jahre. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass nicht alle Frauen über 50 Jahre die Menopause erreicht haben bzw. Frauen unter 50 Jahre die Menopause nicht erreicht haben, was zu einer Unschärfe der Ergebnisse führen kann. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen bei der intestinalen sowohl der gastroduodenalen Permeabilität, keine signifikanten Unterschiede zwischen den allergischen Frauen und Kontrollen unter und über 50 Jahre. Die allergischen Frauen und Kontrollen unter und über 50 Jahre, zeigen unter einander, ebenso keine signifikanten Unterschiede. Dies kann an Streuungsunterschieden liegen, aber auch daran dassweil die Patientenzahlen der verschiedenen Gruppen sehr variabel und nicht vergleichbar sind.

Ob die epitheliale Permeabilität eine Folge oder eine Ursache von einer Nahrungsmittelunverträglichkeit ist, ist noch nicht geklärt. Es ist jedoch beschrieben worden, dass eine erhöhte intestinale Permeabilität möglicherweise mit einer Nahrungsmittelallergie einhergeht. Es wurde beispielweise in einer Studie von Asero (2011) gezeigt, dass die allergische Reaktion auf Lebensmittel möglicherweise die Permeabilität der epithelialen Mucosa erhöhen kann. Sjölander und Magnusson (1987) untersuchten die Auswirkung von Gliadin auf die intestinale Permeabilität bei Ratten. Dabei wurde gezeigt, dass eine Provokation

mit Gliadin die intestinale Permeabilität der Ratten erhöht. Im Gegensatz dazu, wurde von Rapin und Wiernsperger (2010) beschrieben, dass die erhöhte intestinale Permeabilität eine mögliche Ursache für Erkrankungen wie Allergien sein kann. In unserer Untersuchung wollten wir überprüfen, ob die intestinale und gastroduodenale Permeabilität nach der Nahrungsmittelprovokation bei NM-Allergikern verändert wird. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die intestinale Permeabilität bei NM-Allergikern nach der oralen Nahrungsmittelprovokation signifikant höher ist. Bei der gastroduodenalen Permeabilität sind keine signifikanten Unterschiede zu erkennen. Das kann daran liegen, dass die Streuung der gastroduodenalen Permeabilität nach der Nahrungsmittelprovokation größer und nicht normalverteilt ist. Dies lässt vermuten, die intestinale Permeabilität infolge einer Nahrungsmittelallergie verändert wird. Außerdem war die Mannitausscheidung nach der Nahrungsmittelprovokation signifikant höher, was auf eine erhöhte transzelluläre Permeabilität nach erfolgter allergischer Reaktion hinweist.

### **5.1.2 Parazelluläre und transzelluläre Permeabilität**

Keita und Söderholm (2010) erklären, dass in vielen menschlichen Erkrankungen und Tiermodellen wo eine veränderte Barrierenfunktion zu sehen war, meistens gleichzeitig eine veränderte parazelluläre aber auch transzelluläre Permeabilität beobachtet wurde. Unsere Ergebnisse zeigen dagegen, dass keine klaren Aussagen gemacht werden können. So wurde beispielweise eine veränderte parazelluläre Permeabilität bei NM-Allergikern und Kontrollpersonen gefunden, obwohl bei der intestinalen Permeabilität keine signifikanten Unterschiede zu erkennen waren. Nach der Nahrungsmittelprovokation zeigte sich eine veränderte intestinale Permeabilität und ebenso eine veränderte transzelluläre, jedoch keine veränderte parazelluläre Permeabilität. In der Altersgruppe von 18-37 Jahren, zeigte sich eine signifikante Veränderung der parazellulären Permeabilität. Um diese Veränderungen der Barrierenfunktion besser verstehen zu können, sollten die zugrunde liegenden Mechanismen in zukünftigen Studien weiter untersucht werden.

### **5.1.3 Klinische Symptomatik nach der Nahrungsmittelprovokation**

In einer Studie von Zhou, Zhang und Verne in 2009, wurde ein Zusammenhang zwischen der intestinalen Permeabilität und dem FBDSI Score (Functional Bowel Disorder Severity Index) bei Patienten mit einem Reizdarm beschrieben. Auch in unserer Studie wollten wir vergleichen, ob die gastroduodenale und intestinale Permeabilität bei NM-Allergikern mit der Symptomscore in einem Zusammenhang stehen. Der Symptomscore ergab sich aus der Summe aller Symptome, d.h. Hautveränderungen, gastrointestinale, pulmonale und

kardiovaskuläre Symptome als auch Symptome der oralen Mucosa sowie ein Vorliegen von Rhinitis oder Konjunktivitis. Dabei wurden nur die 22 NM-Allergiker der Gruppe 1 berücksichtigt, wo eine ärztliche Dokumentation der Symptome nach der Nahrungsmittelprovokation vom Prüfarzt stattgefunden hat. Dabei haben wir bei der gastroduodenalen als auch der intestinalen Permeabilität keine signifikanten Unterschiede gefunden und es zeigte sich jeweils eine unwesentlich negative Korrelation. Man könnte andernfalls die Korrelation der gastroduodenalen und intestinalen Permeabilität ausschließlich mit dem Score der gastrointestinalen Symptome untersuchen, wobei hierzu zu wenig Daten vorliegen. Es wären die Daten von mehr Patienten nötig, um diese Fragestellung weiter zu bearbeiten.

## **5.2 Diskussion der Methodik**

### **5.2.1 Auswertung der Fragebögen**

Die Fragebögen wurden vor Beginn der Untersuchung erstellt und den Patienten mit der Zuckerlösung und dem Zubehör zum Ausfüllen mitgegeben. Manche Fragen wurden nur unvollständig beantwortet und waren daher teilweise nicht auswertbar. Bei folgenden Fragen, könnte eine Umformulierung zur besseren Klarheit gemacht werden:

#### **„Welche Symptome zeigen sich dabei?“**

Diese Frage richtet sich nicht unbedingt nach Frage 1, nach der gefragt wird auf welche Lebensmittel zu der Zeit allergisch reagiert wurde. Hierbei war es unklar, ob die Symptome nach dem Verzehr der auf Frage 1 genannten Lebensmittel auftraten oder ob diese Symptome zu einer weiteren Allergie zuzuordnen waren. Eine Überprüfung konnte nur bei den provozierten Nahrungsmittelallergikern erfolgen, da ein Provokationsprotokoll zu Verfügung stand. Eine bessere Formulierung dieser Frage wäre:

„Welche Symptome zeigen sich im Falle einer allergischen Reaktion nach dem Verzehr der oben genannten Nahrungsmittel?“

#### **„Wann hatten Sie das letzte Mal eine solche allergische Reaktion? Oder leiden Sie gerade an einer solchen z.B. Heuschnupfen?“**

Diese Frage könnte aus den oben genannten Gründen auch wie folgt besser formuliert werden:

„Wann hatten Sie das letzte Mal auf den oben genannten Lebensmitteln eine solche allergische Reaktion oder leiden Sie gerade an einer?“

Die Frage „wie lange besteht ihre Nahrungsmittelallergie schon?“ konnte zusätzlich beantwortet werden, um einen besseren Überblick zu verschaffen. Es konnte noch untersucht werden, ob sich die intestinale und gastroduodenale Permeabilität bei lang bestehender NM-Allergie unterscheidet im Vergleich zu einer in letzter Zeit auftretender NM-Allergie.

Folgende Punkte führten Ebenso zu Schwierigkeiten bei der Auswertung:

Die angegebenen Lebensmittel in der Frage „Auf welche Lebensmittel reagieren Sie zur Zeit allergisch?“ und der Frage „Gibt es Lebensmittel, die Sie aufgrund der Allergie meiden?“ treffen nicht immer zu. Gehörten diese Lebensmittel also auch zu der ersten Frage? Um sicher zu sein, musste wenn überhaupt möglich, dieses in den Akten überprüft werden, ansonsten wurden diese Angaben zu den Antworten der Frage 1 hinzugefügt.

Bei der Frage „Gibt es Lebensmittel die Sie aufgrund der Allergie meiden? Wenn ja, wie lange schon?“, wurde manchmal angegeben, dass die Nahrungsmittel nicht gemieden aber dafür in gekochtem Zustand verzehrt wurden. Hierbei war es unklar ob trotz gekochtem Zustand eine leichte oder überhaupt keine Reaktion anzurechnen war.

Der Teil der Frage „Wenn ja, wie lange schon?“, wurde beim Antworten oft nicht berücksichtigt. Aufgrund der fehlenden Angaben wurde dies in der Auswertung weggelassen. Daher wäre es möglicherweise besser, wenn in diesem Fall die Fragen getrennt werden, um somit mehr Aufmerksamkeit auf jede einzelne Frage zu erregen.

### **5.2.2 Eignung des oralen Permeabilitätstests in der Diagnostik einer Nahrungsmittelallergie**

Für die Bestimmung einer gastroduodenalen Schädigung, wurden seit vielen Jahren invasive Methoden wie die Endoskopie eingesetzt (Meddings et al., 1993). Der orale Permeabilitätstest, bietet dagegen eine nicht-invasive Bestimmung des gastroduodenalen Zustandes und wird außerdem bei der Bestimmung einer intestinalen Schädigung schon seit mehreren Jahren eingesetzt. Die Saccharose ist ein Marker für die gastroduodenale Permeabilität und der Quotient aus Lactulose und Mannit, ist ein Marker für die intestinale Permeabilität. Dieser Test findet Anwendung bei verschiedenen Erkrankungen wie z.B. bei einem Reizdarmsyndrom, einem Leaky-Gut-Syndrom, bei dem hohe Werte für beide Zucker zu finden sind und bei einer Malabsorption an allen Nährstoffen, bei der niedrige Werte für beide Zucker zu finden sind. Bei Zöliake, Colitis ulcerosa und Morbus Crohn

wurden niedrige Mannit- und hohe Lactulosewerte bestimmt (Rapin, Wiernsperger, 2010; Lipski, 2004, S. 116). Eignet sich aber der orale Permeabilitätstest für die Diagnostik einer Nahrungsmittelallergie?

Bei der Durchführung des Tests, müssen unterschiedliche Faktoren und Kofaktoren berücksichtigt werden, um ein fehlerhaftes Testergebnis zu vermeiden. Diese werden in Kapitel 3 angesprochen. Es wird berichtet, dass Kofaktoren zu einer Veränderung der epithelialen Permeabilität beitragen können.

Ergebnisse jüngster Untersuchungen belegen eine erhöhte epitheliale Permeabilität bei der Aufnahme von Alkohol. Es wird z.B. in Studien berichtet, dass die Integrität der gastroduodenalen Mucosa zerstört wird, was zu einer Schädigung der epithelialen Barriere führt. Infolge dessen, nimmt die gastroduodenale Permeabilität zu (Singer, Teyssen, 2005, S. 197; Farhadi et al., 2010). Chronischer Alkoholabusus stört und verändert zusätzlich die Magen- und Darmflora. Eine Fehl- und Überbesiedelung kann zu einer erhöhten Permeabilität der Darmwand führen (Niestroj, 2000, S. 112).

Ähnliches wurde bei der Einnahme von Medikamenten beobachtet. So hat sich beispielsweise in zwei von vielen Studien gezeigt, dass Aspirin (ASS), auch unabhängig vom Alkoholkonsum, die intestinale Permeabilität erhöhen kann (Farhadi et al., 2010; Smecuol et al., 2009). Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei anderen Medikamenten gefunden.

Das Rauchen vermindert die intestinale Permeabilität, indem das Nikotin, Hauptbestandteil von Zigarettenrauch und dessen Metabolyte, die tight junctions verändern (McGilligan et al., 2007).

Interessanterweise liegen auch Daten vor, die eine Erhöhung der intestinalen Permeabilität durch Mikropartikeln in Zahnpasta, zeigen (Korzenik, 2005). Es besteht die Möglichkeit, höhere Werte an Mannit im Urin zu finden nach ständigem Essen von Kaugummi, da Kaugummi selbst eine beeinflussende Menge an Mannit enthalten kann (Parry, Duerksen, 2001).

Aus diesem Grund, ist der orale Permeabilitätstest ein aufwendiges Verfahren und kann durch Verständnisschwierigkeiten falsch durchgeführt werden. Dieser Test kann außerdem nicht bei allen Patienten angewandt werden, da einige Ausschlusskriterien zu berücksichtigen sind. Diese wurden in Kapitel 3 erwähnt. Die NM-Allergiker und Kontrollen die den Test erfolgreich durchgeführt haben, wurden bei der Auswertung miteinbezogen.

Um zu überprüfen ob sich der orale Permeabilitätstest zur Diagnostik einer Nahrungsmittelallergie eignet, wurde einerseits nach signifikanten Unterschieden der gastroduodenalen und intestinalen Permeabilität bei NM-Allergikern und Kontrollen überprüft. Um zusätzliche Informationen diesbezüglich gewinnen zu können, wurde andererseits getestet, ob

sich die gastroduodenale und intestinale Permeabilität nach einer Nahrungsmittelprovokation erhöht. Unsere Ergebnisse zeigen eine signifikant höhere gastroduodenale Permeabilität bei NM-Allergikern im Vergleich zu den Kontrollen, dagegen aber keine bei der intestinalen Permeabilität. Im Gegensatz dazu, zeigte sich eine signifikant erhöhte intestinale Permeabilität nach der Nahrungsmittelprovokation, was aber bei der gastroduodenalen Permeabilität nicht der Fall war. Diese Ergebnisse zeigen, dass eindeutige Veränderungen der Barrierenfunktion des Magen-Darm-Traktes bei NM-Allergikern vorliegen, die in weiteren Studien in Bezug auf die zugrunde liegenden Mechanismen weiter untersucht werden sollten.

## 6. Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Ziel dieser Untersuchung war es zu überprüfen, ob die gastroduodenale und intestinale Permeabilität bei NM-Allergikern im Vergleich zu gesunden Menschen verändert ist. Des Weiteren sollte überprüft werden, ob sich die Magen-Darm-Permeabilität durch eine Nahrungsmittelprovokation verändern.

Der orale Permeabilitätstest ist eine nicht-invasive Methode zur Bestimmung der gastroduodeno-intestinalen Permeabilität. Dieser Test besteht aus einer Zuckerlösung, die drei Zuckerarten enthält, Lactulose, Mannit und Saccharose. Lactulose ist ein Marker der parazellulären Permeabilität (durch die Tight Junctions), Mannit dient zur Bestimmung der transzellulären Permeabilität (durch die Zelle hindurch). Der Quotient aus den beiden Zuckern, der sogenannte Permeabilitätsindex, spiegelt die gesamte intestinale Permeabilität wieder. Die Saccharose ist ein Marker der gastroduodenalen Permeabilität. Liegt die im Urin nachweisbare Zuckermenge außerhalb des Normbereichs, wird die gastroduodenale und/oder intestinale Permeabilität als verändert bewertet.

Von den insgesamt 62 NM-Allergikern, die die Ein- und Ausschlusskriterien des oralen Permeabilitätstests erfüllten, kamen 55 NM-Allergiker zur Auswertung. Zum Vergleich wurden 35 Kontrollpersonen in die Auswertung einbezogen.

Die Ergebnisse zeigen, dass NM-Allergiker eine signifikant höhere gastroduodenale Permeabilität im Vergleich zu den Kontrollpersonen besitzen. Dies war aber bei der intestinalen Permeabilität nicht zu erkennen, obwohl eine signifikant höhere parazelluläre Permeabilität bei den NM-Allergikern zu finden war, vor allem in der Altersgruppe von 18-37 Jahren. Nach der NM-Provokation war die intestinale Permeabilität höher als vor der NM-Provokation, was bei der gastroduodenalen Permeabilität nicht der Fall war. Zusätzlich wurde eine signifikant niedrigere transzelluläre Permeabilität beobachtet. Da der Permeabilitätsindex aus dem Quotient der Lactulose- und Mannitausscheidung berechnet wird, führt eine kleinere Mannitausscheidung zu einem höheren Permeabilitätsindex bzw. intestinalen Permeabilität. Anhand der dokumentierten Symptome nach Provokation, wurde ein Symptomscore für die Patienten berechnet und mit der gastroduodenalen und intestinalen Permeabilität verglichen. Hierbei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Den Patienten wurde zusätzlich ein Fragebogen zur Verfügung gestellt, um weitere Unterschiede untersuchen zu können. Hinsichtlich des methodischen Vorgehens mit Hilfe der Fragebögen ist von entscheidender Bedeutung, wie die Fragen zusammengestellt werden, um Unklarheiten zu vermeiden. Wenn bei der Auswertung eine bestimmte Kategorisierung der Daten erwünscht wird, sollte dies bei der Erstellung der Fragebögen auch berücksichtigt und offene Fragen durch Selektivfragen ersetzt werden.

Bei der Auswertung der Fragebögen wurden keine weiteren signifikanten Unterschiede bezüglich des Alters, Geschlechts, klinischen Zustandes, weiterer Allergien, der Menopause oder des Zeitpunkts der zuletzt aufgetretenen allergischen Reaktion beobachtet. Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass die gastroduodenale Permeabilität bei Nahrungsmittelallergikern verändert ist, jedoch nicht die intestinale Permeabilität, die aber einen Anstieg nach der Nahrungsmittelprovokation zeigt. Somit finden sich eindeutig Veränderungen der Barrierefunktion des Magen-Darm-Traktes bei Nahrungsmittelallergikern, die in weiteren Studien in Bezug auf die zugrunde liegenden Mechanismen weiter untersucht werden sollten.

## II Literaturverzeichnis

- Abeck D. (2010). Häufige Krankheiten in der Allgemeinmedizin: Klinik, Diagnose, Therapie. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
- Anderson J.M. (2001). Molecular Structure of Tight Junctions and Their Role in Epithelial Transport, in: *News in Physiological Sciences*, vol. 16, S. 126-129.
- Annaert P., Brouwers J., Bijmens A., Lammert F., Tack J., Augustijns P. (2010). Ex vivo permeability experiments in excised rat intestinal tissue and in vitro solubility measurements in aspirated human intestinal fluids support age-dependent oral drug absorption, in: *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 39 Jg., Nr. 1-3, S. 15-22.
- Asero R. (2011). Hypersensitivity to Lipid Transfer Protein is Frequently Associated with Chronic Urticaria, in: *European Annals of Allergy and Clinical Immunology*, 43 Jg., Nr. 1, S. 19-21.
- Baum U. (2004). Anatomie und Physiologie. München: Urban & Fischer Verlag.
- Biesalski H.K. (2004). Ernährungsmedizin: nach dem Curriculum Ernährungsmedizin der Bundesärztekammer. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Bork K. (1999). Arzneimittelnebenwirkungen an der Haut. Stuttgart: Schattauer Verlag.
- Bousquet J., Khaltaev N., Cruz A.A., Denburg J., Fokkens W.J., Togias A., Zuberbier T., Baena-Cagnani C.E., Canonica G.W., van Weel C., Agache I., Ait-Khaled N., Bachert C., Blaiss M.S., Bonini S., Boulet L.-P., Bousquet P.-J., Camargos P., Carlsen K.-H., Chen Y., Custovic A., Dahl R., Demoly P., Douagui H., Durham S.R., Gerth van Wijk R., Kalayci O., Kaliner M.A., Kim Y.-Y., Kowalski M.L., Kuna P., Le L.T.T., Lemiere C., Li J., Lockey R.F., Mavale-Manuel S., Meltzer E.O., Mohammad Y., Mullol J., Naclerio R., O'Hehir R.E., Ohta K., Ouedraogo S., Palkonen S., Papadopoulos N., Passalacqua G., Pawankar R., Popov T.A., Rabe K.F., Rosado-Pinto J., Scadding G.K., Simons F.E.R., Toskala E., Valovirta E., van Cauwenberge P., Wang D.-Y., Wickman M., Yawn B.P., Yorgancioglu A., Yusuf O.M., Zar H. (2008). Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 Update (in collaboration with the World Health Organization, GA<sup>2</sup>LEN and AllerGen), in: *Allergy*, 63 (Suppl. 86), S. 8-160.
- Dastyh M., Dastyh Jr.M., Novotná H., Cihalová J. (2008). Lactulose/Mannitol Test and Specificity, Sensitivity, and Area under Curve of Intestinal Permeability Parameters in Patients with Liver Cirrhosis and Crohn's Disease, in: *Digestive Diseases and Sciences*, 53 Jg., S. 2789-2792.
- Ebermann R., Elmadfa I. (2007). Lehrbuch Lebensmittelchemie und Ernährung. Wien, New York: Springer Verlag.
- Farhadi A., Keshavarzian A., Kwasny M.J., Shaikh M., Fogg L., Lau C., Fields J.Z., Forsyth C.B. (2010). Effects of Aspirin on Gastroduodenal Permeability in Alcoholics and Controls, in: *Alcohol*, 44. Jg., Nr. 5, S. 447-456.
- Fritsch P. (2004). Dermatologie, Venerologie: Grundlagen, Klinik, Atlas. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
- Fromm M., Schulzke J.D. (2009). Molecular Structure and Function of the Tight Junction: From Basic Mechanisms to Clinical Manifestations. New York: John Wiley and Sons.
- Ganten D., Klaus R. (2008). Grundlagen der molekularen Medizin. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.

- Gerstorfer M. (2004). Crashkurs Physiologie. München: Urban & Fischer Verlag.
- Gieler H. (2006). Psychosomatische Dermatologie. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Gorodeski G.I. (2000). Effects of Menopause and Estrogen on Cervical Epithelial Permeability, in: Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 85 Jg., Nr. 7, S. 2584-2595.
- Gorodeski G.I. (2001). Vaginal-Cervical Epithelial Permeability Decreases after Menopause, in: Fertility and Sterility, 76 Jg., Nr. 4, S. 753-761.
- Grehn F. (2008). Augenheilkunde. Heidelberg: Springer Verlag.
- Hallbach J. (2006). Klinische Chemie für den Einstieg. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Hand M.S., Thatcher C.D., Remillard R.L., Roudebush P. (2003). Klinische Diätetik für Kleintiere, Band 1. Hannover: Schlütersche.
- Heyman M., Grasset E., Ducroc R., Desjeux J.F. (1988). Antigen Absorption by the Jejunal Epithelium of Children with Cow's Milk Allergy, in: Pediatric Research, 24 Jg., Nr. 2, S. 197-202.
- Hutterer R. (2006). Fit in Organik: Das Klausurtraining für Mediziner, Pharmazeuten und Biologen. Wiesbaden: Teubner Verlag.
- Jäger L. (2008). Orale Provokationstests, in: Jäger L., Wüthrich B., Ballmer-Weber B., Vieths S. (Hrsg.), Nahrungsmittelallergien und -intoleranzen: Immunologie – Diagnostik – Therapie – Prophylaxe, München: Urban & Fischer Verlag, S. 102.
- Keita V.A., Söderholm J.D. (2010). The Intestinal Barrier and its Regulation by Neuroimmune Factors, in: Neurogastroenterology and Motility, vol. 22., S. 718-733.
- Korzenik J.R. (2005). Past and Current Theories of Etiology of IBD: Toothpaste, Worms, and Refrigerators, in: Journal of Clinical Gastroenterology, 39 Jg., Nr. 2, S. 59-65.
- Lee E.K., Jung K.J., Choi J., Kim H.J., Han Y.K., Jeong K.S., Ji A.R., Park J.K., Yu B.P., Chung H.Y. (2010). Molecular basis for age-related changes in ileum: involvement of Bax/caspase-dependent mitochondrial apoptotic signalling, in: Experimental Gerontology, 45 Jg., Nr. 12, S. 970-976.
- Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAI). (2003). Allergische Rhinokonjunktivitis in: Allergo Journal, vol. 12, S. 182-194.
- Lipski E. (2004). Digestive Wellness. New York: McGraw – Hill Professional.
- McGilligan V.E., Wallace J.M.W., Heavey P.M., Ridley D.L. and Rowland I.R. (2007). The Effect of Nicotine in Vitro on the Integrity of Tight Junctions in Caco-2 Cell Monolayers, in: Food and Chemical Toxicology, Vol. 45, Nr. 9, S. 1593-1598.
- McOmber M.E., Ou C.N., Shulman R.J. (2010). Effects of timing, sex, and age on site-specific gastrointestinal permeability testing in children and adults, in: Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 50 Jg., Nr. 3, S. 269-275.
- Meddings JB, Sutherland LR, Byles NI, Wallace JL. (1993). Sucrose: a novel permeability marker for gastroduodenal disease, in: Gastroenterology, 104 Jg., Nr. 6, S. 1619-1626.
- Merk H., Ott H. (2008). Allergie-Taschnebuch. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag.

- Müller, M.J. (2007). Ernährungsmmedizinische Praxis: Methoden – Prävention – Behandlung. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Nastech Pharmaceutical Company Inc. [http://www.fmp-berlin.de/schmieder/research/jpg/img\\_tight\\_junction.jpg](http://www.fmp-berlin.de/schmieder/research/jpg/img_tight_junction.jpg), Stand 11.03.2011
- Niestroj I. (2000). Praxis der orthomolekularen Medizin: Physiologische Grundlagen – Therapie mit Mikro-nährstoffen. Stuttgart: Hippokrates Verlag.
- Niggemann B., Erdmann S., Fuchs T., Henzgen M., Jäger L., Kleine-Tebbe J., Lepp U., Raithel M., Reese I., Saloga J., Vieluf I., Vieths S., Zuberbier T., Werfel T. (2006). Standardisierung von oralen Provokationstests bei IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergien, in: AWMF-Leitlinien-Register, Nr. 061/003.
- Parry D.M., Duerksen D.R. (2001). Assessment of Intestinal Permeability with Lactulose/Mannitol: Gum Chewing is a Potential Confounding Factor, in: The American Journal of Gastroenterology, 96 Jg., S. 2515-2516.
- Perrier C., Corthesy B. (2011). Gut Permeability and Food Allergies, in: Clinical & Experimental Allergy, 41 Jg., Nr. 1, S. 20-28.
- Plewig G., Thomas P. (2007), Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie 2006. Heidelberg: Springer Verlag.
- Rapin. J.R., Wiernsperger N. (2010). Possible Links between Intestinal Permeability and Food Processing: A Potential Therapeutic Niche for Glutamine, in: Clinics, 65 Jg., Nr. 6, S. 635-643.
- Reedy L., Mller W., Willemsse T. (2002). Allergische Hauterkrankungen bei Hund und Katze. Hannover: Schlütersche.
- Rodeck B., Zimmer K.P. (2008). Pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Reiß M. (2009). Facharztwissen HNO-Heilkunde – Differenzierte Diagnostik und Therapie. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Runswick S., Mitchell T., Davies P., Robinson C., Garrod D.R. (2007). Pollen Proteolytic Enzymes Degrade Tight Junctions, in: Respiriology, vol. 12, S. 834-842.
- Saloga J. (2006). Allergologie Handbuch: Grundlagen und klinische Praxis. Stuttgart: Schattauer Verlag.
- Sapone A., de Magistris L., Pietzak M., Clemente M.G., Tripathi A., Cucca F., Lampis R., Kryszak D., Carteni M., Generoso M., Iafusco D., Prisco F., Laghi F., Riegler G., Carratu R., Counts D., Fasano A. (2006). Zonulin Upregulation Is Associated With Increased Gut Permeability in Subjects With Type 1 Diabetes and Their Relatives, in: Diabetes, 55 Jg., Nr. 5, S. 1443-1449.
- Schäfer T. (2008). Epidemiologie der Nahrungsmittelallergie in Europa, in: Ernährung, vol. 2, S. 4-9.
- Schmidt, R. (2009). Die mukosale Grenzfläche – Schutz und Stabilisierung durch Tight Junctions, in: Internationales Journal für orthomolekulare und verwandte Medizin, Nr. 128, S. 2-5.
- Seidler U., Bachmann O. (2006). Molekulare Mechanismen des intestinalen Wasser- und Elektrolyttransports und der Barrierefunktion, in: Infektiologie des Gastrointestinaltraktes, Teil II, S. 11-30.

- Siegenthaler W. (2006). Klinische Pathophysiologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Silbernagl S., Lang F. (2005). Taschenatlas der Pathophysiologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Singer M.V., Teyssen S. (2005). Permeabilitätsänderungen der Schleimhaut, in: Singer M.V., Teyssen S., Schneider A. (Hrsg.), Alkohol und Alkoholfolgekrankheiten: Grundlagen – Diagnostik – Therapie, Heidelberg: Springer Medizin Verlag, S. 197.
- Sjönader A., Magnusson K.E. (1987). Effects of Antigen Challenge on Intestinal Permeability and Morphology in Rats Immunized with Gliadin or Ovalbumin, in: International Archives of Allergy and Immunology, 84 Jg., Nr. 3, S. 284-290.
- Smecuol E, Pinto Sanchez M.I., Suarez A, Argonz J.E., Sugai E, Vazquez H, Litwin N, Piazuolo E, Meddings J.B., Bai J.C., Lanasa A. (2009). Low-Dose Aspirin Affects the Small Bowel Mucosa: Results of a Pilot Study with a Multidimensional Assessment, in: Clinical Gastroenterology and Hepatology, 7 Jg., Nr. 5, S. 524-529.
- Speckmann E.J. (2008). Physiologie. München: Urban & Fischer Verlag.
- Spornitz U.M. (2004). Anatomie und Physiologie. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Stegeman C.A., Davis J.R. (2006). Zahnmedizin und Ernährung: Basiswissen – Beratung – Prävention. München: Urban & Fischer Verlag.
- Stein J., Wehrmann T. (2006). Funktionsdiagnostik in der Gastroenterologie. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Stöger A. (2010). Chinesische Medizin bei Hautkrankheiten. Stuttgart: Hippokrates Verlag.
- Stossier H. (2001). Allergien erfolgreich behandeln mit der F. X. Mayr-kur: Wie sie ein gesunder Darm vor Allergenen schützt. Heidelberg: Georg Thieme Verlag.
- Trautmann A. (2006). Allergiediagnose, Allergitherapie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Van den Berg F. (2005). Angewandte Physiologie: Organsysteme verstehen und beeinflussen. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Werfel T., Erdmann S., Fuchs T., Henzgen M., Kleine-Tebbe J., Lepp U., Niggemann B., Raithel M., Reese I., Saloga J. (2008). Vorgehen bei vermuteter Nahrungsmittelallergie, bei atopischer Dermatitis, in: AWMF-Leitlinien Register, Nr. 061/010.
- Willmes A. (2007). Taschenbuch chemische Substanzen: Elemente- Anorganika- Organika- Naturstoffe- Polymere. Frankfurt am Main: Harri Deutsch Verlag.
- Zhou Q., Zhang B., Verne G.N. (2009). Intestinal Membrane Permeability and Hypersensitivity in the Irritable Bowel Syndrome, in: Pain, 146 Jg., Nr 1-2, S. 41-46.
- Zilles K., Tillmann B.N. (2010). Anatomie. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.

Quellen zu Abbildung 2:

- Urtikaria (A): <http://pictures.doccheck.com/de/photos/483/1152/akute-urticaria/>. Stand 27.04.2010
- Angioödem (B): [http://www.uk-essen.de/hno/index.php?site=research\\_angio](http://www.uk-essen.de/hno/index.php?site=research_angio). Stand 27.04.2010
- Heuschnupfen (C): <http://www.kreiszeitung.de/bilder/2009/07/24/421736/2113167571-heuschnupfen.9.jpg>. Stand 27.04.2010

### **III Eidesstattliche Erklärung**

„Ich, Stephany Piper, versichere, dass ich vorliegende Arbeit ohne fremde Hilfe selbständig verfasst und nur die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quelle kenntlich gemacht.“

Berlin, den 05.05.2011

## **IV Anhang**

<b>[1]</b> Einteilung der Symptome und Symptomscore.....	66
<b>[2]</b> Fragebogen zur Perm – Test – Messung.....	67
<b>[3]</b> Datenblatt zur Perm – Test – Messung.....	68

Objektive Symptome	Subjektive Symptome
<b>Hautveränderungen (Skin)</b>	
Flush* <b>1 Pkt.</b>	
generalisiertes Erythem <b>2Pkt.</b>	Juckreiz der Haut lokal bzw. generalisiert, Gefühl trockene Haut <b>1 Pkt.</b>
Urticaria <b>2Pkt.</b>	
Angioödem <b>4Pkt.</b> (weil gefährlicher)	
SCORAD-Anstieg $\geq 10$ Punkte <b>2Pkt.</b> , $\geq 15 = 3Pkt.$ , $\geq 20 = 4Pkt.$	
<b>Schleimhautveränderungen (Mucosal)</b>	
Rötung/Papeln/Bläschen/Blasen/Schwellung <b>2Pkt.</b>	Kribbeln/Prickeln/Juckreiz/Taubheit/Brennen/pelziges Gefühl (auch Ohren) <b>1 Pkt.</b>
<b>Gastrointestinaltrakt (GIT)</b>	
Durchfall <b>2Pkt.</b>	Unwohlsein im Magen (flaues Gefühl), Übelkeit, Brechreiz <b>1 Pkt.</b>
Erbrechen <b>2Pkt.</b>	Magen- oder Bauchschmerzen, Magenkrämpfe <b>1 Pkt.</b>
Inkontinenz (Stuhlinkontinenz, Harninkontinenz) <b>4Pkt.</b>	sonstiges: Blähbauch/Sodbrennen/Aufstoßen/Meteorismus/Flatulenz/Obstipation <b>1 Pkt.</b>
<b>Kardiovaskuläres System (HK)</b>	
Änderung des RR $>20$ mmHg, Änderung der Hf $>20$ Schläge / min oder <b>Tachykardie (definitionsgemäß <math>&gt;100</math>/min) 2Pkt.</b>	
Blässe, Kaltschweißigkeit, kalte Hände <b>3Pkt.</b>	Kopfschmerzen <b>1Pkt.</b>
Vigilanzminderung (= reduzierter oder stark reduzierter AZ) <b>3Pkt.</b>	Schwindel, Flush** <b>1Pkt.</b>
<b>Kollaps</b> oder orthostatische Dysregulation <b>4Pkt.</b>	Gefühl-RR-Anstieg/Abfall, Müdigkeit, Abgeschlagenheit (= leicht reduz. AZ) <b>1Pkt.</b>
<b>Bewusstlosigkeit 5Pkt.</b>	
<b>Kreislaufstillstand 6Pkt.</b>	
<b>Pulmonale Symptome (P)</b>	
Abfall der Lungenfunktion $>10\%$ <b>2Pkt.</b> (=Dyspnoe obj.)	Engegefühl in der Brust <b>1 Pkt.</b>
expiratorisches Giemen*** <b>4Pkt.</b>	Hustenreiz, Heiserkeit, Räuspern, Globusgefühl, Dysphagie <b>1 Pkt.</b>
inspiratorischer Stridor <b>4Pkt.</b>	
<b>Atemstillstand 6Pkt.</b> ,da meist mit Kreislaufstillstand	
* Flush obj. = Rötung/Erythem der Haut	
** Flush sub. = Hitze/Wärme-Gefühl Kopf und Oberkörper	
***expiratorisches Giemen (verengte kleinste Atemwege (Bronchiolen) bei obstruktiven Lungenerkrankungen wie COPD oder Asthma bronchiale)	
inspiratorischer Stridor (Verengung der großen oberen Atemwege wie Kehlkopf, Luftröhre, Hauptbronchien)	
<b>Rhinitis (R)/nasale Sprache/Niesen (2 Punkte)</b>	
<b>Konjunktivitis (K) (2 Punkte)</b>	

**Bewertungsformel: OSc + (SSc/2) + MS = Endbewertung**  
 (Quelle: Dölle et al. submitted, in: Clinical & Experimental Allergy)

## Fragebogen zur PERM – Test – Messung

1. Auf welche Lebensmittel reagieren Sie zur Zeit allergisch?
2. Welche Symptome zeigen sich dabei?
3. Wann hatten Sie das letzte Mal eine solche allergische Reaktion?  
Oder leiden Sie gerade ein einer solchen z.B. Heuschnupfen?
4. Hat sich in den letzten Jahren dabei etwas verändert?
5. Gibt es Lebensmittel die Sie aufgrund der Allergie meiden?
6. Sind Ihnen weitere Allergien z.B. Kontaktallergene (Nickel), Insektengifte, Arzneimittel  
oder Heuschnupfen bekannt? Meiden Sie diese ebenfalls?
7. Machen Sie zur Zeit eine Hyposensibilisierung? Wenn ja, wogegen?

(Quelle: Aus dem Allergie-Centrum-Charité)

Testdatum: \_\_\_\_\_

 vor Provokation nach Provokation

auslösendes Nahrungsmittel: \_\_\_\_\_

Name (Vor-, Nachname):

Geburtsdatum:

Status: Patient/Studienteilnehmer ODER Familienangehöriger von .....

Diagnose/Allergie: Lebensmittelallergie

 Blutsverwandt:

Klinik:

 Nicht blutsverwandt:1. Seit einiger Zeit bestehen folgende **Beschwerden** bei mir: Blähungen Bauchschmerzen Durchfälle Blut im Stuhl Hautveränderungen Atemwegsprobleme Weitere:2. Welche **Medikamente** haben Sie in der letzten Woche vor dem Test eingenommen? (auch Aspirin; Rheumamittel, fiebersenkende Mittel, Abführmittel)

Datum: \_\_\_\_\_.\_\_\_\_\_.\_\_\_\_\_. was und wieviel: \_\_\_\_\_

3. Haben Sie in der Woche vor dem Test **alkoholische Getränke** zu sich genommen (Bier, Wein, Spirituosen)? ja,  nein Datum: \_\_\_\_\_.\_\_\_\_\_.\_\_\_\_\_. was und wieviel: \_\_\_\_\_4. Wie häufig nehmen Sie **ASS** (Aspirin) ein?: \_\_\_\_\_5. Wann haben Sie zuletzt an einer **Erkältung**, Grippe oder anderer Infektion gelitten?

ungefähres Datum: \_\_\_\_\_.\_\_\_\_\_.\_\_\_\_\_

6. Sind andere **Erkrankungen** bekannt?: \_\_\_\_\_7. Würden Verwandte/Personen im selben Haushalt für eine Permmessung ebenfalls zur Verfügung stehen?  ja  nein8. Sind Durchfälle **während der ersten 5 Stunden** nach Testbeginn aufgetreten?  ja  nein9. Wurde eine **Blutprobe** im Zusammenhang mit dem Test genommen?  ja  nein10. Haben Sie allen Harn über 5 Stunden gesammelt?  ja  nein**Vom Labor auszufüllen:** Harnvolumen \_\_\_\_\_ ml

(Quelle: Charité – Universitätsmedizin Berlin, Medizinische Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie in Kooperation mit dem Allergie-Zentrum-Charité)